

**JOSÉ ANTONIO FERREIRA BEZERRA**

**EXTRATO DE *Passiflora edulis* NA CICATRIZAÇÃO DE ANASTOMOSE COLÔNICA EM RATO: ESTUDO TENSIO MÉTRICO E MORFOLÓGICO**

**Dissertação apresentada ao Programa de Mestrado Interinstitucional em Clínica Cirúrgica (MINTER) entre a Universidade Federal do Paraná e a Universidade Federal do Maranhão, como requisito parcial para obtenção do grau acadêmico de Mestre.**

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

**Coordenador Acadêmico:  
Prof. Dr. Antônio Carlos Ligocki Campos**

**Coordenador Operacional:  
Prof. Dr. Orlando Jorge Martins Torres**

**CURITIBA - SÃO LUIS**

**2003**

Bezerra, José Antonio Ferreira

Extrato de *Passiflora edulis* na cicatrização de anastomose colônica em rato: estudo tensiométrico e morfológico/ José Antonio Ferreira Bezerra. \_\_\_ Curitiba- São Luís, 2003.

xvii, 79 f.

Dissertação (Mestrado) - Mestrado Interinstitucional em Clínica Cirúrgica, Universidade Federal do Paraná, Universidade Federal do Maranhão. Dissertação orientada pelo Prof. Dr. Antonio Carlos Ligocki Campos

1. Cicatrização      2. *Passiflora edulis*      I. Título.

**JOSÉ ANTONIO FERREIRA BEZERRA**

**EXTRATO DE *Passiflora edulis* NA CICATRIZAÇÃO DE ANASTOMOSE  
COLÔNICA EM RATO: ESTUDO TENSIO MÉTRICO E MORFOLÓGICO**

Dissertação aprovada com conceito "A", como requisito parcial para a obtenção do grau de acadêmico de Mestre em Clínica Cirúrgica do Setor de Ciência da Saúde da Universidade Federal do Paraná, pela comissão examinadora composta pelos professores:

Prof. Dr. Edmundo Machado Ferraz  
Professor Titular do Departamento de Cirurgia da Universidade Federal de Pernambuco-UFPE

Prof. Dr. Paulo Roberto Leitão de Vasconcelos  
Professor Adjunto do Departamento de Cirurgia da Universidade Federal do Ceará-UFC.  
Coordenador do Programa de Pós-Graduação (Níveis Mestrado e Doutorado) da Universidade Federal do Ceará

Prof.<sup>a</sup> Dra. Maria Isabel T. D. Correia  
Professora Adjunta do Departamento de Cirurgia da Universidade Federal de Minas Gerais-UFMG

Curitiba, 13 de março de 2004.

A Deus, por permitir a realização deste trabalho;  
À Ana Helena, esposa, Yolana e Josana, filhas,  
pela fundamental e generosa compreensão e  
apoio constantes;  
Aos meus pais, Onofre Bezerra (*in memorian*) e  
Yolete, pela orientação constante na vida;  
Aos meus irmãos, Jorge e Gislene.

## AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Dr. Antônio Carlos Ligocki Campos, orientador e coordenador do Programa de Pós-Graduação em Clínica Cirúrgica do Mestrado Interinstitucional entre a Universidade Federal do Paraná e Universidade federal do Maranhão, pela paciência, ensinamentos e desprendimentos constantes fundamentais para realização deste trabalho.

Ao Prof. Dr. Osvaldo Malafaia, vice-coordenador do Programa de Pós-Graduação em Clínica Cirúrgica do Mestrado Interinstitucional entre a Universidade Federal do Paraná e Universidade federal do Maranhão, pela orientação e incentivo nas diversas fases deste trabalho e pela viabilização do Mestrado Interinstitucional.

Ao Prof. Dr. Jurandir Marcondes Ribas Filho, pela sua participação e orientação nas diversas fases deste trabalho realizado entre a Universidade Federal do Paraná e Universidade Federal do Maranhão.

Ao Prof. Dr. Nicolau Gregore Czezcko, pela valiosa orientação e ensinamentos para a realização deste trabalho.

Ao Prof. Dr. Orlando Jorge Martins Torres, coordenador operacional, pela orientação e por viabilizar o intercâmbio entre a Universidade Federal do Paraná e Universidade Federal do Maranhão, na criação do Mestrado Interinstitucional.

Ao Prof. Dr. Silvio Gomes Monteiro, pelo apoio na avaliação estatística dos dados do presente trabalho.

À Prof<sup>ª</sup>. Ms. Rosário dos Anjos patologista, pela contribuição e participação na avaliação histológica do presente trabalho, e a todos do Serviço de Patologia do Hospital Universitário Presidente Dutra – Universidade Federal do Maranhão, que contribuíram de forma imprescindível para realização deste trabalho.

Ao Prof. José de Ribamar Frazão Corrêa (*in memorian*), por ter-me possibilitado os primeiros ensinamentos cirúrgicos.

À Prof<sup>ª</sup>. Ms. Sônia Maria de Farias Freire, Diretora do Biotério do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal do Maranhão, pela sua participação e contribuição para a realização deste trabalho.

Ao Prof. Dr. Roberto Olea, Diretor do Laboratório de Produtos Naturais do Departamento de Química do Centro de Ciências Exatas e Tecnológica da

Universidade Federal do Maranhão, pela sua contribuição e orientação no preparo do extrato da *Passiflora edulis*.

Ao colega Antônio Gonçalves Filho, mestrando, pelo empenho e incentivo durante a realização deste trabalho.

Ao colega Cálide Soares Gomes, mestrando, pela sua contribuição crítica na realização deste trabalho.

À colega Clelma Pires Pereira, mestranda, pelo desprendimento e solidariedade nas atividades laboratoriais.

Ao colega Eduardo Castro Ferreira, mestrando, pela contribuição em várias fases desta dissertação.

Ao colega Elias Amorim, mestrando, pela amizade e companheirismo em todas as fases deste trabalho.

Ao colega Inaldo de Castro Garros, mestrando, pela capacidade de transmitir alegria nos momentos mais tensos.

Ao colega Itágores Hoffman I Lopes Sousa Coutinho, mestrando, pela dedicação e empenho em todos os momentos deste trabalho.

Ao colega José Aldemir Teixeira Nunes Filho, mestrando, pelo constante apoio a todos os colegas na realização dos trabalhos de laboratório.

Ao colega José de Ribamar Vale, mestrando, pela constante disponibilidade e auxílio nos testes de explosão.

Ao colega José Maria Aires, mestrando, pela solidariedade constante nos momentos de tensão.

Ao colega José Ribamar Sousa da Silva, mestrando, pelo companheirismo e contribuições em várias fases deste trabalho.

Ao colega José Ulcijara Aquino, mestrando, pela contribuição na organização orçamentária durante a realização dos trabalhos.

Ao colega Manoel Francisco da Silva Santos, mestrando, pelo companheirismo e solidariedade constante durante este trabalho.

Ao colega Manoel Lages Castelo Branco Neto, mestrando, pelo companheirismo, solidariedade e contribuições em todas as fases deste trabalho.

Ao colega Nelson Lúcio Parada Martins, mestrando, pelo entusiasmo constante na realização dos trabalhos.

Ao colega Orlando José dos Santos, mestrando, pela paciência e solidariedade e contribuições para com todos os colegas na execução dos trabalhos.

Ao colega Periguari Luís Holanda de Lucena, mestrando, pela sua contribuição e bom humor contagiante durante a realização deste trabalho.

Ao colega Raimundo Nonato Baldez, mestrando, pela dedicação, perseverança e solidariedade constante para com todos os colegas.

Ao colega Santiago Cirilo Nogueira Servin, mestrando, pelo entusiasmo constante durante a realização deste trabalho.

Ao colega Sebastião Barreto de Brito Filho, mestrando, pelo apoio constante e bom humor sempre presente na realização dos trabalhos.

À Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup> Terezinha de Jesus Almeida e Silva Rêgo, Diretora do Herbário da Faculdade de Farmácia da Universidade Federal do Maranhão, por contribuir de forma inestimável para realização dos trabalhos.

Ao Prof. Guilherme Mendes Monteiro, pelo inestimável auxílio na tradução do resumo para a língua inglesa.

Ao acadêmico Yglésio Luciano Moysés Silva de Souza, pelo incentivo e colaboração na realização deste trabalho.

Aos acadêmicos Giancarlos de Sousa Marques, Wellington Pereira dos Reis e João Dutra Frazão, pela valiosa colaboração nos trabalhos de laboratório.

Ao Instituto de Pesquisa do Programa de Pós-Graduação em Clínica Cirúrgica da Universidade Federal do Paraná.

Ao Centro de Ciências Biológicas da Saúde da Universidade Federal do Maranhão.

Ao Instituto de Pesquisas Médicas do Hospital Evangélico de Curitiba e Faculdade Evangélica do Paraná.

Ao Centro de Estudos da UDI-Hospital, pela valiosa colaboração na cessão de seu espaço físico para a realização das atividades científicas.

Aos colegas mestrandos, pela convivência, companheirismo e fortalecimento da amizade no período da realização deste trabalho.

À CAPES, pelo incentivo à produção científica.

“O pior erro que você pode cometer na vida é o de ficar o tempo todo com medo de cometer algum”.

ELBERT HUBBARD

## SUMÁRIO

<b>LISTA DE TABELAS</b> .....	xi
<b>LISTA DE FIGURAS</b> .....	xii
<b>LISTA DE GRÁFICOS</b> .....	xiii
<b>LISTA DE ABREVIATURAS</b> .....	xiv
<b>RESUMO</b> .....	xvi
<b>ABSTRACT</b> .....	xvii
<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	1
1.1 OBJETIVOS .....	3
<b>2 REVISÃO DA LITERATURA</b> .....	5
2.1 CICATRIZAÇÃO DAS FERIDAS .....	6
2.2 FASES DA CICATRIZAÇÃO .....	6
2.2.1 Fase inflamatória .....	6
2.2.2 Fase proliferativa .....	7
2.2.3 Fase de remodelação .....	7
2.3 TIPOS DE CICATRIZAÇÃO DE FERIDAS .....	8
2.3.1 Feridas fechadas .....	8
2.3.2 Feridas abertas .....	8
2.4 CICATRIZAÇÃO DAS ANASTOMOSES COLÔNICAS .....	9
2.4.1 Anatomia e fisiologia .....	9
2.5 DETERMINANTES DA CICATRIZAÇÃO ANASTOMÓTICA .....	9
2.5.1 Suprimento sanguíneo e oxigenação .....	9
2.5.2 Técnica cirúrgica .....	10
2.5.3 Materiais de sutura .....	10
2.5.4 Medicamentos .....	11
2.5.5 Outros fatores .....	11
2.6 PLANTAS MEDICINAIS .....	12
2.6.1 <i>Passiflora edulis</i> (maracujá) .....	12

2.6.2 Descrição botânica da planta .....	12
2.7 MODELOS EXPERIMENTAIS DE ANASTOMOSE COLÔNICA EM RATOS .....	13
2.8 MODELOS EXPERIMENTAIS QUE AVALIARAM O GÊNERO PASSIFLORA.....	19
<b>3 MATERIAL E MÉTODO .....</b>	<b>23</b>
3.1 DESCRIÇÃO DA AMOSTRA .....	24
3.2 AMBIENTAÇÃO .....	24
3.3 FITOTERÁPICO (MATERIAL VEGETAL) .....	25
3.4 COLETA DO MATERIAL VEGETAL .....	25
3.5 PREPARO DO EXTRATO .....	26
3.6 COMPOSIÇÃO DO EXTRATO HIDROALCOÓLICO DE <i>Passiflora edulis</i> ...	27
3.7 DESCRIÇÃO DOS GRUPOS DE ESTUDO.....	27
3.8 PRÉ-OPERATÓRIO .....	28
3.9 ANESTESIA .....	29
3.10 ATO OPERATÓRIO .....	30
3.11 PÓS-OPERATÓRIO .....	32
3.12 MORTE DOS ANIMAIS .....	33
3.13 AVALIAÇÃO DE PRESSÃO DE RUPTURA POR INSUFLAÇÃO DE AR ..	33
3.14 ESPÉCIMES CIRÚRGICOS .....	34
3.15 PROCESSAMENTO HISTOLÓGICO .....	35
3.16 AVALIAÇÃO MICROSCÓPICA .....	35
3.17 ANÁLISE ESTATÍSTICA .....	37
<b>4 RESULTADOS .....</b>	<b>38</b>
4.1 AVALIAÇÃO MACROSCÓPICA .....	39
4.2 AVALIAÇÃO TENSIMÉTRICA .....	39
4.3 AVALIAÇÃO MICROSCÓPICA .....	41
<b>5 DISCUSSÃO.....</b>	<b>50</b>
5.1 DO MODELO ANIMAL .....	51
5.2 <i>Passiflora edulis</i> .....	51

5.3 AVALIAÇÃO MACROSCÓPICA .....	53
5.4 AVALIAÇÃO DOS PARÂMETROS DE CICATRIZAÇÃO .....	53
5.4.1 Avaliação tensiométrica .....	53
5.4.2 Avaliação microscópica .....	55
5.5 CONSIDERAÇÕES FINAIS .....	56
<b>6 CONCLUSÕES .....</b>	<b>58</b>
<b>REFERÊNCIAS .....</b>	<b>60</b>
<b>APÊNDICES .....</b>	<b>66</b>
<b>ANEXOS .....</b>	<b>78</b>

## LISTA DE TABELAS

TABELA 1 – CLASSIFICAÇÃO E ATRIBUIÇÃO DE ÍNDICES DOS ACHADOS HISTOLÓGICOS DE HE (HEMATOXILINA-EOSINA) .....	36
TABELA 2 – CLASSIFICAÇÃO DA FASE DE CICATRIZAÇÃO CONFORME ANÁLISE DO ÍNDICE HISTOLÓGICO OBTIDO .....	36
TABELA 3 – COMPARAÇÃO DAS MEDIANAS DOS GRAUS DE ADERÊNCIA ENTRE OS SUBGRUPOS C3, C7 E P3, P7 .....	39
TABELA 4 – COMPARAÇÃO DAS MÉDIAS DE PRESSÃO DE RUPTURA ENTRE OS SUBGRUPOS C3, C7 E P3, P7 .....	40
TABELA 5 – ANÁLISE INTERGRUPO DAS MÉDIAS DAS VARIÁVEIS MICROSCÓPICAS DOS SUBGRUPOS C3 E P3 .....	42
TABELA 6 – ANÁLISE INTERGRUPO DAS MEDIANAS DAS VARIÁVEIS MICROSCÓPICAS DOS SUBGRUPOS C7 E P7 .....	44
TABELA 7 – ANÁLISE INTRAGRUPO DAS MEDIANAS DAS VARIÁVEIS MICROSCÓPICAS DOS SUBGRUPOS C3 E C7 .....	47
TABELA 8 – ANÁLISE INTRAGRUPO DAS MEDIANAS DAS VARIÁVEIS MICROSCÓPICAS DOS SUBGRUPOS P3 E P7 .....	48
TABELA 9 – PERCENTUAL DAS REAÇÕES INFLAMATÓRIAS DOS SUBGRUPOS C3 E P3 .....	48
TABELA 10 – PERCENTUAL DAS REAÇÕES INFLAMATÓRIAS DOS SUBGRUPOS C7 E P7 .....	49

## LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1 – PLANTA <i>Passiflora edulis</i> .....	13
FIGURA 2 – A. B. FOLHA DA <i>Passiflora edulis</i> .....	25
FIGURA 3 – FASES DE PREPARAÇÃO DO EXTRATO. A – Pó; B – Diluição; C – Filtração; D – Evaporação.....	27
FIGURA 4 – INDUÇÃO ANESTÉSICA .....	29
FIGURA 5 – ATO OPERATÓRIO .....	31
FIGURA 6 – FASES DO PROCEDIMENTO .....	32
FIGURA 7 – AVALIAÇÃO TENSIMÉTRICA DA ANASTOMOSE.....	34
FIGURA 8 – EXEMPLO DE FOTOMICROGRAFIA DE CONGESTÃO VASCULAR E EDEMA, ANIMAL CONTROLE 3 DIAS. HE, 400x.....	42
FIGURA 9 – EXEMPLO DE FOTOMICROGRAFIA DE EDEMA E INFILTRADO LEUCOCITÁRIO MODERADO, ANIMAL <i>Passiflora</i> 3 DIAS. HE 400x.....	43
FIGURA 10 – EXEMPLO DE FOTOMICROGRAFIA DE EDEMA E INFILTRADO INFLAMATÓRIO DE GRAU MODERADO, ANIMAL CONTROLE 7 DIAS. HE, 400x .....	44
FIGURA 11 – EXEMPLO DE FOTOMICROGRAFIA DE FIBROGÊNESE ACENTUADA, ANIMAL <i>Passiflora</i> 7 DIAS. HE, 400x.....	45
FIGURA 12 – EXEMPLO DE FOTOMICROGRAFIA DE CONGESTÃO VASCULAR, EDEMA MODERADO E FIBROGÊNESE DISCRETA, ANIMAL CONTROLE 7 DIAS. TRICRÔMIO DE MASSON, 400x .....	45
FIGURA 13 – EXEMPLO DE FOTOMICROGRAFIA DE FIBROGÊNESE E COLAGENIZAÇÃO ACENTUADA, ANIMAL <i>Passiflora</i> 7 DIAS. TRICRÔMIO DE MASSON, 400x.....	46
FIGURA 14 – EXEMPLO DE FOTOMICROGRAFIA DE FIBROGÊNESE, ANGIOGÊNESE E COLAGENIZAÇÃO, ANIMAL <i>Passiflora</i> 7 DIAS. TRICRÔMIO DE MASSON, 400x.....	46

## LISTA DE GRÁFICOS

GRÁFICO 1 – DISTRIBUIÇÃO DOS ANIMAIS CONFORME A FORMAÇÃO DOS GRUPOS E SUBGRUPOS .....	28
GRÁFICO 2 – INTERGRUPO – MÉDIAS E DESVIO PADRÃO DA PRESSÃO DE RUPTURA DOS SUBGRUPOS C3, P3 E C7, P7 .....	40
GRÁFICO 3 – INTRAGRUPO – MÉDIAS E DESVIO PADRÃO DA PRESSÃO DE RUPTURA DOS SUBGRUPOS C3 , C7 E P3, P7 .....	41

## LISTA DE ABREVIATURAS

ABNT	- Associação Brasileira de Normas Técnicas
AGCC	- ácidos graxos de cadeia curta
CEMIB	- Centro Multidisciplinar para Investigação Biológica
COBEA	- Colégio Brasileiro de Experimentação Animal
DEQUI	- Departamento de Química
DP	- desvio padrão
DTQ	- Departamento de Tecnologia Química
EE	- extrato etanólico
G	- grupo
GC	- grupo controle
C3	- subgrupo controle 3 dias
C7	- subgrupo controle 7 dias
GP	- grupo <i>Passiflora edulis</i>
P3	- subgrupo <i>Passiflora edulis</i> 3 dias
P7	- subgrupo <i>Passiflora edulis</i> 7 dias
HE	- hematoxilina-eosina
i.p.	- intraperitoneal
LCQA	- Laboratório de Controle de Qualidade de Alimentos
LPN	- Laboratório de Produtos Naturais
AINES	- antiinflamatório não esteróide
M	- média
MMF	- mycophenolate mofetil
MMN	- monomorfonuclear
mmHg	- milímetro de mercúrio
NS	- p estatisticamente não significante
P	- nível de significância
PM	- peso médio
PMN	- polimorfonucleares
PVPI	- Polivinil-Pirrolidona-Iodo

- SNC - sistema nervoso central
- T - tempo
- TM - Tricrômio de Masson
- UFMA - Universidade Federal do Maranhão
- UFPR - Universidade Federal do Paraná

## EXTRATO DE *Passiflora edulis* NA CICATRIZAÇÃO DE ANASTOMOSE COLÔNICA EM RATO: ESTUDO TENSIO MÉTRICO E MORFOLÓGICO

### RESUMO

Pesquisas de novas substâncias com finalidades terapêuticas têm sido realizadas procurando isolar, extrair ou purificar novos compostos de origem vegetal. A *Passiflora edulis* (maracujá), espécie pertencente à família Passifloraceae, originária das regiões tropicais e subtropicais do continente americano, é popularmente usada como sedativo, analgésico e anti-inflamatório e tratamento de lesões cutâneas, feridas e erisipelas. **Objetivo:** Avaliar a cicatrização de anastomoses colônicas em ratos, que receberam extrato hidroalcoólico de *Passiflora edulis* no transoperatório. **Método:** Foram utilizados 40 ratos Wistar, distribuídos em dois grupos de 20 animais cada, denominados: grupo *Passiflora* (GP) e grupo controle (GC). Os ratos de cada grupo foram separados em dois subgrupos de 10 animais cada, avaliados no 3º e 7º dia do pós-operatório. O procedimento cirúrgico consistiu de secção da alça colônica esquerda, 5cm acima da reflexão peritoneal com preservação da arcada vascular e anastomose término-terminal em plano único. O grupo *Passiflora* recebeu dose única intraperitoneal do extrato hidroalcoólico de *Passiflora edulis* na dose de 250 mg/Kg. O grupo controle recebeu dose única de solução salina intraperitoneal em volume igual ao GP. Os parâmetros avaliados foram: aspectos macroscópicos da parede e cavidade abdominal, aderências perianastomóticas, pressão de ruptura à insuflação de ar, reação inflamatória tecidual da anastomose que consistiu em polimorfonucleares, monomorfo-nucleares e proliferação fibroblástica. **Resultados:** Os aspectos macroscópicos não apresentaram diferenças significativas entre os grupos. Não ocorreu nenhuma deiscência de anastomose nos grupos estudados. Com relação à pressão de ruptura à insuflação de ar, observou-se que a média foi significativamente maior no subgrupo que recebeu o extrato de *Passiflora* no 3º dia (P3), cuja pressão foi  $42,6 \pm 17,8$  mmHg em comparação ao subgrupo controle (C3), cuja pressão foi  $25,4 \pm 14,1$  mmHg,  $p=0,028$ . O mesmo não ocorreu no 7º dia, onde o subgrupo C7 apresentou pressão de ruptura de  $187,3 \pm 39,5$  mmHg, enquanto o subgrupo P7, apresentou pressão de ruptura de  $203,0 \pm 50,0$  mmHg,  $p=0,447$ . Na análise histológica, os polimorfonucleares foram mais frequentes no subgrupo C3, em comparação ao subgrupo P3, com diferença significativa ( $p=0,034$ ). Os monomorfonucleares (MMN) e proliferação fibroblástica foram mais frequentes no subgrupo P3, com diferença significativa, onde  $p=0,02$  para MMN, e  $p=0,001$  para proliferação fibroblástica. No 7º dia, houve diferença significativa em todas as variáveis histológicas coradas pela hematoxilina-eosina e Tricrômio de Masson ( $p<0,05$ ) no subgrupo que recebeu o extrato de *Passiflora*. **Conclusão:** Concluiu-se que a administração peroperatória do extrato hidroalcoólico de *Passiflora edulis* influencia de forma significativa na cicatrização das anastomoses colônicas em ratos.

Palavras-chave: Cicatrização de feridas. *Passifloras*. Anastomose. Ratos.

## EXTRACT OF *Passiflora edulis* IN THE HEALING OF COLONIC ANASTOMOSIS IN RATS: A TENSIOMETRIC AND MOPHOLOGIC STUDY

### ABSTRACT

**Background** - Researches of new substances with therapeutical aim have been done trying to isolate, extract or purify new compounds of vegetable origin. The *Passiflora edulis* (Maracujá) species from the Passifloracia family, originated from the tropical and subtropical regions of the american continent, is found all over Brazil. It's popularly used as a sedative, painkiller and anti-inflammatory drug and also for the treatment of skin wounds, lesions and Erisipelae. **Objective:** To evaluate the wound healing in colonic anastomosis in rats, that received an hydro-alcoholic extract of *Passiflora edulis* peri-operative. **Method:** 40 wistar rats were used distributed in 2 groups of 20 rats each, named: *Passiflora edulis* group (GP) and control group (GC). The rats of each group were separated into two subgroups of 10 animals each and were evaluated on the 3<sup>rd</sup> and 7<sup>th</sup> postoperative days. The surgical procedure consisted of a section of the left colon, 5 cm above the peritoneal reflexion with preservation of the vascular tracts and end-to-end anastomosis in only one plane. The *Passiflora edulis* group received only one intraperitoneal dose of the hydro-alcoholic extract in the dosage of 250 mg/kg. The control-group received one intraperitoneal dose of a saline compound with the same volume of the GP. The parameters evaluated were: macroscopic aspects of the wall and abdominal cavity, perianastomotic (adherences), bursting pressure due air input, inflammatory tissue reaction on the anastomotic wound. **Results:** The macroscopic aspects didn't present significant differences between the groups. No rupture in the anastomotic wound was seen in the related groups. Regarding the bursting pressure, it was noticed that the average pressure was significantly bigger in the sub-group that received the *Passiflora edulis* extract on the 3<sup>rd</sup> day (P3), which pressure was  $42,6 \pm 17,8$  mmHg, comparing to the control sub-group (C3), which pressure was  $25,4 \pm 14,1$  mmHg,  $p=0,028$ . The same didn't happen on the 7<sup>th</sup> day, when the C7 sub-group had a bursting pressure of  $203,0 \pm 50,0$  mmHg,  $p=0,447$ . In the histologic analysis the polimorphic nuclear cells were more frequent in the C3 group, with significant differences ( $p=0,034$ ). The monomorphic nuclear cells (MMN) and the fibrobastic proliferation were more frequent in the P3 sub-group with a significant difference, where  $p=0,02$  to MMN, and  $p=0,001$  to the fibroblastic proliferation. On the 7<sup>th</sup> day there was a significant difference in all the histologic parts colored by hematoxin-eosin and Masson Trichomic ( $p<0,05$ ) in the sub-group that received the *Pasiflora edulis* extracts. **Conclusion:** The peri-operative administration of the hydro-alcoholic extract of *Passiflora edulis* has a positive influence on the healing of colonic anastomosis in rats.

Keywords: Wound healing, *Passiflora edulis*, anastomosis, rats.



## 1 INTRODUÇÃO

O tratamento das feridas, com o objetivo de melhora do processo cicatricial, desafia os cirurgiões, cujas atitudes se modificam ao longo dos séculos. Há registros desde 1700 a.C., até os primórdios do Cristianismo, em que o princípio do tratamento baseava-se na interferência mínima, com aplicação de panos limpos e mel sobre o ferimento. Aguardava-se a resolução por segunda intenção, conforme citação de POLK Jr e LOPES-MAYOR (1969).

A cicatrização é um evento biológico complexo que envolve a inflamação, quimiotaxia, proliferação, diferenciação e remodelação (CLARK; HENSON, 1988). Apresenta três fases consecutivas, de forma que numa mesma fase pode-se encontrar os elementos de outras fases subseqüentes (MODOLIN; BEVILACQUA, 1985). Graças aos avanços da metabologia cirúrgica, da bioquímica e da nutrição, surgiram novos conhecimentos na Biologia Molecular, influenciando a síntese de substâncias que favorecem os fenômenos cicatriciais (CORSI; CORSI; PIRANA, MURACO; JORGE, 1994).

A aproximação das bordas da ferida cirúrgica limpa, com fios de sutura, sem contaminação bacteriana significativa e sem perda mínima de tecidos, caracteriza cicatrização por primeira intenção. Ferida aberta, fechada por tecidos de granulação, com reepitelização e contração, caracteriza cicatrização por segunda intenção (NICHOLS, 1991). Outrossim, a falha da anastomose é causa freqüente de morbidade e mortalidade da cirurgia do cólon. Fatores como deficiência de vascularização, infecção, irradiação, anemia, diabetes, idade avançada e desnutrição, podem comprometer a cicatrização da anastomose intestinal (IRVIN; GOLIGHER, 1973).

O uso de espécies vegetais com fins terapêuticos remota ao início da civilização. Essa prática milenar ultrapassou obstáculos durante o processo evolutivo da humanidade, e chegou aos dias atuais (STASI, 1996). Observa-se hoje o uso cada vez mais freqüente de plantas com fins medicinais (MUNIZ, 1997). A utilização de produtos naturais, especialmente de plantas medicinais, tem ocorrido de forma indiscriminada, com pouca base científica sólida, recebendo destaque exagerado como indispensáveis à boa saúde a ponto de despertar preocupação para botânicos, químicos, médicos e farmacêuticos (SECCO, 1990).

O Brasil é possuidor de solo riquíssimo, clima tropical favorável, portador de flora variada e volumosa, e grande biodiversidade (CYSNEIROS, 1996). Possui população habituada às propriedades medicinais da flora, culturalmente adaptada ao uso de plantas (ELISABETSKY, 1987). Dentre as plantas medicinais de uso frequente no Brasil, encontra-se a *Passiflora edulis*, conhecida como maracujá.

O maracujá é fruto de numerosas espécies da família Passifloraceae, originárias das regiões tropicais e subtropicais do continente americano. A maioria das espécies é encontrada no Brasil. A espécie mais comum no Brasil é a *Passiflora edulis* (CAVALCANTE, 1976). Substâncias químicas, que são encontradas na *Passiflora edulis*, incluem alcalóides (harmana, harmina, harmalina e harmol), flavonóides e carotenóides (LUTOMSKI; MALEK; RIBACKA, 1975).

Estudando as ações farmacológicas da *Passiflora edulis*, SILVA e FREIRE (2000) confirmaram a ação de depressão do sistema nervoso central (SNC). Em outro trabalho os mesmos autores demonstraram o efeito inibitório da função digestória. A atividade analgésica e antiinflamatória do extrato etanólico da *Passiflora edulis* foi confirmado em 2001 por SILVA, NUNES e FREIRE. O infuso de folhas da *Passiflora edulis* é utilizado no Brasil para tratar depressão, insônia, convulsão, inflamação, cefaléia e nevralgia. As loções e cataplasmas são usadas popularmente para tratamentos de inflamações cutâneas, feridas e erisipela. Entretanto, ROBBERS (1998) sugere que a utilização de plantas para uso medicinal baseado nos conhecimentos empíricos deve ser confirmada por estudos científicos capazes de verificar as propriedades terapêuticas. Na revisão de literatura não se encontrou trabalho que estudasse especificamente o uso de *Passiflora edulis* com objetivo de avaliar seu efeito sobre a cicatrização. Deste modo, pareceu pertinente um estudo com animal de experimentação para avaliar seu efeito na cicatrização das anastomoses colônicas em ratos.

## 1.1 OBJETIVOS

O objetivo do presente estudo é avaliar o efeito do extrato da folha da *Passiflora edulis* no processo de cicatrização colônica em ratos mediante os seguintes parâmetros:

- a) Avaliação tensiométrica da anastomose mediante pressão de ruptura;

- b) Avaliação morfológica mediante o estudo macroscópico e microscópico da anastomose;
- c) Evolução temporal dos parâmetros acima entre o 3º e 7º dia, em ambos os grupos.



## 2 REVISÃO DA LITERATURA

### 2.1 CICATRIZAÇÃO DAS FERIDAS

No primeiro século da era cristã, CELSIUS verificou que a reparação das lesões apresentava, na fase inicial, um processo inflamatório responsável pelo rubor, edema, calor e dor (KLEIMAN; SIMÕES; GOLDENBERG, 1987).

A reparação do tecido lesado é um processo pelo qual as células destruídas são substituídas por células vivas, que podem ser derivadas do parênquima ou do estroma do tecido conjuntivo lesado (TEVES; CABRAL; SIMÕES; KULAY Jr., 1986). Com a evolução, os mamíferos perderam a capacidade de regenerar estruturas complexas tal como um membro, como ocorre com muitos animais aquáticos e anfíbios.

Embora possa ser restaurada a continuidade anatômica do tecido lesado, tal reparação é imperfeita, uma vez que ela substitui células funcionais do parênquima por tecidos conjuntivos não especializados. A cicatrização, portanto, diminui a reserva do órgão ou tecido comprometido (KLEIMAN; SIMÕES; GOLDENBERG, 1987).

### 2.2 FASES DA CICATRIZAÇÃO

Após uma lesão, o coágulo sanguíneo é formado no local da ferida. Este apresenta-se altamente vascularizado e organizado. As fases da cicatrização resumem-se em fase inflamatória, fase proliferativa e fase de remodelação tecidual (MODOLIN; BEVILACQUA, 1985).

#### 2.2.1 Fase inflamatória

A fase inflamatória é caracterizada inicialmente por vasoconstricção local decorrente de mediadores vasoativos, como tromboxane A<sub>2</sub>, liberados pelas plaquetas aderidas ao local onde houve lesão endotelial. A seguir, ocorre vasodilatação tecidual local, mediada pela ação das prostaglandinas. Com a vasodilatação começa a haver saída de fluidos e macromoléculas para o interstício.

O passo seguinte é a adesão de neutrófilos atraídos quimiotaxicamente pelos mediadores da inflamação. Inicia-se o processo de “limpeza” da ferida através da lise dos tecidos desvitalizados e dos microrganismos presentes na ferida. As substâncias liberadas pelos neutrófilos começam a atrair os macrófagos e monócitos. A partir daí, estas serão as células dominantes nos primeiros dias do processo inflamatório, complementando a função da limpeza da ferida e orquestrando o início do processo de reparação da ferida.

### 2.2.2 Fase proliferativa

A fase da proliferação celular, como um processo contínuo da fase anterior, inicia-se com o aparecimento dos primeiros fibroblastos atraídos pelos fatores liberados pelos macrófagos. Essa fase é marcada pela proliferação fibroblástica, pela angiogênese e pela epitelização. Todos esses processos são decorrentes da multiplicação celular. Esse processo é mediado pela liberação de fatores angiogênicos e de crescimento pelas células inflamatórias como descreveram BANDA, KNIGHTON, HUNT e WEBER (1982).

### 2.2.3 Fase de remodelação

O fibroblasto é a principal célula que sintetiza o colágeno (KLEIMAN; SIMÕES; GOLDENBERG, 1987). Está envolvido na reabsorção, disposição das fibras colágenas e remodelação do tecido normal durante o processo de cicatrização de feridas (SIMÕES; UZUNIAN; MORA; SASSO, 1985). A síntese e a disposição de colágeno podem ser inibidas por alguns fatores. Em estudos experimentais realizados em ratos, os macrófagos contribuíram para indução e controle de síntese e disposição de colágenos em feridas incisadas e suturadas (CASEY; PEACOCK Jr.; CHVAPIL, 1976).

Alguns autores acreditam que a fagocitose do colágeno está relacionada com a remodelação das fibras recém-sintetizadas, para que as mesmas adquiram determinadas orientações especiais a fim de que possam formar feixes de fibras mais organizadas. É possível que os fatores relacionados com a remodelação

dessas fibras possam ser a tensão e a pressão exercida sobre a pele como um todo (SIMÕES; UZUNIAN; MORA; SASSO, 1985).

Pesquisas demonstram que o macrófago apresenta função importante na reabsorção do colágeno, pois se encontrou no interior desta célula colágeno em estágio de degradação (SIMÕES; UZUNIAN; MORA; SASO, 1985).

## 2.3 TIPOS DE CICATRIZAÇÃO DE FERIDAS

### 2.3.1 Feridas fechadas

A forma mais simples de reparação corresponde à sutura de tecidos incisados cirurgicamente. Quando a contaminação bacteriana não é significativa e não há perda tecidual, a cicatrização é primária ou de primeira intenção (BEVILACQUA; MODOLIN; ALMEIDA; CHAPCHAP, 1981). Então, o processo de epitelização nos ferimentos cirúrgicos tem início cerca de 8 horas após a sutura. Em 40 horas, toda a ferida está epitelizada (BEVILACQUA; MODOLIN; ALMEIDA; CHAPCHAP, 1981).

Existem duas maneiras de aproximação das bordas de feridas: primeiro a sutura, quando se usam fios e agulhas para aproximar as bordas; e segundo, utilizando-se as fitas oclusivas, que aderem às margens do ferimento para evitar que a lesão fique exposta.

### 2.3.2 Feridas abertas

Em consequência de uma grande falha na continuidade dos tecidos, algumas lesões não podem ter suas bordas justapostas. Há casos em que a infecção provoca perda de massa tecidual, tornando o processo de cicatrização diferente do que ocorre após o fechamento por sutura de ferimentos incisos. Contudo as reações após a lesão são as mesmas para os dois tipos de ferida, aberta ou fechada, quando ocorrem exsudação inflamatória, neoformação vascular, proliferação, migração celular e epitelização, a partir das bordas da ferida, (BEVILCQUA; MODOLIN; ALMEIDA; CHAPCHAP, 1981).

## 2.4 CICATRIZAÇÃO DAS ANASTOMOSES COLÔNICAS

Atualmente, as operações no trato gastrointestinal (GI) estão entre os procedimentos cirúrgicos mais freqüentes. Houve avanço sobre o conhecimento na cicatrização GI. Há maior compreensão do impacto dos fatores locais e sistêmicos sobre a cicatrização anastomótica. Não obstante, o vazamento e a deiscência anastomótica continuam sendo problemas freqüentes e sérios associados com alta mortalidade (THORNTON; BARBUL, 1997).

### 2.4.1 Anatomia e fisiologia

A submucosa proporciona ao trato GI intacto a maior parte de sua força tensional, responsável pela ancoragem das suturas. A submucosa é formada por fibras colagenosas e elásticas entrelaçadas, plexo submucoso de fibras nervosas, gânglios e vasos sanguíneos e linfáticos (GRAHAN; DIEGELMANN; ELSON et al, 1988).

O componente mucoso das anastomoses GI é reparado por migração e hiperplasia de células epiteliais, que cobrem e vedam o tecido de granulação da ferida e criam barreira para o conteúdo luminal (THORNTON; BARBUL 1997). A serosa é uma fina camada de tecido conjuntivo que recobre a muscular externa. É necessária boa aposição da serosa para minimizar o risco de vazamento. Segmentos extraperitoniais do esôfago e no terço inferior do reto, sem cobertura da serosa, apresentam maior risco de complicação (GOLIGHER; LEE; SIMPKINS; LINTOTT, 1977).

## 2.5 DETERMINANTES DA CICATRIZAÇÃO ANASTOMÓTICA

### 2.5.1 Suprimento sanguíneo e oxigenação

O suprimento sanguíneo para a cicatrização da anastomose é primordial. A hipovolemia reduz a tensão tecidual de oxigênio a qual, quando apresenta valor igual ou inferior a 25mmHg, é incompatível com a cicatrização. Por exemplo, a taxa de vazamento é de 10%, quando a tensão tecidual de oxigênio é de 55mmHg. Esses

efeitos da tensão tecidual de oxigênio sobre a microcirculação local são menos tolerados no cólon, havendo íntima correlação entre a tensão tecidual de oxigênio e a força de ruptura anastomótica (THORNTON; BARBUL, 1997).

### 2.5.2 Técnica cirúrgica

A técnica cirúrgica é primordial para o bom resultado de qualquer operação. Os cirurgiões experientes têm menor incidência de complicações das feridas que os cirurgiões em treinamento (DUNPHY; JACKSON, 1962).

A anastomose em dois planos poderia proporcionar maior força inicial, porém aumentaria a resposta inflamatória nos estágios iniciais da cicatrização, em virtude do material de sutura extra e da isquemia do tecido invertido. Essa inflamação resulta em anastomose mais fraca porque o colágeno é mais fracionado durante a fase inflamatória da cicatrização. Os defensores de um único plano ainda argumentam que tal técnica permite luz intestinal mais ampla e menos danos da borda tecidual (THORNTON; BARBUL, 1997).

### 2.5.3 Materiais de sutura

Materiais de sutura tanto absorvíveis quanto inabsorvíveis são usados em cirurgia gastrointestinal com sucesso variável. É evidente que nenhum deles é ideal para promover a cicatrização anastomótica. O fio deve ser resistente o bastante para proporcionar o apoio mecânico necessário da anastomose, porém suficientemente delicado para minimizar o traumatismo quando passa através do tecido (THORNTON; BARBUL, 1997).

A força tensional da sutura é necessária apenas por um curto período de tempo, e o material acaba sendo absorvido. A absorção elimina o resíduo do corpo estranho observado com os fios inabsorvíveis, o que induz à poderosa reação tecidual. O categute simples perde a maior parte de sua força tensional nos primeiros cinco dias, enquanto o categute cromado protela essa perda por dez dias. Portanto, na maioria das cirurgias, especialmente em áreas de infecção, o categute não é recomendado. Os fios absorvíveis sintéticos preservam 50% de sua força original por duas semanas, e são degradados por hidrólise, que não é afetada pelas

enzimas presentes no meio ambiente inflamatório ou infectado. No trato gastrointestinal, os materiais de sutura monofilamentares inabsorvíveis aproximam-se mais do fio ideal, no sentido de promover a cicatrização anastomótica bem sucedida. O aço inoxidável, usado agora amplamente no grampeamento cirúrgico, também produz reação tecidual mínima (THORNTON; BARBUL, 1997).

#### 2.5.4 Medicacões

Os antiinflamatórios não-esteróides (AINES) reduzem a colagenólise nos primeiros três dias da cicatrização intestinal. Exercem efeito favorável na cicatrização intestinal por aumentarem a produção do colágeno, devido às suas atividades antiprostaglandina E2. O misoprostol, uma prostaglandina E1 sintética, tem ação inversa, elevando o conteúdo de colágeno das anastomoses, após 14 dias (OLIVEIRA; SOARES; APRILLI, 1994).

A quimioterapia coadjuvante tem efeito benéfico sobre o câncer colorretal, quando administrada após uma ressecção cirúrgica. Entretanto, exerce efeito imunossupressor, diminuindo a síntese de colágeno, podendo ser prejudicial à cicatrização. Esse efeito é minorado, quando se espera três dias após a cirurgia, para iniciar a quimioterapia (THORNTON; BARBUL, 1997; SOARES; CAMPOS, MATIAS; COELHO; MALAFAIA, 2000).

#### 2.5.5 Outros fatores

Além dos determinantes acima citados, que influenciam a cicatrização anastomótica, existem outros fatores que podem alterar a evolução da cicatrização, tais como idade, diabetes mellitus, uso de medicamentos quimioterápicos, estado nutricional, preparo mecânico do cólon (controverso) e radioterapia pré-operatória que podem acarretar perda da viabilidade tecidual e capacidade de cicatrização; e o enfaixamento epiplóico que promove neovascularização, granulação e drenagem linfática perianastomótica (THORNTON; BARBUL, 1987).

## 2.6 PLANTAS MEDICINAIS

As espécies vegetais usadas pela população com finalidade terapêutica podem ser consideradas não só como matéria-prima, ponto de partida para descoberta de novos princípios ativos, mas também como recurso natural na forma de fitoterápico, de modo que a população com pouco poder aquisitivo encontra nos produtos de origem vegetal a única fonte de recurso terapêutico (STASI, 1996).

### 2.6.1 *Passiflora edulis* (maracujá)

O maracujá é fruto de numerosas espécies da família Passiflorácea, originárias das regiões tropicais e subtropicais do continente americano. A maioria das espécies é encontrada no Brasil. A espécie mais comum no Brasil é a *Passiflora edulis* (CAVALCANTE, 1976). Substâncias químicas são encontradas na *Passiflora edulis*, incluindo-se alcalóides (harmana, harmina, harmalina e harmol), flavonóides e carotenóides (LUTOMSKI; MALEK; RYBACKA, 1975).

SILVA e FREIRE (2000) confirmaram a ação inibitória da função digestória, mediante redução da motilidade, sugerindo uma atividade anticolinérgica da planta, semelhante à ação descrita por CARNEIRO e FONTELLES (1994) no extrato da *Passiflora foetida*. A atividade analgésica e antiinflamatória encontrada por SILVA, NUNES e FREIRE (2001), estudando o extrato etanólico da *Passiflora edulis* por via oral e intraperitoneal, foi observada através da redução do número de contorções abdominais induzidas por ácido acético, sugerindo ação semelhante aos medicamentos antiinflamatórios não-esteróides.

### 2.6.2 Descrição botânica da planta

Segundo SCHULTZ (1984), a *Passiflora edulis* apresenta a seguinte posição taxonômica:

- REINO: Vegetal
- DIVISÃO: Spermatophyta
- SUBDIVISÃO: Angiospermae
- CLASSE: Dicotyledoneae

- SUBCLASSE: Archiclamydeae
- ORDEM: Passiflorales
- SUBORDEM: Flacourtiaceae
- FAMÍLIA: Passifloraceae
- GÊNERO: *Passiflora*
- ESPÉCIE: *Passiflora edulis*

O vegetal *Passiflora edulis* (fig. 01) pertence à família Passiflorácea; é uma trepadeira que se desenvolve em outras árvores e arbustos. Apresenta caule quadrado escamoso na base e folhas simples e inteiras (SCHULTZ, 1984).

FIGURA 1 – PLANTA *Passiflora edulis*



## 2.7 MODELOS EXPERIMENTAIS DE ANASTOMOSE COLÔNICA EM RATOS

Diferentes estudos procuraram analisar a cicatrização da anastomose colônica em ratos. A seguir apresentam-se trabalhos relacionados com a cicatrização colônicas em ratos:

LEITE, NARESSE, KOBAYASI, MINOSSI, BURINI, CURTI e HOSSNE (1993) avaliaram a influência da desnutrição na cicatrização das anastomoses colônicas distais em ratos. Os parâmetros estudados foram a força de ruptura e dosagem do colágeno tecidual. Foram distribuídos 185 ratos em dois grupos experimentais: grupo I (GI) recebeu dieta com 20% de proteínas; e o grupo II (GII) recebeu dieta com 2% de proteínas. Após 21 dias, um lote de cada grupo foi sacrificado para avaliação dos

parâmetros acima. Os demais ratos foram submetidos a colotomia distal e anastomose. Os animais dos dois grupos foram sacrificados no 4º, 7º, 14º e 21º dias. Verificou-se diminuição da força de ruptura da anastomose nos dois grupos. Nos animais com carência proteica, a força de ruptura foi 33% menor no 4º dia; 39% no 7º dia; 34% no 14º dia, e 32% no 21º dia, em relação ao grupo controle. A concentração de colágeno na cicatriz foi menor nos grupos controle no 4º e 7º dia e maiores no 14º e 21º dia. Concluíram os autores que a desnutrição protéica apresenta efeito deletério na cicatrização do cólon, e diminui a força de ruptura e concentração de colágeno.

AHRENDT, TANTRY e BARBUL (1996) realizaram trabalho para elucidar os mecanismos pelos quais a infecção afeta a cicatrização da anastomose. Estudaram a deposição do colágeno na anastomose, a síntese de proteína e a expressão do gen de colágeno no modelo animal. O material constou de 40 ratos machos submetidos à laparotomia branca (n=18) e perfuração cecal com único furo (n=22). Após 24 horas, os animais foram submetidos a colotomia e anastomose em plano único do cólon esquerdo. Os animais foram sacrificados no 1º e 4º dias pós-anastomose. Nesse estudo, os autores concluíram que a infecção intra-abdominal prejudica a deposição de colágeno reparatório colônico e a síntese de proteína e, diminui a força mecânica da anastomose colônica.

SANTIS, LOUREIRO, ANDRADE, GUILGEM e SIMÕES (1996) avaliaram o efeito da cisplatina intraperitoneal, na cicatrização das anastomoses colo-cólicas em ratos. A cicatrização foi avaliada pelo aspecto macroscópico e histológico. Foram estudados 24 ratos, distribuídos em dois grupos: grupo controle (GI – n=12), que recebeu solução salina 0,9 i.p. no pré-operatório; grupo experimento (GII – n=12), que recebeu 6mg/kg de cisplatina i.p. no pré-operatório. A morte dos animais foi no 3º, 7º e 14º dia do pós-operatório. Os ratos do grupo II (cisplatina) apresentaram achatamento das criptas, diminuição da mucosecreção, maior número de vasos por campo ( $p<0,01$ ), maior granulação e área de necrose ( $p<0,01$ ), em relação ao grupo controle. Concluíram os autores que a cisplatina não impede, mas retarda a cicatrização das anastomoses do cólon em ratos.

KIYAMA, EFRON, TANTRY e BARBUL (1999) avaliaram a influência da via de suporte nutricional na cicatrização da anastomose colônica em ratos. Foram estudados 20 ratos machos. Submetidos a colotomia distal e anastomose colônica

em plano único. Infusão de nutrientes idênticos foram administrados em metade dos animais por gastrostomia, e a outra metade, através de cateter venoso. Os animais foram mortos no 5º dia do pós-operatório. A pressão de ruptura anastomótica foi significativamente maior no grupo da via enteral ( $180 \pm 6 \times 150 \pm 11$  mmHg;  $p < 0,001$ ). O colágeno insolúvel (maduro) e conteúdo total de proteínas na anastomose foram maior no grupo enteral. O colágeno solúvel não apresentou diferença entre os grupos. Os autores concluíram que a via enteral pode melhorar a cicatrização e aumenta a capacidade de suportar sutura.

SHASHIDHARAN, LIN, TERNENT, SMYRK, THORSON, BLATCHFORD e CHISTENSEN (1999) avaliaram os efeitos da arginina na cicatrização das anastomoses em ratos. Foram estudados 42 ratos distribuídos em três grupos de 14 ratos, alimentados com dietas à base de arginina com 0%, 1% e 3%, durante três dias do pré e pós-operatório. Os animais foram submetidos a colotomia e anastomose. Foram mortos subgrupos de 14 animais, em cada grupo dietético no 6º, 10º e 14º dia do pós-operatório. Os parâmetros comparados foram ruptura de pressão, histologia da inflamação e conteúdo do colágeno. A pressão de ruptura foi mais baixa no 6º dia do pós-operatório, nos ratos do grupo 0%, em relação aos ratos do grupo 1% e 3% ( $p < 0,0005$ ). No 10º e 14º dia não houve diferença significativa na pressão de ruptura entre os grupos 0%, 1% e 3%. Não houve diferença significativa na reação inflamatória, como também no conteúdo de colágeno entre os grupos dietéticos. Os autores concluíram que a deficiência de arginina no perioperatório no rato está associada à deficiência na cicatrização da anastomose na 1ª semana. A suplementação de arginina a 3% não aumenta a pressão de ruptura acima daquelas encontradas na dieta a 1% no 6º, 10º e 14º dia. A concentração de colágeno atinge o pico máximo no grupo morto no 10º dia.

AGUILAR-NASCIMENTO, TEIXEIRA e OLIVEIRA (2000) avaliaram o efeito de deflazacort, na cicatrização das anastomoses colônicas em ratos. Foram estudados 75 ratos Wistar, distribuídos em três grupos para receberem os seguintes tratamentos por gavagem: grupo controle ( $n=24$ ), solução fisiológica; grupo deflazacort ( $n=25$ ), 0,1 mg/kg/dia, e grupo dexametasona ( $n=26$ ), 0,5 mg/kg/dia. Após seis dias de tratamento, os animais foram submetidos à secção colônica, seguida de anastomose primária 2 cm acima de reflexão peritoneal. O tratamento com as soluções foi mantido até o sacrifício, ocorrido no 3º e 6º dia do pós-operatório. Não

houve diferença em relação à ocorrência de deiscência e peritonite. A pressão de ruptura foi semelhante nos 3 grupos, no 3º dia. No 6º dia, a pressão apresentou diferença significativa ( $p < 0,05$ ), entre o grupo controle (180 [150-230] mmHg), e os grupos deflazacort (150 [120-180] mmHg) e dexametasona (140 [100-180] mmHg). A dosagem de proteína foi maior no grupo dexametasona no terceiro dia, em relação ao grupo controle. Concluíram que o uso de corticóides determina queda na resistência da anastomose colônica, e que o deflazacort apresenta os mesmos efeitos deletérios da dexametasona na cicatrização das anastomoses intestinais.

BIONDO-SIMÕES, GRECA, BRYK JÚNIOR, KOMATSU e BITTENCOURT (2000) avaliaram a relação entre concentração de colágeno e a capacidade de suportar pressão em anastomoses colônicas na presença de peritonite. Foram estudados 40 ratos machos Wistar-Tecpar com idade média de 120 dias e peso médio de 302g, distribuídos em dois grupos de 20 animais: grupo controle (GC), laparotomia branca; grupo peritonite (GP). Tiveram a infecção induzida pelo método descrito Wichterman e col. Após 24 horas foram submetidos à secção total do cólon esquerdo a 2cm da reflexão peritoneal e anastomose em plano único. As aferições foram realizadas no 3º e 7º dia. Ressecou-se 4cm da peça contendo a anastomose. Mediu-se a pressão de ruptura. O estudo histológico foi corado pela Sirius-red e a análise da concentração de colágeno foi realizada mediante método computadorizado. Concluíram que a peritonite diminui a concentração e maturação do colágeno, porém não altera a capacidade da anastomose suportar pressão.

GRECA, BIONDO-SIMÕES, COLLAÇO, MONACO, TOLLAZZI, GASPARETTO e SANTOS (2000) avaliaram a ação dos ácidos graxos de cadeia curta (AGCC) na cicatrização do cólon. Foram estudados 16 ratos fêmeas distribuídos em dois grupos de 8 animais. Foram submetidos à operação de Hartmann, infusão de solução salina isotônica no grupo controle (GC), e infusão de solução isomolar contendo AGCC no grupo experimento (GE), por sete dias. O GC apresentou pressão média de ruptura do segmento distal do cólon 128,37mmHg, enquanto o GE apresentou 137,25mmHg ( $p = 0,5693$ ). A avaliação histológica (HE) foi semelhante nos dois grupos. A concentração de colágeno maduro (tipo I) foi significativamente maior no GE que no GC, onde ( $p = 0,0094$ ). O colágeno total foi maior no GE que no GC. Concluíram que a infusão intraluminal de AGCC aumenta

a concentração de colágeno maduro e total na linha de sutura do cólon retal, quando comparado ao grupo controle.

GRECA, BIONDO-SIMÕES, IOSHI, SANTOS, CHIN, EL TAWIL, STALHSCHIMIDT (2000) avaliaram a influência da inflamação na cicatrização das anastomoses colônicas em ratos. Foram estudados 40 ratos, distribuídos em grupo controle (n=20) e grupo experimento (n=20), com doença inflamatória induzida por ácido acético a 10% por sonda retal. No 7º dia, procedeu-se a laparotomia em ambos os grupos, colotomia e anastomose em plano único. Foram avaliadas no 3º e 7º dia a capacidade de suportar pressão, e a concentração, percentual de colágeno. O número de complicação, deiscência, peritonite e mortalidade foram mais freqüente no grupo experimento. A capacidade de suportar pressão foi menor no grupo experimento, contudo a diferença não foi significativa em relação ao grupo controle. O percentual de colágeno imaturo (tipo III) foi maior no grupo experimento. Houve predomínio de colágeno maduro (tipo I) no grupo controle. A organização de colágeno foi maior no grupo de experimento. Concluíram que a doença inflamatória aumenta o número de deiscência pelo atraso de maturação e ordenação do colágeno.

CEELEN, EL MALT, CARDOM, BERREVOET, DE NEVE e PATTYN (2001) avaliaram o efeito da radioterapia pré-operatória e pós-operatória na cicatrização das anastomoses colônicas em ratos. Os ratos Wistar receberam 0, 40, 60 e 80gy de radioterapia no pré-operatório em apenas uma das extremidades da anastomose. O ceco foi fixado fora do campo de radiação, antes da radioterapia. O esquema constou de 2gy/dia, cinco dias por semana, por quatro a oito semanas. No final da radioterapia foi realizada anastomose colorretal látero-lateral. A morte dos ratos ocorreu no 10º dia do pós-operatório. Os parâmetros avaliados foram peritonite, estenose, deiscência, obstrução, pressão de ruptura e conteúdo de hidroxiprolina, na anastomose. Não foram encontradas diferenças significantes nas taxas de peritonites, pressão de ruptura, complicações anastomóticas ou conteúdo de hidroxiprolina. Os animais irradiados ganharam peso mais lentamente que os do grupo controle. Os autores concluíram que a radioterapia pré-operatória não afeta o resultado da cicatrização anastomótica, quando somente uma das extremidades da anastomose é irradiada.

ZEEH, INGLIN, BAUMANN, DIRSCH, RILLEY, GERKEN, BÜCHLER e EGGER (2001) avaliaram os efeitos do mycophenolate mofetil (MMF), na cicatrização de anastomose colônica em ratos, com uso sistêmico. Foram estudados 3 grupos de 21 ratos, submetidos à colotomia esquerda. O MMF 25mg/kg, foi administrado i.p. 3 dias antes da cirurgia, uma vez diariamente, até a morte com 2, 4 e 6 dias após a cirurgia. Os parâmetros avaliados foram pressão de ruptura, histologia com análise morfométrica do colágeno e matriz protéica no local da anastomose. O MMF torna a camada mucosa mais delgada e diminui significativamente a pressão de ruptura da anastomose em relação ao grupo controle. A síntese da matriz não apresentou diferença significativa no local da anastomose. Concluíram que o MMF dificulta a cicatrização e a estabilidade mecânica da anastomose e pouco dificulta a síntese da matriz.

SOARES, CAMPOS, MATIAS, COELHO e MALAFAIA (2002) avaliaram o efeito do 5-flourouracil na cicatrização das anastomoses colônicas em ratos. Foram utilizados 40 ratos Wistar. O grupo experimento (n=20) recebeu 20mg/kg/dia intraperitoneal; e o grupo controle (n=20), recebeu solução salina isotônica intraperitoneal. Foram realizadas colotomia e colorrafia em plano único. Foram avaliados os aspectos histológicos, a força de resistência tênsil e a força de ruptura completa na anastomose, e peso corporal. Os ratos de cada grupo foram divididos em subgrupos de 10, e avaliados no 5º e 8º dia do pós-operatório. A força de resistência à tração foi menor no subgrupo experimento no 5º dia em relação ao subgrupo controle. No 8º dia, foram semelhantes. A força de ruptura completa não apresentou diferença significativa entre os grupos no 5º e 8º dia. A avaliação histológica apresentou retardo na cicatrização colônica no grupo experimento no 5º e 8º dia em relação ao grupo controle. Houve perda de peso no grupo experimento em relação ao grupo controle. Concluíram que a administração do 5-flourouracil influencia negativamente a cicatrização intestinal em ratos.

VERHOFSTAD, LOMME, DE MAN e HENDRIKS (2002) realizaram trabalho com objetivo de investigar se a atividade da matriz metacloproteinase (gelatina degradante) aumenta nas anastomoses intestinais de ratos diabéticos. O material constou de 60 ratos Wistar, machos jovens, submetidos à ressecção e anastomose do íleo e cólon. Na metade dos animais, o diabetes foi induzido sete dias antes da operação por injeção de estreptozotocina (50mg/kg/dia intravenosa). A atividade da

gelatinase em segmentos retirados do intestino ileso e anastomosado no 3º e 7º dias depois da cirurgia foi medida pela gelatina quantitativa “zymography”. Concluíram os autores que o diabetes experimental prolonga e eleva a atividade da gelatinase em anastomoses intestinal; aumento da degradação da matriz pode contribuir de forma significativa para diminuir a força da anastomose em ratos com diabetes induzido.

COSTA, CAMPOS, COELHO, BARROS e MATSUMOTO (2003) avaliaram a suplementação oral de glutamina, na cicatrização das anastomoses colônicas em ratos. Foram estudados 48 ratos Wistar, machos. Os ratos foram randomizados para receber diariamente por sete dias, no pré-operatório, solução isonitrogenada e isovolumétrica (1,5g/kg/dia) através de um tubo orogástrico. O grupo (GLN) 10% L-glutamina e grupo (GLY) 10% glicina. No oitavo dia, foram submetidos a duas transecções colônicas: uma a 6cm distal da válvula íleo cecal; e outra, a 5cm distal da primeira transecção. Foi realizada a reconstituição do trânsito em plano único. Metade dos animais de cada grupo foi morta no 3º e 8º dia. As anastomoses foram ressecadas e avaliadas quanto aos parâmetros da resistência da força tênsil, aspecto histológico da reação inflamatória e densidade da concentração de colágeno. A força de ruptura foi significativamente mais alta no grupo GLN em relação ao grupo GLY. O infiltrado inflamatório de mononucleares foi significativamente menor no grupo GLN. A concentração de colágeno maduro (tipo I) foi percentualmente maior no grupo GLN em relação ao grupo GLY; o colágeno imaturo (tipo III) foi percentualmente menor no grupo GLN. Concluíram que a suplementação oral de glutamina no perioperatório aumenta a força tênsil de ruptura e aumenta o percentual de colágeno maduro nos locais de anastomoses no 3º e 8º dia do pós-operatório.

## 2.8 MODELOS EXPERIMENTAIS QUE AVALIARAM O GÊNERO PASSIFLORA

NICOLLS, BIRNER e FORSELL (1972) avaliaram as ações antibacterianas e antifúngicas do Passicol, substância encontrada nos tecidos vivos do gênero *Passiflora*. Utilizaram o extrato da *Passiflora molissinas* e pedaços vivos do caule da *Passiflora coerulea* como doadores do Passicol. Discos de sensibilidade contendo Passicol foram postos sobre placas de Petri contendo meios de cultura (ágar, ágar-sangue) semeados com fungos e bactérias tais como *Microsporum sp*, *Trichophyton*

sp, *Candida* sp, *Staphylococcus aureus*, *Clostridium sporogens*, *Escherichia coli* e *Salmonella* sp. Outras placas de Petri apresentavam disco controle com substância tampão. Foram realizados testes de toxicidade do extrato de *Passiflora molissina* em três ratos e um coelho. Observaram inibição de halo de crescimento dos microorganismos nas placas de Petri, impregnadas com extrato de *Passiflora molissina* ou pedaços vivos do caule de *Passiflora coerulea*, quando comparados com o controle. Os três ratos e o coelho sobreviveram ao teste de toxicidade. Concluíram que Passicol contido no extrato da *Passiflora molissina* e nos pedaços vivos do caule da *Passiflora coerulea* impedem o crescimento *in vitro* de vários microorganismos.

HOEHNE (1978) relata diversos aspectos do maracujá no livro “Plantas e Substâncias Vegetais Tóxicas”. Na flora brasileira, são mais de 120 espécies. A raiz, folhas e sementes são popularmente usadas para tratamento de verminoses. Foi confirmada a ação anti-helmíntica nas espécies *Passiflora*: *P. bilobata*, *P. alata*, *P. edulis*, *P. mucronata*, *P. incarnata*, *P. quadrangularis*. As *Passifloras* são mais estudadas como narcotizantes. Tinturas extraídas das folhas da *Passiflora* produzem ação que se assemelha à morfina. Decocto (cozimento) das folhas e raízes é usado como calmante, assim como no tratamento de hemorróidas, erisipela e febres.

MALUF, BARROS, FROCHTEMGARTEM, BENTI e LEITE (1991) avaliaram as ações tóxicas, hipnóticas e sedativas do extrato aquoso de *Passiflora edulis* em roedores e humanos. Foram estudados 160 camundongos, 20 ratos e 9 humanos, 4 do sexo masculino e 5 do sexo feminino. O extrato foi administrado por via intraperitoneal, oral ou gavagem nos ratos e camundongos. Foi administrado por via oral nos humanos. Foram avaliados tempo do sono, eletrocorticogramas, convulsões induzidas, atividade motora espontânea, efeitos tóxicos induzidos nos camundongos e ratos; monitorização cortical, avaliação do desempenho nas gaiolas, administração freqüente de chá de *Passiflora* com testes sanguíneos. Estudo duplo cego com *Passiflora* e placebo nos humanos. O resultado mostrou que o tempo de sono foi maior nos camundongos tratados com *Passiflora* que nos controles. Não houve diferença do eletrocorticograma entre os ratos que fizeram uso de *Passiflora* e grupo controle. Não houve proteção das convulsões induzidas por pentilneotetrazol nos ratos que receberam a *Passiflora*. Houve redução da atividade motora espontânea dos camundongos com uso da *Passiflora*. O uso de cápsula de *Passiflora* por 60

dias, determinou elevação da bilirrubina direta, gama GT (gama glutamil transferase), ácido úrico e creatino-fosfoquinase e amilase em quatro voluntários. Não foram encontradas alterações cardiográficas, efeito hipnótico significativo, determinadas pela *Passiflora*. Concluíram que a *Passiflora edulis* deprime o sistema nervoso central, e que a toxicidade e ação da *Passiflora edulis* devem ser melhor estudadas.

BORRELI, PINTO, IZZO, MASCOLO, CAPASSO, MERCATI, TOJA e AUTORE (1996) avaliaram a ação antiinflamatória do extrato etanólico da *Passiflora incarnata* em ratos. Promoveram edema da pata com carragenina, pleurisia com dexam e granulomas por "pellets" de algodão. Extrato etanólico de *Passiflora incarnata* foi administrado por via oral. No resultado, houve redução do edema da pata, redução da migração de polimorfonucleares e monomorfonucleares na pleurisia e redução significativa do peso dos granulomas com doses altas de *Passiflora*. Concluíram que o extrato etanólico da *Passiflora incarnata* apresenta ação antiinflamatória.

SILVA e FREIRE (2000) avaliaram a ação da *Passiflora edulis* como depressor do SNC, analgésico e antiespasmótico. Foram administrados em ratos e camundongos por via tópica, oral, intraperitoneal, as doses de 0,1; 0,5; 1 e 2 g/kg. As observações foram feitas aos 5, 10, 15 e 30 minutos; 1, 2, 4 e 6 horas, e 1, 2 e 3 dias após a administração da *Passiflora edulis*. Parâmetros avaliados: sono induzido por barbitúricos, movimentos espontâneos, contorções abdominais induzidas por ácido acético; edema da orelha provocado por óleo de cróton, velocidade do trânsito intestinal. Houve passividade, sedação discreta, diminuição da motilidade, constipação intestinal, fezes secas e diminuição de volume com a *Passiflora*. O sono foi potencializado, redução dos movimentos espontâneos, redução das contorções abdominais e redução do edema. Concluiu o autor que o extrato etanólico de *Passiflora edulis* determina depressão do SNC, possui ação analgésica e antiinflamatória, antiespasmódica (anticolinérgica) e inibitória do sistema digestório.

SILVA, NUNES e FREIRE (2001) avaliaram a atividade analgésica, antiinflamatória e antipirética do extrato etanólico de *Passiflora edulis*. A administração do extrato etanólico (EE) na dose de 1 e 2g/kg intraperitoneal produziu aumento da temperatura em camundongos, observados com 30 e 60 minutos com diferença significativa em relação ao grupo controle. A administração

do EE (0,5, 1 e 2g/kg i.p) reduziu o número de contorções abdominais em camundongos em 56%, 59% e 77%, respectivamente, com diferença significativa em relação ao grupo controle. A administração tópica do EE (20, 40 e 80mg) diminuiu o edema da orelha dos camundongos em 15%, 33% e 54%, respectivamente, com diferença significativa em relação ao grupo controle. Houve redução do edema de pata dos ratos após tratamento com EE (1 e 2g/kg i.p); houve diminuição em 24% e 40%, respectivamente, com diferença significativa na 3ª hora. O tratamento com EE (1 e 2g/kg i.p) reduziu a febre em ratos 5% e 8%, respectivamente, em relação ao grupo controle, com diferença significativa na 2ª hora. Concluíram os autores que a *Passiflora edulis* tem atividade analgésica, antiinflamatória e antipirética.

### **3 MATERIAL E MÉTODO**

---

### 3 MATERIAL E MÉTODO

Este trabalho foi realizado no Laboratório de Bioquímica do Departamento de Fisiologia e Farmacologia do Centro de Ciências Biológicas e da Saúde da Universidade Federal do Maranhão (UFMA), no programa de Pós-Graduação do Mestrado Interinstitucional (MINTER) entre a Universidade Federal do Paraná (UFPR) e a Universidade Federal do Maranhão (UFMA).

Utilizaram-se as normas de Legislação de Animais de Experimentação, Lei Federal nº 6.638 (1979). Foram tomadas como base, para a digitação e redação, as NORMAS para apresentação de Documentos Científicos da UFPR (2000), que obedecem à Associação Brasileira de Normas Técnicas (ABNT), com adaptações aos atuais recursos tecnológicos de informação.

O presente trabalho cumpriu as Normas do Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA) e foi aprovado pela Comissão Científica do Departamento de Medicina II da Universidade Federal do Maranhão.

#### 3.1 DESCRIÇÃO DA AMOSTRA

Foram utilizados 40 ratos (*Rattus norvegicus albinus* – *Rodentia mammalia*), machos, adultos, jovens, da linhagem Wistar, com peso médio de 143,4g, sem sinais físicos de comprometimento da saúde, com idade de 50 a 60 dias, procedentes do biotério do Centro Multidisciplinar para Investigação Biológica (CEMIB) da Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP), SP.

#### 3.2 AMBIENTAÇÃO

Os ratos foram confinados em gaiolas de plástico padronizadas para cinco animais, forradas com serragem com área de 0,15m<sup>2</sup>, com livre acesso a água e ração padrão para ratos (Labina®-Purina, Paulina-SP). Foi respeitado período de aclimação de sete dias, em condições ambiente.

### 3.3 FITOTERÁPICO (MATERIAL VEGETAL)

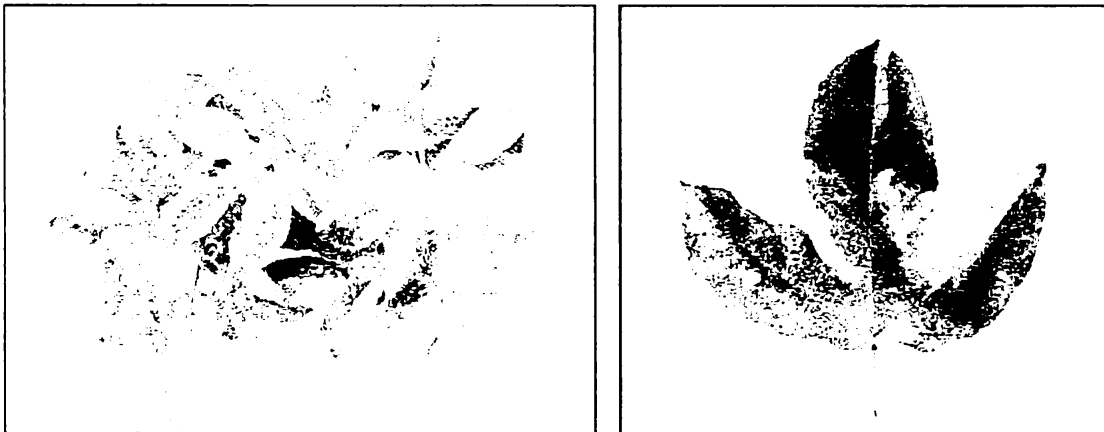
O extrato utilizado foi da *Passiflora edulis* (maracujá), na dose 250mg/kg, em injeção intraperitoneal. A administração foi realizada após a execução da colotomia e da reconstituição do trânsito intestinal. Foi utilizada solução de 250mg/ml do extrato, administrada com seringa em peritônio livre ao término da confecção da anastomose.

### 3.4 COLETA DO MATERIAL VEGETAL

O extrato hidroalcoólico foi preparado das folhas da planta adulta da *Passiflora edulis* (maracujá), colhidas no período chuvoso (maio) em sítio localizado no distrito de Pedrinhas, no município de São Luís, Estado do Maranhão.

A *Passiflora edulis* foi identificada e catalogada no Herbário Ático Seabra da Universidade Federal do Maranhão (UFMA), sob o nº 1155.

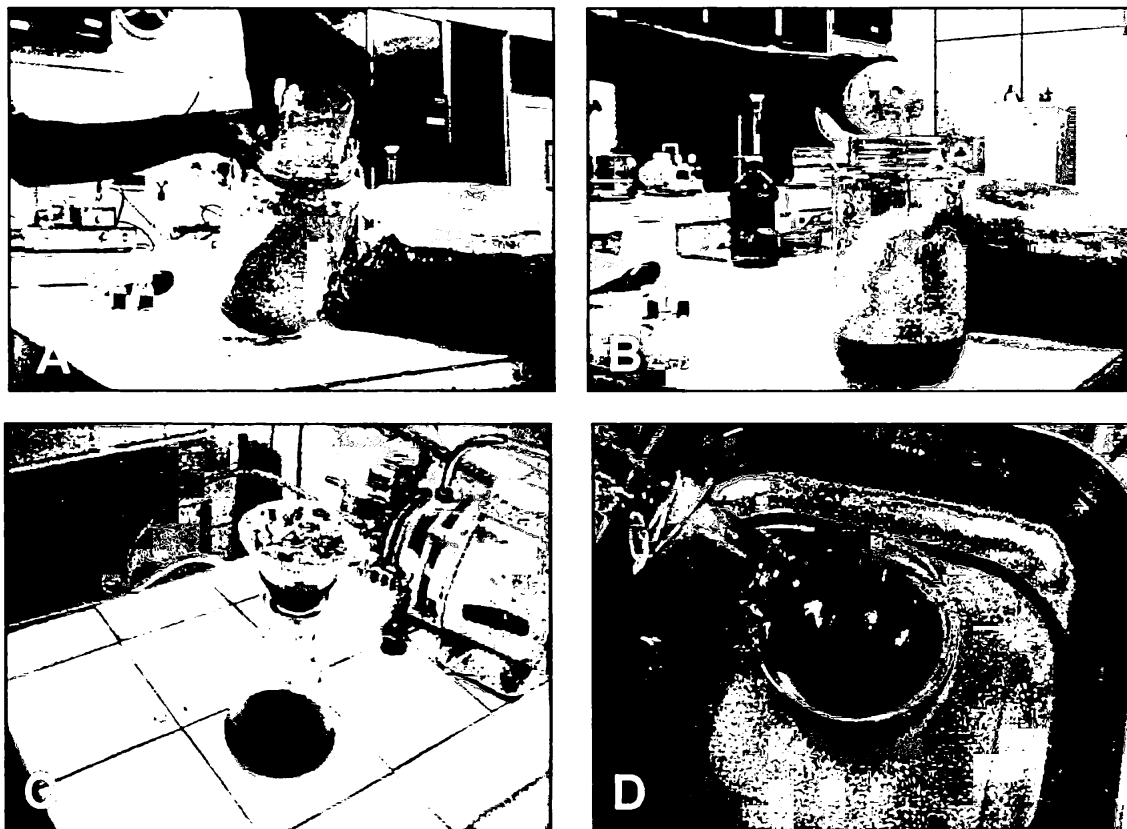
FIGURA 2 – FOLHA DA *Passiflora edulis*



### 3.5 PREPARO DO EXTRATO

O extrato hidroalcoólico de *Passiflora edulis* foi preparado no Laboratório de Produtos Naturais (LPN) do Departamento de Química (DEQUI) do Centro de Ciências Exatas e Tecnologia da UFMA, a partir das folhas da planta *Passiflora edulis*. Foram retirados 8kg de folhas, que foram secadas em temperatura ambiente. Em seguida, o material foi secado em estufa para retirada da umidade a temperatura de 45 a 50°C por 24 horas. Posteriormente, foram submetidas ao processo de moagem em moinho elétrico (Tecnal® – TE 650, São Paulo-SP) no Laboratório do Pavilhão Tecnológico da Universidade Federal do Maranhão (UFMA). Obteve-se pó de coloração esverdeada. O material foi pesado em balança comercial, totalizando quantidade de 2000g. Adicionaram-se 6 litros de solução hidroalcoólica a 70% na proporção 3:1 do pó. A cada 2 horas, agitava-se a mistura manualmente por 5 minutos por um período de 12 horas. A mistura foi filtrada em funil de vidro simples e algodão, sob pressão baixa. Os procedimentos foram repetidos por duas vezes. Obteve-se, no final dessa filtração, a quantidade de 8000ml de extrato bruto de coloração verde escuro. O extrato bruto foi concentrado em evaporador rotativo (Fisaton, modelo 802, São Paulo-SP) sob pressão baixa a temperatura de 50 – 60°C para eliminação total do solvente. O material obtido se apresentou em forma de pasta. Foram retiradas amostras para testes farmacológicos, realizados no Laboratório de Bioquímica do Centro de Ciências Biológicas e da Saúde da Universidade Federal do Maranhão (UFMA). No presente trabalho, a pasta foi diluída em água destilada até a obtenção do extrato hidroalcoólico na concentração de 250mg/ml. O extrato líquido obtido foi acondicionado em recipiente de vidro fechado, mantido em refrigerador a 10°C, até a sua utilização.

FIGURA 3 – FASES DE PREPARAÇÃO DO EXTRATO



NOTA: A – Pó; B – Diluição; C – Filtração; D – Evaporação

### 3.6 COMPOSIÇÃO DO EXTRATO HIDROALCOÓLICO DE *Passiflora edulis*

O extrato hidroalcoólico de *Passiflora edulis* foi analisado pelo Departamento de Tecnologia Química no Laboratório de Controle de Qualidade de Alimentos. Apresenta a seguinte composição: proteínas, 9,98%; água, 58,63%; açúcares totais, 19,20%; lipídios, 5,24; sais minerais, 6,95. pH 5.1.

### 3.7 DESCRIÇÃO DOS GRUPOS DE ESTUDO

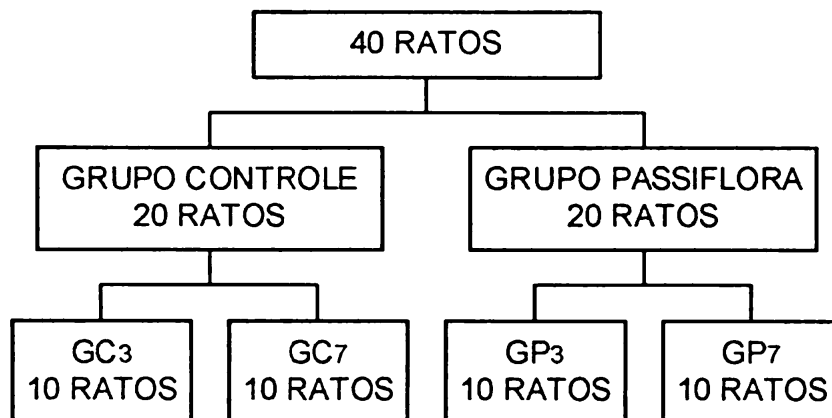
Os ratos foram distribuídos de forma aleatória em dois grupos de 20 animais cada. Os grupos foram separados em dois subgrupos de 10 animais conforme descrição a seguir:

- Grupo *Passiflora edulis* (GP) - neste grupo os ratos foram submetidos à administração do extrato hidroalcoólico de *Passiflora edulis* no volume de

0,11 a 0,17ml na dependência do peso corpóreo, diretamente na cavidade peritoneal, logo após a realização da anastomose colônica. Posteriormente, foram redistribuídos em dois subgrupos (GP3 e GP7), de acordo com o dia da morte, no 3º e 7º dia, respectivamente, conforme demonstrado no gráfico 1;

- Grupo Controle (GC) - neste grupo, os ratos foram submetidos à administração isovolumétrica de solução salina a 0,9%, diretamente na cavidade peritoneal, após realização da anastomose colônica, conforme volume administrado no grupo *Passiflora edulis* (GP). Posteriormente foram redistribuídos em dois subgrupos (GC3 e GC7), de acordo com o dia da morte, no 3º e 7º dia, respectivamente, conforme demonstrado no gráfico 1.

GRÁFICO 1 – DISTRIBUIÇÃO DOS ANIMAIS CONFORME A FORMAÇÃO DOS GRUPOS E SUBGRUPOS



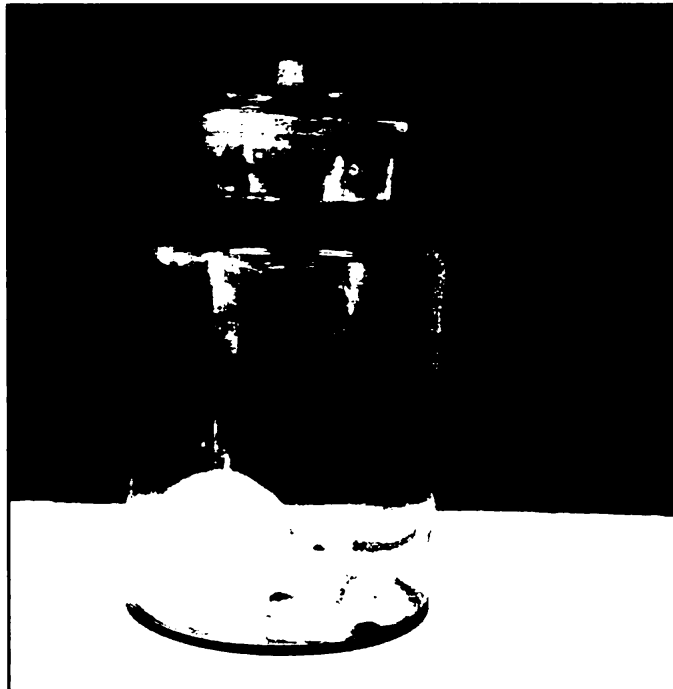
### 3.8 PRÉ-OPERATÓRIO

Doze horas antes do ato operatório, foi retirada a ração dos animais. Permaneceu livre o acesso a água.

### 3.9 ANESTESIA

O rato foi colocado sob campânula de vidro contendo algodão hidrófilo umedecido em éter dietílico, método proposto por WHITE, JOHNSON e EGER (1974). Aguardou-se que o animal ficasse sem movimentos da cabeça, extremidades e desaparecimento dos reflexos palpebrais. Foi retirado da campânula e pesado em balança eletrônica digital (MART, modelo A-500, Balanças e Aparelhos de Precisão, São Paulo-SP). Em seguida, posicionou-se o rato sobre prancha cirúrgica de madeira (20cm x 30cm) em decúbito dorsal, fixado pelos membros torácicos e pélvicos com tensores elásticos. A manutenção da anestesia foi realizada com inalação intermitente do éter dietílico mediante vaporização artesanal (BRITO, BRITO, ALMEIDA, SANTOS, 1995).

FIGURA 4 – INDUÇÃO ANESTÉSICA

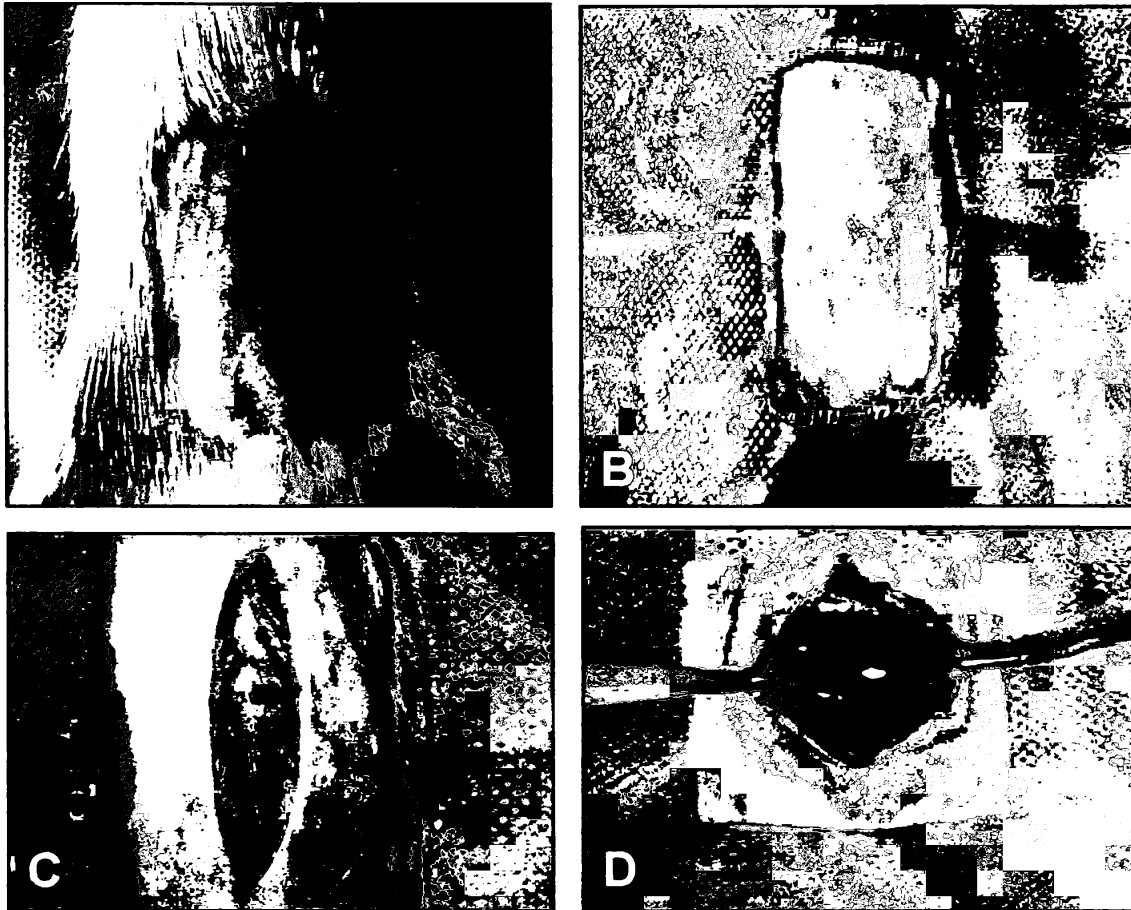


### 3.10 ATO OPERATÓRIO

Após anestesia, realizou-se epilação da região ventral do abdome, seguida de anti-sepsia com solução de PVPI (polivinil-pirrolidona-iodo – Laboriodine®, Ribeirão Preto-SP-Brasil), e colocação do campo cirúrgico delimitando a região a ser operada. Não foi realizado preparo do cólon e não foram utilizados antibióticos.

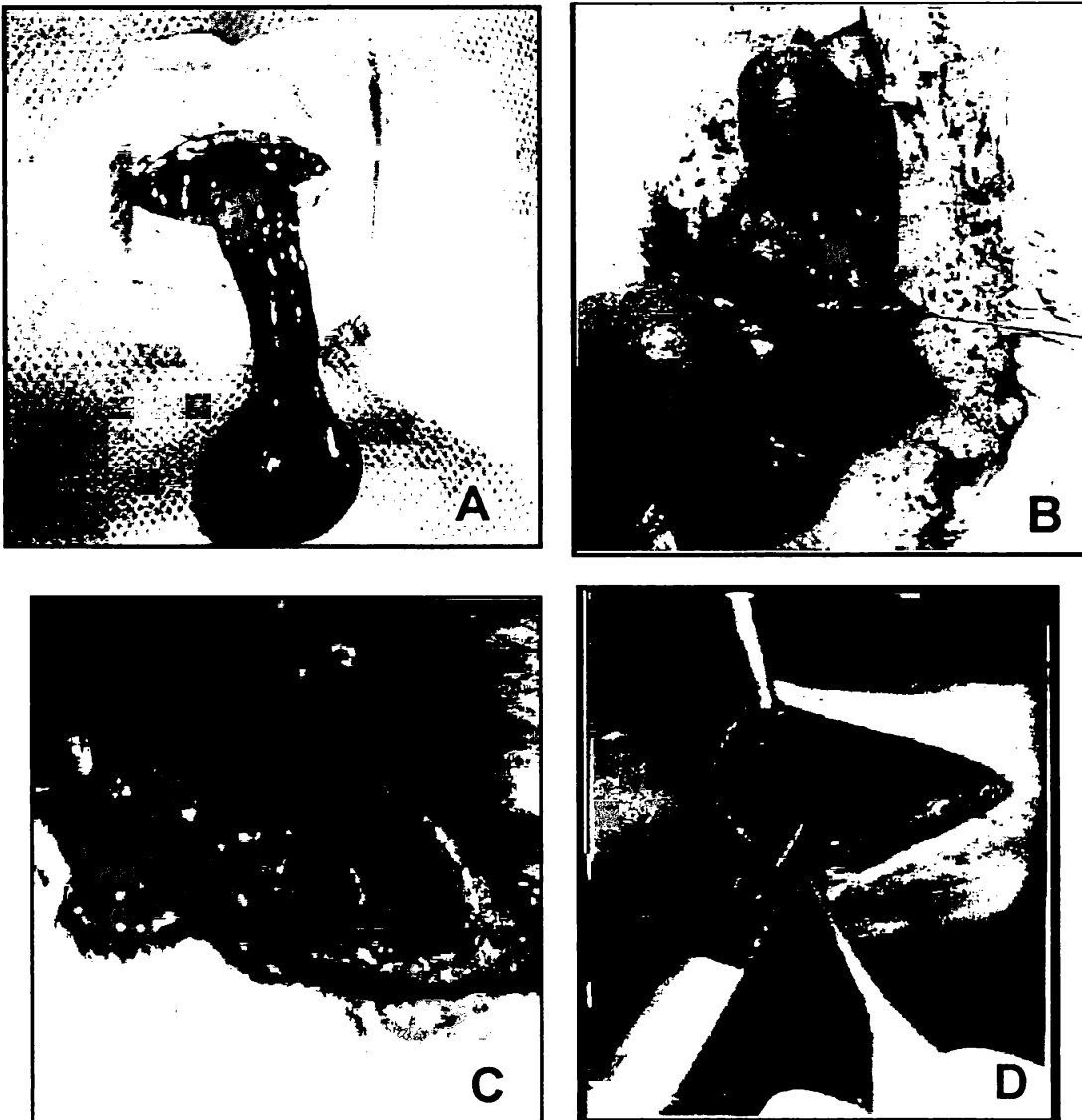
Realizou-se incisão mediana 2cm abaixo do processus xifoideu, com extensão de 4cm, com bisturi lâmina nº 15, com interesse da pele e tecido celular subcutâneo, plano músculo-apaneurótico e peritônio da parede ventral do abdome, na linha alba. Após identificação do ceco e cólon, foi realizada secção transversal total do cólon a 5cm da reflexão peritoneal, com bisturi lâmina nº 15. A arcada marginal foi identificada e preservada. Realizou-se, de imediato, anastomose das bordas em plano único com inversão da mucosa, com fio monofilamentar de Polipropileno 6-0 com agulha cilíndrica atraumática 3/8 circ. cilind. 1,3cm (Prolene® Ethicon, New Jersey - EUA), com oito pontos, nós voltados para fora da luz intestinal, com justaposição das bordas do cólon. Após a anastomose, nos ratos do grupo *Passiflora edulis* (GP), procedeu-se à administração do extrato hidroalcoólico de *Passiflora edulis* em dose única na cavidade peritoneal de 250mg/kg, cuja concentração foi 250mg/ml. Procedeu-se, no grupo Controle (GC), após a anastomose do cólon, administração intraperitoneal de solução salina a 0,9% em quantidade isovolumétrica ao extrato hidroalcoólico de *Passiflora edulis*. A síntese da parede abdominal foi realizada em dois planos com fio monofilamentar de nylon 5-0 (Mononylon® Ethicon, New Jersey - EUA) em sutura contínua. Os ratos foram identificados com ácido pícrico: cabeça, cabeça-dorso, dorso, cauda e sem marca.

FIGURA 5 – ATO OPERATÓRIO



NOTA: A – EPILAÇÃO; B – CAMPO CIRÚRGICO; C – INCISÃO DA PAREDE;  
D – ABERTURA DA CAVIDADE PERITONEAL

FIGURA 6 – FASES DO PROCEDIMENTO



NOTA: A – ABERTURA DO CÓLON; B – ANASTOMOSE; C – ASPECTO FINAL DA ANASTOMOSE; D – APLICAÇÃO DO EXTRATO

### 3.11 PÓS-OPERATÓRIO

Após a cirurgia, cada animal foi acondicionado em gaiola individual até a sua total recuperação anestésica. Em seguida, os animais foram acondicionados em gaiolas, contendo 5 ratos cada e identificados conforme o grupo, período de aferição e o dia do ato operatório. Tiveram livre acesso a água e ração logo após a recuperação anestésica.

Os animais foram examinados e pesados diariamente, com registro em ficha protocolo (APÊNDICE 1). Verificava-se sua disposição para alimentação, atividade motora e complicações da ferida operatória.

### 3.12 MORTE DOS ANIMAIS

Metade dos animais de cada grupo foi morta no 3º dia do pós-operatório e a outra metade no 7º dia do pós-operatório. A morte foi induzida com dose letal de éter sulfúrico inalatório. Em seguida, realizou-se laparotomia para-mediana direita paralela à incisão mediana, com acesso à cavidade abdominal. Na seqüência, procedeu-se à retirada de segmento de 4cm de comprimento do cólon, contendo a anastomose na porção média. As estruturas aderidas à anastomose do cólon foram retiradas em monoblocos. A peça foi lavada em água corrente. Observou-se o aspecto da anastomose pela face externa: presença de deiscências, fístulas e aderências, as quais foram classificadas conforme método de classificação de índice de KNIGHTLY para aderências intra-abdominais, proposto por KNIGHTLY, AGOSTINO e CLIFFTON, em 1962, conforme demonstrado no quadro 1.

QUADRO 1 – ÍNDICE DE ADERÊNCIA INTRA-ABDOMINAL PROPOSTO POR KNIGHTLY

GRAU	Característica
0	Ausência de aderências.
1	Aderência única, fina e facilmente destacável.
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.

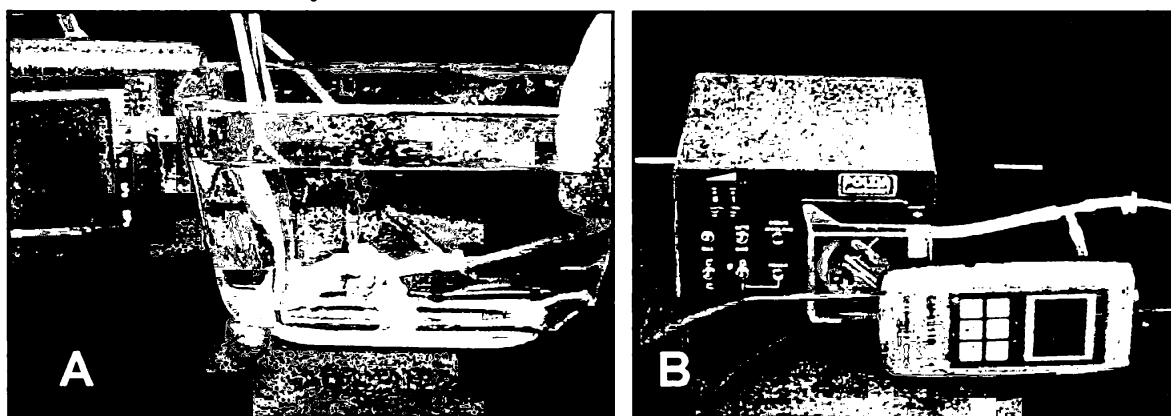
### 3.13 AVALIAÇÃO DA PRESSÃO DE RUPTURA POR INSUFLAÇÃO DE AR

A avaliação da pressão de ruptura por insuflação de ar foi realizada segundo a metodologia proposta por WARDE, e obedeceu às seguintes etapas (WARDE, 1972):

- a) preparo da peça cirúrgica, mantendo-se as estruturas aderidas a ela;
- b) oclusão de uma das extremidades do cólon mediante ligadura com fio de algodão 2-0 (Polycot®, Ethicon, New Jersey - EUA). Introdução de sonda de silicone (Nelaton®) nº 6 na outra extremidade do cólon e ligadura do cólon sobre a sonda com fio de algodão 2-0 (Polycot®, Ethicon, New Jersey - EUA), a qual foi conectada à bomba de infusão que permitia a insuflação de ar na velocidade de 1mmHg/segundo, conectada a manômetro eletrônico (Polzin®, Waston Marlow, Alemanha), que media a pressão do ar insuflado em mmHg.

A peça foi colocada em submersão em recipiente (cuba de vidro) contendo água. Em seguida, procedeu-se à insuflação gradativa de ar até ocorrer borbulhamento na água, evidenciando a ruptura da peça. Registrou-se a pressão em mmHg, aferida no momento da ruptura.

FIGURA 7 – AVALIAÇÃO TENSIOMÉTRICA DA ANASTOMOSE



NOTA: A – MOMENTO DA RUPTURA; B – REGISTRO DA PRESSÃO DE RUPTURA

### 3.14 ESPÉCIMES CIRÚRGICOS

Os espécimes cirúrgicos do segmento colônico, envolvendo a anastomose, foram abertos longitudinalmente na borda antimesentérica. Foram lavados com solução salina para retirada do resíduo fecal, fixados em formol a 10% e encaminhados ao Serviço de Patologia do Hospital Universitário Presidente Dutra, da Universidade Federal do Maranhão (UFMA), para processamento histológico.

### 3.15 PROCESSAMENTO HISTOLÓGICO

As peças foram desidratadas em álcool etílico em concentrações progressivas de 70 a 100%; diafinizadas pelo xilol e impregnadas por parafina liquefeita em estufa à temperatura de 58°C. Depois foram incluídas em blocos de parafina e orientadas de forma que, nos cortes histológicos, se observassem a extensão e a espessura da anastomose. Foram realizados 3 cortes histológicos de 4µm de espessura, com aparelho "820" Micrótome (marca Spencer). As lâminas foram coradas pela técnica de rotina da hematoxilina-eosina (HE), para a avaliação global dos cortes de tecido, e pelo Tricrômio de Masson (TM), para demonstrar a presença de fibras colágenas existentes nos locais de fibrose do interstício. As peças foram examinadas através de microscópio óptico (Olympus®, modelo CH-30, New York - EUA), com três objetivas: 4x; 10x, e 40x, ocular de 10 vezes.

### 3.16 AVALIAÇÃO MICROSCÓPICA

A análise dos cortes histológicos foi realizada pelo mesmo patologista, sem o conhecimento prévio da identificação dos grupos. Avaliaram-se, na área da anastomose, os parâmetros corados pela técnica da hematoxilina-eosina (HE). Os dados obtidos dos parâmetros foram classificados em ausentes, discretos, moderados e acentuados, de acordo com a intensidade em que foram encontrados e transformados em variáveis quantitativas mediante atribuição de índice para o achado histológico. A presença de congestão, edema e polimorfonucleares foi indicativo de processo inflamatório agudo (fase inicial). A presença de monomorfonucleares, angiogênese (tecidos de granulação) e proliferação fibroblástica (fibrose); foram achados determinantes do processo inflamatório crônico. Aos índices do processo inflamatório agudo, foram atribuídos sinais negativos (-) e aos índices do processo inflamatório crônico, foram atribuídos sinais positivos (+). Quando ausente, o valor considerado foi zero (0), conforme demonstrado na tabela 1.

TABELA 1 – CLASSIFICAÇÃO E ATRIBUIÇÃO DE ÍNDICES DOS ACHADOS HISTOLÓGICOS DE HE (HEMATOXILINA-EOSINA)

Achados HE	Intensidade dos achados			
	Ausente	Discreto	Moderado	Acentuado
Congestão	0	-1	-2	-3
Edema	0	-1	-2	-3
PMN	0	-1	-2	-3
Mononuclear	0	1	2	3
Prol.fibroblástica	0	1	2	3
Angiogênese	0	1	2	3

Avaliou-se na área da anastomose a presença de colagenização corada pela técnica do Tricrômio de Masson. A presença foi graduada em discreta, moderada e acentuada, sendo atribuído valores positivos +1, +2 e +3. Quando ausente, o valor considerado foi zero.

Após análise microscópica dos seis fatores e a somatória dos valores correspondentes à coloração pela técnica da hematoxilina-eosina (HE), classificaram-se as reações inflamatórias de acordo com a fase de cicatrização, conforme demonstrado na tabela 2 proposta por SOARES, CAMPOS, MATIAS, COELHO, MALAFAIA (2000).

TABELA 2 – CLASSIFICAÇÃO DA FASE DE CICATRIZAÇÃO CONFORME ANÁLISE DO ÍNDICE HISTOLÓGICO OBTIDO

Índice final de classificação	Fase da classificação
-9 a -3	Aguda (A)
-2,9 a + 2,9	Subaguda (B)
+3 a + 9	Crônica (C)

**Processo inflamatório** foi considerado ausente, quando não se evidenciavam células inflamatórias; discreto, quando as células inflamatórias foram evidenciadas de forma isoladas, possibilitando visibilizar áreas livres de infiltrado; moderado, quando as células inflamatórias apareciam com maior frequência, constituindo agregados densos, mas possibilitando visibilizar áreas livres de infiltrado; e acentuado, quando as células inflamatórias foram evidenciadas com grande frequência, constituindo agregados densos e justapostos, sem áreas livres de infiltrados.

**Proliferação fibroblástica** foi classificada em ausente, quando não se evidenciava proliferação de fibroblasto; discreta, quando havia esparsos fibroblastos proliferados em meio a tecidos conjuntivo frouxo; moderada, quando havia moderada quantidade de fibroblastos proliferados, constituindo pequenos feixes celulares multidirecionalmente; e intensa, quando havia grande quantidade de fibroblastos proliferados constituindo agregados compactos de células arranjadas multidirecionalmente.

**Colagenização** classificou-se como ausente, quando não havia fibras colágenas depositadas; discreta, quando a deposição de fibras colágenas era em pequena quantidade, caracterizadas por fibras depositadas em meio aos fibroblastos proliferados; moderada, quando a deposição de colágeno formava feixes de fibras eosinofílicas espessas, intercaladas com áreas de tecidos conjuntivo frouxo e fibroblastos proliferados; e intensa, quando havia grande deposição de fibras colágenas, constituindo feixes de fibras eosinofílicas espessas, compactamente arranjadas em meio a fibroblastos proliferados e em áreas de tecidos conjuntivo frouxo.

Os dados coletados foram registrados em fichas individuais para cada animal, conforme protocolo dos apêndices 1 e 2.

### 3.14 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os dados obtidos da variável quantitativa foram expressos como média e desvio padrão. Foram analisados, utilizando-se programa Statistica for Windows 5.1. A pressão de ruptura por insuflação de ar foi analisada pelo teste t de *Student*. A avaliação das variáveis microscópicas e macroscópicas foi analisada pelo teste não-paramétrico de Mann Whitney. Para avaliar as proporções das reações inflamatórias, utilizou-se o teste  $\chi^2$ . O nível de significância ( $\alpha$ ) utilizado para se rejeitar a hipótese da nulidade foi de 5% ( $p < 0,05$ ).



## 4 RESULTADOS

### 4.1 AVALIAÇÃO MACROSCÓPICA

Todos os animais recuperaram-se bem da anestesia, durante a evolução pós-operatória. Não houve mortalidade, não se observaram complicações de ferida operatória como hematoma, seroma, abscesso, evisceração ou eventração.

Não houve diferença significativa de aderência ( $p>0,05$ ) na análise intergrupo entre os subgrupos controle e *Passiflora edulis* no 3º e 7º dia. Entretanto, na análise intragrupo dos subgrupos P3 e P7, houve diferença significativa ( $p=0,028$ ), conforme demonstrado na tabela 3.

TABELA 3 – COMPARAÇÃO DAS MEDIANAS DOS GRAUS DE ADERÊNCIA ENTRE OS SUBGRUPOS C3, C7 E P3, P7

ADERÊNCIA	GC M	GP M	p
3 DIAS	1,5	1,0	0.212
7 DIAS	2,0	2,0	0.326
p	0,473	0,028	

\*Mann Whitney –  $p=NS$

GC – grupo controle

GP – grupo *Passiflora*

### 4.2 AVALIAÇÃO TENSIOMÉTRICA

Na avaliação tensiométrica intergrupo, verificou-se maior média de pressão de ruptura por insuflação de ar no subgrupo P3 ( $42,6\pm 17,8\text{mmHg}$ ) em comparação ao subgrupo C3 ( $25,4\pm 14,1\text{mmHg}$ ), apresentando diferença estatística significativa ( $p=0,028$ ). A avaliação tensiométrica do subgrupo P7 apresentou pressão de ruptura de  $203\pm 50,0\text{mmHg}$ , enquanto o subgrupo C7 apresentou pressão de ruptura ( $187,3\pm 39,5\text{mmHg}$ ), não havendo diferença significativa ( $p=0,447$ ). Na avaliação intragrupo verificou-se maior pressão de ruptura no 7º dia nos subgrupos controle e *Passiflora* quando comparado com os mesmos subgrupos no 3º dia havendo diferença significativa onde  $p=0,000$ , conforme demonstrado na tabela 4.

TABELA 4 – COMPARAÇÃO DAS MÉDIAS DE PRESSÃO DE RUPTURA ENTRE OS SUBGRUPOS C3, C7 E P3, P7

	GC (M±DP)	GP (M±DP)	p
3 Dias	25,4 ± 14,1	42,6 ± 17,8	0,028
7 Dias	187,3 ± 39,5	203,0 ± 50,08	0,447
P	0,000	0,000	

GC – grupo controle  
GP – grupo Passiflora

GRÁFICO 2 – INTERGRUPO - MÉDIAS E DESVIO PADRÃO DA PRESSÃO DE RUPTURA DOS SUBGRUPOS C3, P3 E C7, P7

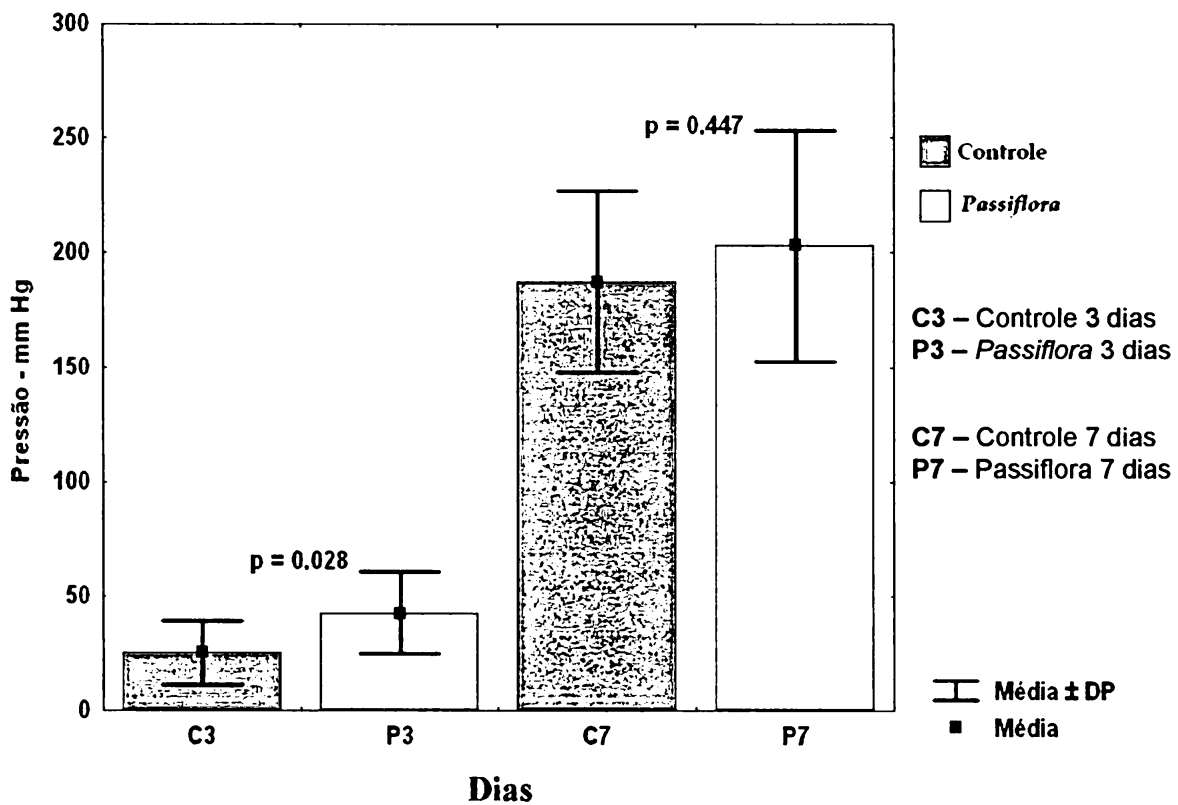
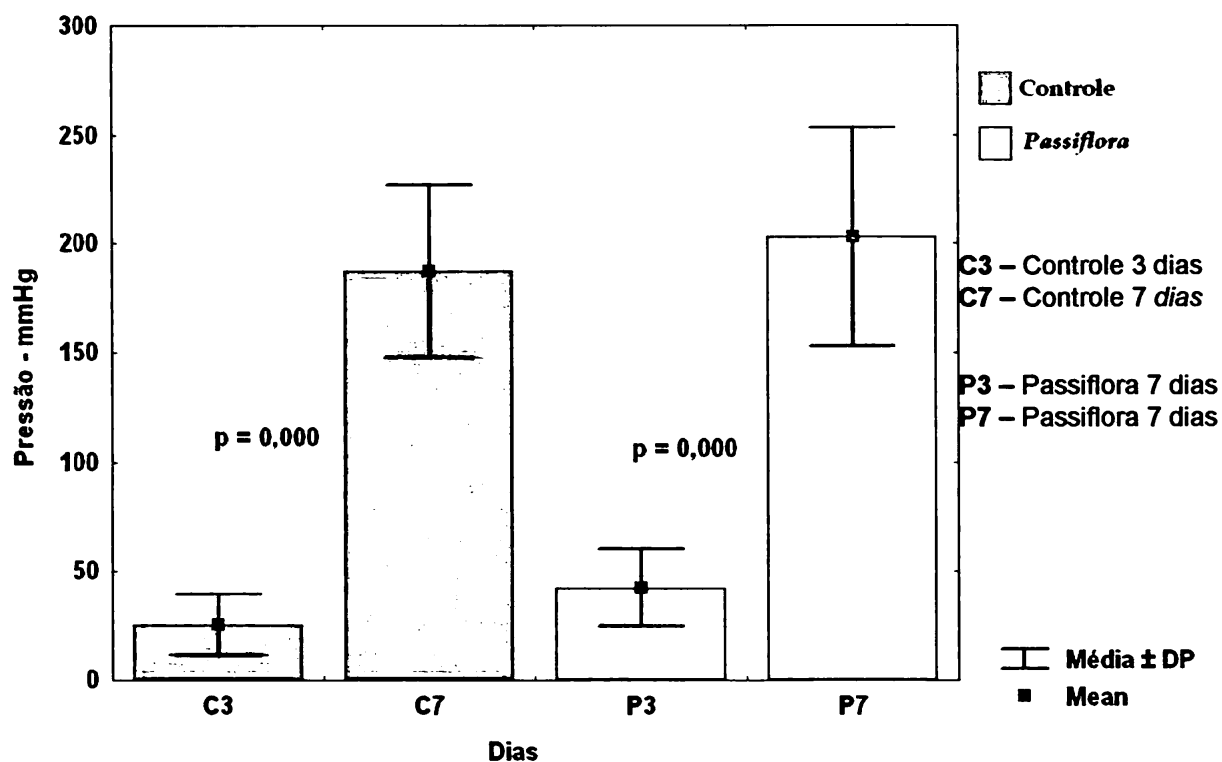


GRÁFICO 3 – INTRAGRUPPO - MÉDIAS E DESVIO PADRÃO DA PRESSÃO DE RUPTURA DOS SUBGRUPOS C3, C7 E P3, P7



#### 4.3 AVALIAÇÃO MICROSCÓPICA

A avaliação da inflamação aguda no 3º dia apresentou os PMN mais freqüentes no subgrupo P3, quando comparado ao subgrupo C3 com diferença significativa entre os subgrupos ( $p=0,034$ ). Não houve diferença significativa nas demais variáveis microscópicas da fase aguda entre os subgrupos controle e Passiflora no 3º dia, onde ( $p=0,131$ ) para congestão; ( $p=0,364$ ) para edema; ( $p=0,450$ ) para angiogênese; ( $p=1$ ) para colagenização, conforme demonstrado na tabela 9. Os MMN e proliferação fibroblástica foram mais freqüentes no subgrupo P3 que no subgrupo C3, com diferença significativa ( $p=0,002$ ) para primeira variável e ( $p=0,001$ ) para segunda variável, conforme demonstrado na tabela 5.

TABELA 5 – ANÁLISE INTERGRUPO DAS MÉDIAS DAS VARIÁVEIS MICROSCÓPICAS DOS SUBGRUPOS C3 E P3

VARIÁVEIS	(C3)	(P3)	P
CONGESTÃO	-1,5	-1,0	0,131
EDEMA	-2,0	-1,0	0,364
PMN	-2,0	-3,0	0,034
MMN	0,0	1,0	0,001
P.FIBROBLÁSTICA	0,0	1,0	0,001
ANGIOGÊNESE	0,0	0,0	1
COLAGENIZAÇÃO	0,0	0,0	1

Mann Whitney; Teste U

p = nível de significância estatística.

FIGURA 8 – EXEMPLO DE FOTOMICROGRAFIA DE CONGESTÃO VASCULAR E EDEMA, ANIMAL CONTROLE 3 DIAS. HE, 400 X

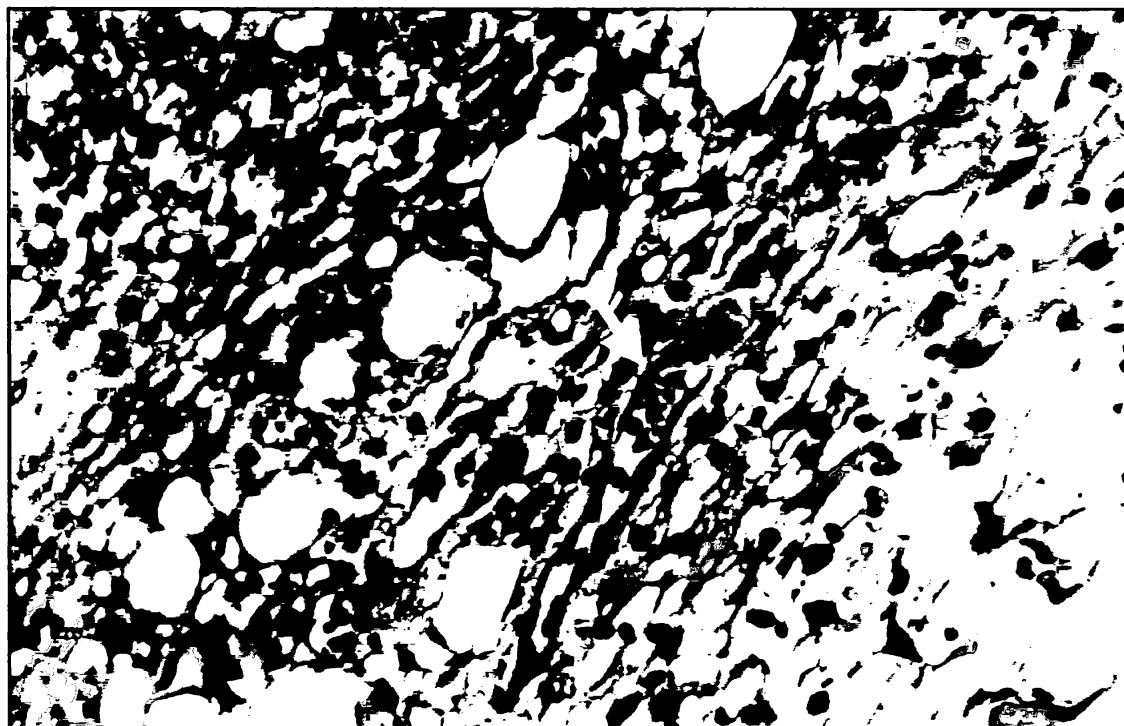
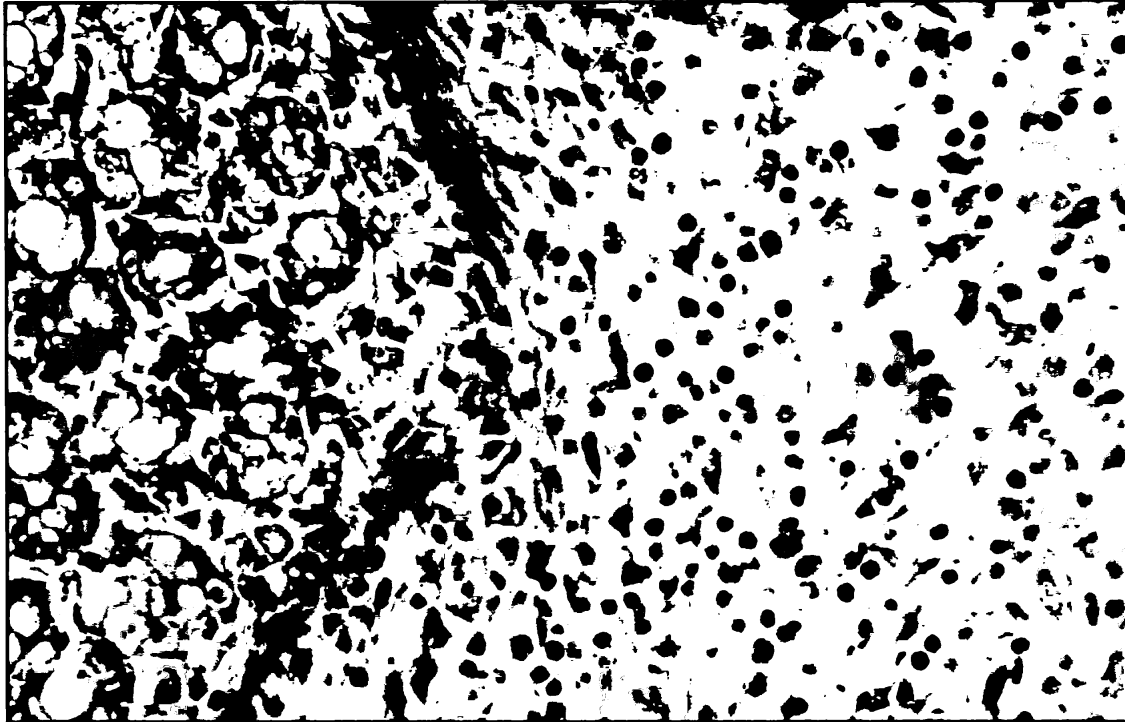


FIGURA 9 – EXEMPLO DE FOTOMICROGRAFIA DE EDEMA E INFILTRADO LEUCOCITÁRIO MODERADO, ANIMAL *Passiflora* 3 DIAS. HE 400x



A avaliação da inflamação crônica no 7º dia apresentou maior mediana em todas as variáveis microscópicas da fase aguda no subgrupo C7, quando comparado com o subgrupo P7, havendo diferença significativa ( $p < 0,05$ ). As variáveis microscópicas da fase crônica apresentaram medianas maiores no subgrupo P7, quando comparadas ao subgrupo C7, com diferença significativa ( $p < 0,05$ ), conforme demonstrado na tabela 6.

TABELA 6 – ANÁLISE INTERGRUPO DAS MEDIANAS DAS VARIÁVEIS MICROSCÓPICAS DOS SUBGRUPOS C7 E P7

VARIÁVEIS	(C7)	(P7)	p
CONGESTÃO	-1,0	0,0	0,001
EDEMA	-2,0	0,0	0,000
PMN	-2,0	-1,0	0,008
MMN	1,0	3,0	0,001
P.FIBROBLÁSTICA	0,5	3,0	0,001
ANGIOGÊNESE	0,0	1,0	0,017
COLAGENIZAÇÃO	0,0	1,0	0,002

Mann Whitney; Teste U

p = nível de significância estatística

FIGURA 10 – EXEMPLO DE FOTOMICROGRAFIA DE EDEMA E INFILTRADO INFLAMATÓRIO DE GRAU MODERADO, ANIMAL CONTROLE 7 DIAS. HE, 400x

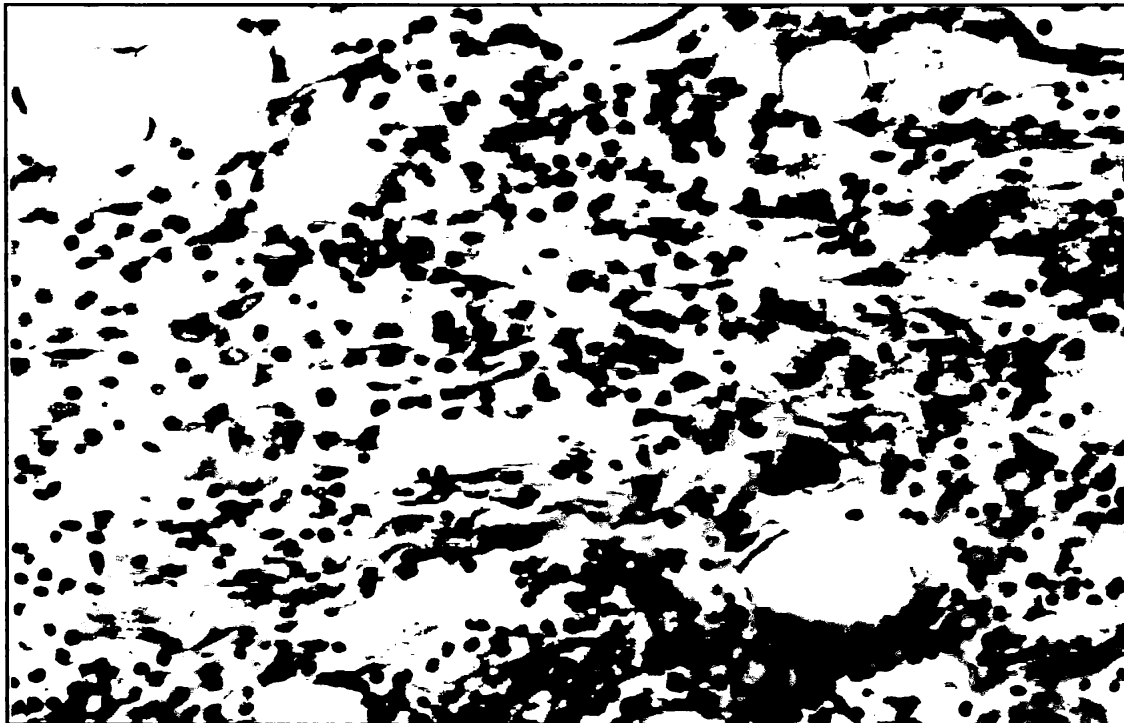


FIGURA 11 – EXEMPLO DE FOTOMICROGRAFIA DE FIBROGÊNESE ACENTUADA, ANIMAL *Passiflora* 7 DIAS. H. E, 400x

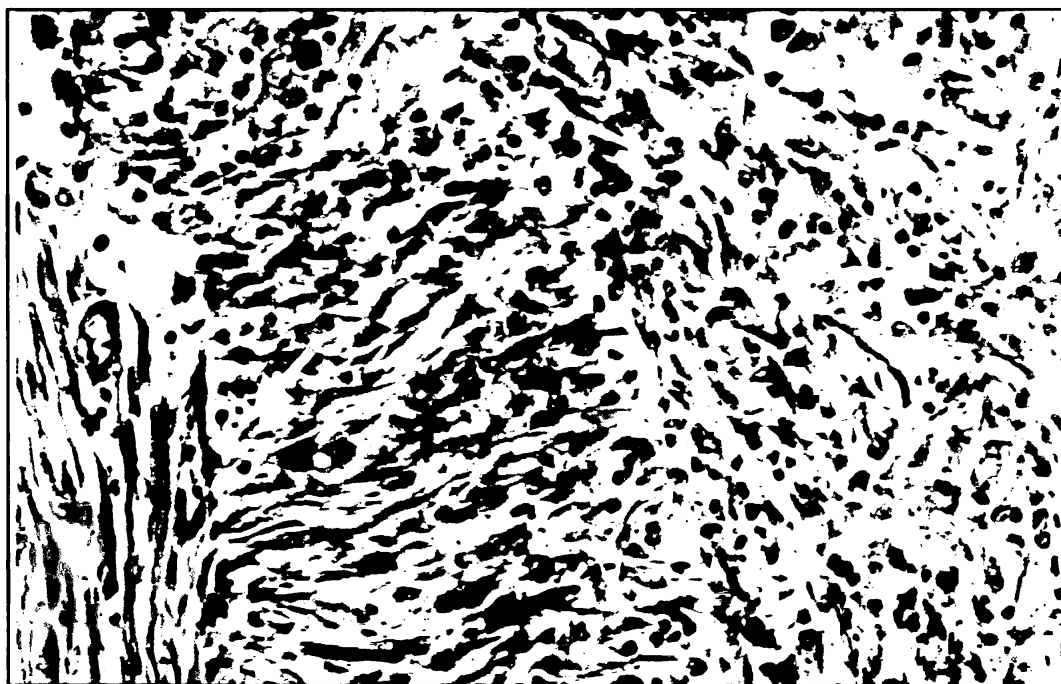


FIGURA 12 – EXEMPLO DE FOTOMICROGRAFIA DE CONGESTÃO VASCULAR, EDEMA MODERADO E FIBROGÊNESE DISCRETA, ANIMAL CONTROLE 7 DIAS. TRICRÔMIO DE MASSON, 400x

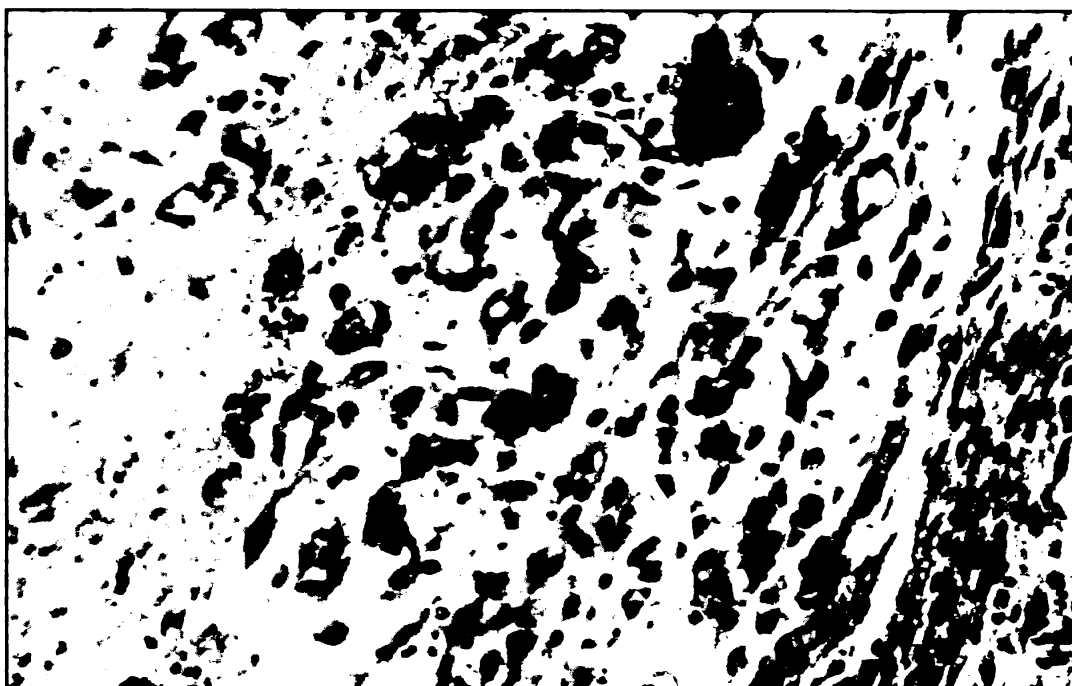
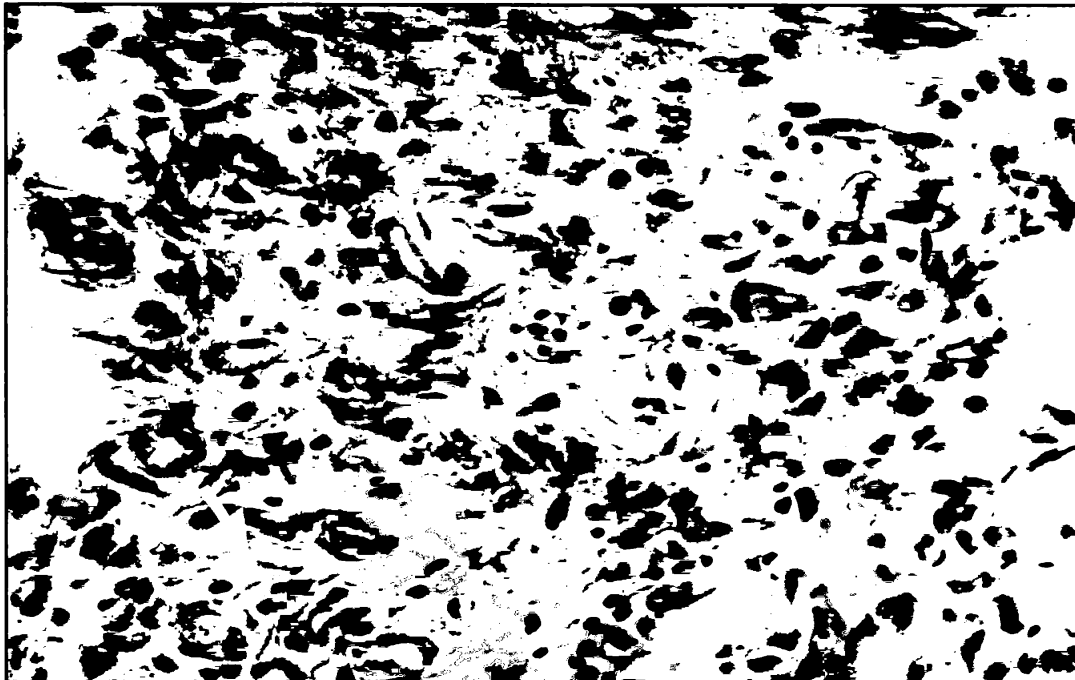


FIGURA 13 – EXEMPLO DE FOTOMICROGRAFIA DE FIBROGÊNESE E COLAGENIZAÇÃO ACENTUADA, ANIMAL *Passiflora* 7 DIAS. TRICRÔMIO DE MASSON, 400x



FIGURA 14 – EXEMPLO DE FOTOMICROGRAFIA DE FIBROGÊNESE, ANGIOGÊNESE E COLAGENIZAÇÃO. ANIMAL *Passiflora* 7 DIAS. TRICRÔMIO DE MASSON, 400x



A análise intragrupo das variáveis microscópicas dos subgrupos C3 e C7 não apresentou diferença estatística significativa, exceto a variável congestão ( $p < 0,05$ ), conforme demonstrado na tabela 7.

A análise intragrupo das variáveis microscópicas dos subgrupos C3 e C7 apresentou diferença significativa para as variáveis congestão e MMN ( $p < 0,05$ ). As demais variáveis não apresentaram diferença significativa ( $p > 0,05$ ), conforme demonstrado na tabela 7.

TABELA 7 – ANÁLISE INTRAGRUPPO DAS MEDIANAS DAS VARIÁVEIS MICROSCÓPICAS DOS SUBGRUPOS C3 E C7

VARIÁVEIS	(C3)	(C7)	p
CONGESTÃO	-1,5	-1,0	0,038
EDEMA	-2,0	-2,0	1
PMN	-2,0	-2,0	1
MMN	0,0	1,0	0,002
P.FIBROBLÁSTICA	0,0	0,5	0,059
ANGIOGÊNESE	0,0	0,0	1
COLAGENIZAÇÃO	0,0	0,0	1

Mann Whitney; Teste U

p = nível de significância estatística

A análise intragrupo das variáveis microscópicas dos subgrupos P3 e P7 apresentou diferença significativa em todas variáveis ( $p < 0,05$ ). Observa-se que as variáveis microscópicas, que caracterizam a fase aguda, são mais frequentes no subgrupo P3, enquanto as variáveis microscópicas que caracterizam a fase crônica são mais frequentes no subgrupo P7, conforme demonstrado na tabela 8.

TABELA 8 – ANÁLISE INTRAGRUPO DAS MEDIANAS DAS VARIÁVEIS MICROSCÓPICAS DOS SUBGRUPOS P3 E P7

VARIÁVEIS	(P3)	(P7)	p
CONGESTÃO	-1,0	0,0	0,000
EDEMA	-1,0	0,0	0,000
PMN	3,0	-1,0	0,000
MMN	1,0	3,0	0,000
P.FIBROBLÁSTICA	1,0	3,0	0,000
ANGIOGÊNESE	0,0	1,0	0,002
COLAGENIZAÇÃO	0,0	1,0	0,000

Mann Whitney; Teste U

p = nível de significância estatística.

Foram avaliados os percentuais das reações inflamatórias agudas, subagudas e crônicas entre os subgrupos (C3 e P3) e (C7 e P7). Foram analisados estatisticamente pelo teste  $\chi^2$  para avaliar as proporções das reações inflamatórias que demonstrou diferença significativa ( $p=0,000$ ), conforme demonstrado na tabela 9 e tabela 10.

TABELA 9 – PERCENTUAL DAS REAÇÕES INFLAMATÓRIAS DOS SUBGRUPOS C3 E P3

Reação Inflamatória	C3 (%)	P3 (%)
Aguda	100	70
Subaguda	0	30
Crônica	0	0

Teste  $\chi^2$  (2x2)=35,29 p=0,000

TABELA 10 – PERCENTUAL DAS REAÇÕES INFLAMATÓRIAS DOS SUBGRUPOS C7 E P7

Reação Inflamatória	C7 (%)	P7 (%)
Aguda	60	0
Subaguda	30	0
Crônica	10	100

Teste  $\chi^2$  (2x3)=163,63 p=0,000



## 5 DISCUSSÃO

### 5.1 DO MODELO ANIMAL

Utilizou-se o rato como animal de experimentação por este ser um dos animais mais utilizados em cirurgia experimental, ser de fácil aquisição e manuseio para anestesia e técnica operatória (VILARIÑO, 1992).

O período de aclimatação de 7 dias, em condições ambiente, foi respeitado, para que os animais se acostumassem ao ambiente de experimentação e à ração. Serviu, também, como período de observação, para verificar se os animais estavam aparentemente saudáveis, pois no caso de incubação de alguma doença, ela poderia aparecer, e o animal seria eliminado para não interferir no resultado do experimento.

O jejum de 12 horas, com livre acesso à água até o ato operatório, é medida rotineira nesse tipo de estudo. Não foram utilizados antibióticos, preparo de cólon, campos e instrumental cirúrgico esterilizado, à semelhança de outros autores. Isto pode ser feito, visto ser o rato animal que resiste satisfatoriamente à contaminação cirúrgica (VILARINO, 1992).

Utilizou-se anestesia inalatória com éter dietílico, conforme métodos propostos por WHITE, JOHNSON e EGER (1974) e BRITO, BRITO, ALMEIDA e SANTOS (1998). Não foram observadas complicações associadas à anestesia.

Escolheram-se os períodos da morte no 3º e 7º dia de pós-operatório, para que se pudesse estudar a cicatrização colônica nas suas fases críticas; nessa fase o processo inflamatório é principalmente agudo e a taxa global de degradação do colágeno é maior que a taxa da síntese no período do 3º ao 5º dia do pós-operatório. O 7º dia do pós-operatório foi escolhido, por ser nesse período que ocorre a maioria das deiscências (VILARIÑO, 1992).

### 5.2 *Passiflora edulis*

Substâncias de origem vegetal são pesquisadas com fins terapêuticos, procurando-se isolar, extrair ou purificar novos extratos. O maracujá, pertencente à família Passifloracea, tem a espécie *Passiflora edulis*, mais freqüente e encontrada

em todo o Brasil. É popularmente usada como sedativo, analgésico e antiinflamatório. As soluções e cataplasmas produzidas a partir das folhas da *Passiflora edulis* são utilizadas popularmente para tratamento de infecções cutâneas, feridas e erisipelas.

O extrato foi produzido a partir das folhas da *Passiflora edulis*, que foram submetidas ao processo de secagem e moagem para obtenção do pó, que foi diluído com solução hidroalcoólica a 70%. A mistura foi filtrada e concentrada em evaporador rotativo para obtenção da pasta, sendo a mesma diluída em água destilada para obtenção extrato hidroalcoólico.

O princípio ativo do extrato pode ser encontrado nas diversas substâncias químicas da *Passiflora edulis* que incluem os alcalóides, flavonóides e carotenóides, conforme trabalho de LUTOMSKI, MALEK e RIBACKA (1975). O princípio ativo também foi encontrado no caule do vegetal conforme trabalho realizado por NICOLLS, BIRNER e FORSELL (1972), mediante substância encontrada nos tecidos do caule do gênero *Passiflora* (passicol), que tem ação antifúngica e antibacteriana. Trabalhos deverão ser realizados para pesquisar, identificar, extrair e purificar as substâncias químicas encontradas nas folhas, no caule ou nos frutos com melhora no processo de obtenção do princípio ativo.

Sabendo-se da atividade antiinflamatória da *Passiflora edulis*, procurou-se verificar o efeito dessa atividade no processo de cicatrização da anastomose colônica em ratos, uma vez que as anastomoses do intestino grosso apresentam maiores taxas de complicações, quando comparadas com as suturas do intestino delgado e estômago, apesar dos avanços de sutura intestinal, anestesia, antibióticos e fios de sutura (HENDRIKS; MASTBOOM, 1990).

A atividade analgésica e antiinflamatória do extrato da *Passiflora edulis* foi constatada por SILVA, NUNES, FREIRE (2001), cujo estudo demonstra ação semelhante à indometacina, que é medicamento antiinflamatório não esteróide, cujo mecanismo de ação, é inibir a síntese de prostanóides (INSEL, 1996).

Neste trabalho, utilizou-se a administração do extrato hidroalcoólico da *Passiflora edulis* por via intraperitoneal porque produz o efeito mais rápido e expressivo, dada a maior rapidez de absorção das substâncias presentes no extrato, conforme relato de BENET, KROETZ e SHEINER (1996).

### 5.3 AVALIAÇÃO MACROSCÓPICA

A evolução dos 40 animais evidenciou que todos se recuperaram bem da anestesia e do ato operatório. Não se observaram complicações da parede abdominal como hematoma, seroma, abscesso, evisceração ou eventração nos dois grupos de ratos.

Não se observaram complicações, como fístulas ou abscessos intra-abdominais em nenhum dos grupos. Estes achados se assemelham aos relatos de VILARIÑO (1992). Foram observadas aderências em ambos os grupos, sendo o índice de adesão mais freqüente grau 2, sem diferença significativa entre os grupos. KUZU, KOSKOY, KALE, DEMIRPRENCE e RENDA (1998) utilizaram o índice de aderência proposto por KNIGHTLY, AGOSTINO e CLIFFTON (1962), avaliaram a interferência do 5-fluorouracil administrado intraperitonealmente no pós-operatório de anastomoses colônicas na formação de aderências intra-abdominais. Concluíram os autores que não houve diferença significativa na média dos índices de aderências entre o grupo experimental, o grupo salina e o grupo controle, resultado semelhante ao que foi encontrado neste estudo. Esses resultados sugerem que o extrato da *Passiflora edulis* não induz a formação de aderências intrabdominais.

### 5.4 AVALIAÇÃO DOS PARÂMETROS DE CICATRIZAÇÃO

Vários parâmetros são utilizados para análise de cicatrização. Segundo BALLANTYNE (1984), a avaliação deve ser realizada com base em três aspectos principais: teste de resistência mecânica da cicatriz, o processo histológico da cicatrização e a determinação da taxa de colágeno. Neste trabalho foi empregado o teste de resistência mecânica através da pressão de ruptura por insuflação de ar e processo histológico da cicatrização mediante a microscopia.

#### 5.4.1 Avaliação tensiométrica

A pressão de ruptura por insuflação de ar é um parâmetro mecânico eficaz para a avaliação da resistência da cicatrização das anastomoses intestinais, utilizada por WARDE (1972), o qual cita que CLUMSKY já utilizava esse parâmetro no início

do século passado.

O parâmetro da avaliação física em uma cicatriz deverá levar em consideração o tipo de força natural a que esse tecido está sujeito. Quando o objeto de análise está relacionado à víscera oca, como o tubo gastrointestinal, o teste de pressão de ruptura por insuflação de ar é fisiológico por reproduzir os vetores de pressão que normalmente se transmitem sobre a parede do intestino, aproximando-se da situação clínica real, visto que o rompimento ocorrerá em função da distensão (KORUDA e ROLANDELLI, 1990). O teste de resistência à insuflação de ar exerce pressão em toda a circunferência da parede intestinal, submetendo-se a prova de vedação. Entretanto, BALLANTYNE (1984) ressalta que essa técnica é útil nas duas primeiras semanas do pós-operatório, pois, após esse período, a resistência da anastomose à pressão excede a do tecido normal, observando-se escape gasoso distante da anastomose.

Neste estudo realizou-se a determinação da pressão de ruptura, pela resistência à insuflação de ar, mediante a técnica preconizada em nosso meio por WARDE, em 1972. Procurou-se não desfazer as aderências da peça cirúrgica, pois as manipulações indevidas na anastomose frágil, no estágio inicial, poderiam prejudicar a obtenção dos resultados mais próximos do real. É um procedimento orientado por HENDRIKS E MASTBOOM (1990).

No presente estudo observou-se baixa resistência cicatricial à pressão de ruptura por insuflação de ar no 3º dia do pós-operatório, com média de 25,4 mmHg para o subgrupo C3 e 42,6 mmHg para o subgrupo P3, com diferença significativa ( $p=0,028$ ) para o subgrupo que recebeu o *Passiflora edulis*. No 7º dia houve elevação da média de pressão de ruptura por insuflação de ar em ambos os grupos. O subgrupo C7 apresentou 187,3 mmHg e o subgrupo P7 apresentou 203 mmHg, não havendo diferença significativa entre os subgrupos ( $p=0,447$ ). A baixa pressão de ruptura está relacionada com maior colagenólise no 3º dia do pós-operatório, a qual se assemelha aos resultados encontrados por FORESMAM, EDLICH e RODHEAVER (1989).

Os resultados estatísticos demonstraram maior pressão no subgrupo P3 com diferença significativa, que pode resultar da ação antiinflamatória da *Passiflora edulis* que modelou a reação inflamatória aguda acentuada para uma reação moderada, ocorrência observada nos cortes histológicos, mediante redução do

edema e do infiltrado inflamatório, quando comparado ao subgrupo C3. Essa atividade antiinflamatória se assemelha aos resultados obtidos por SILVA, NUNES e FREIRE (2001). Portanto, a ação do extrato da *Passiflora edulis* pode associar-se a aumento da resistência à ruptura na fase aguda (3º dia) nas anastomoses colônicas em ratos. Houve presença acentuada de fibrogênese no subgrupo que recebeu *Passiflora edulis* avaliado no 7º dia, enquanto o edema e o infiltrado inflamatório predominaram no subgrupo controle avaliado no 7º dia. Entretanto, quando se comparou a pressão de ruptura entre os subgrupos, não houve diferença estatística significativa.

#### 5.4.2 Avaliação microscópica

A histologia microscópica é adotada como parâmetro para avaliação da cicatrização das anastomoses. Tem valor discutível dado ser um parâmetro subjetivo na coleta de dados. A padronização dos achados histológicos com índice de intensidade confere à histologia valor na avaliação da cicatrização. SOUSA, em 1994, e OLIVEIRA, em 1995, utilizaram o parâmetro histológico com atribuição de índices de intensidade de acordo com o achado histológico.

O infiltrado com polimorfonucleares (PMN) é o principal achado histológico que caracteriza o processo da fase aguda, enquanto os monomorfonucleares, proliferação fibroblástica e angiogênese caracterizam o processo inflamatório crônico. A quantidade de PMN na ferida tem íntima relação com a proliferação, ativação e movimentação da celularidade e produção de citocina mediadora do processo inflamatório. O grau de intensidade da reação inflamatória pode ser de fundamental importância na cicatrização.

Em 1973, MILLER ressaltou que certo grau de inflamação é necessário para a cicatrização, contudo, uma reação inflamatória intensa é prejudicial, podendo prejudicar o suprimento sanguíneo adequado pelo comprometimento da microcirculação e proliferação celular (fibroblastos).

Observou-se, no presente estudo, que o subgrupo que recebeu *Passiflora edulis* logo após a anastomose, apresentou infiltrado inflamatório mais moderado tanto na fase aguda quanto na fase crônica em relação ao subgrupo controle, com diferença significativa ( $p < 0,05$ ) na fase aguda. Esse fato sugere que a *Passiflora*

*edulis* produziu aceleração da cicatrização tanto na fase aguda quanto na fase crônica do processo de reparação tecidual.

Outro fator favorável à idéia de que a *Passiflora edulis* influencia favoravelmente a fase aguda e a fase crônica do processo inflamatório foi observado no resultado final do somatório dos achados histológicos, o qual demonstrou que o subgrupo, que recebeu *Passiflora edulis*, e avaliado no 3º dia, apresentou reação inflamatória subaguda em 30% dos animais, enquanto o subgrupo controle apresentou 100% de reação inflamatória aguda. A reação inflamatória crônica, no 7º dia, ocorreu em 100% dos animais do subgrupo *Passiflora edulis*, enquanto no subgrupo controle ocorreu somente em 10% dos animais.

A *Passiflora edulis* apresentou efeito, aumentando a intensidade do infiltrado mononuclear, da proliferação fibroblástica (fibrose) e do tecido de granulação (angiogênese), achados histológicos típicos do processo inflamatório crônico. Isto reforça a idéia de que a *Passiflora edulis* interferiu na celularidade, moderando a reação inflamatória, a qual favoreceu a aceleração da cicatrização na fase aguda e crônica das anastomoses colônicas em ratos.

## 5.5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

O extrato hidroalcoólico das folhas da *Passiflora edulis* usado intraperitoneal neste estudo apresentou atividade antiinflamatória modelando a reação inflamatória em ratos. No presente estudo, a pressão de ruptura apresentou aumento significativo no grupo que recebeu *Passiflora edulis* e foi submetido à morte no 3º dia ( $p=0,028$ ). Entretanto, não foi observado diferença significativa na pressão de ruptura no grupo que recebeu *Passiflora edulis* e foi submetido à morte no 7º dia, quando comparado ao grupo controle ( $p=0,447$ ). Vale ressaltar que, no presente trabalho, foi administrada somente uma dose intraperitoneal, fato que pode justificar a ausência de significância do aumento da pressão de ruptura no 7º dia. Fica interrogado se a administração de uma segunda dose do extrato influenciaria no nível de significância no 7º dia.

Do ponto-de-vista histológico, a *Passiflora edulis* acelerou o processo de cicatrização das anastomoses colônicas na fase aguda, mediante a redução do edema e do infiltrado infamatório. Interferiu na celularidade, aumentando a

intensidade do achados histológicos, fibrose (colagenização), tecido de granulação (angiogênese), presença de infiltrado mononuclear no 3º e 7º dia da morte em relação ao grupo controle.

A presença de diferença significativa em todas as variáveis microscópicas da análise intragrupo dos subgrupos P3 e P7 sugere que o tempo influencia na cicatrização da anastomose colônica em ratos independente do uso do extrato da *Passiflora edulis*.

Os resultados obtidos, mediante a atividade antiinflamatória, como redução do edema, sugerem que o extrato bruto das folhas da *Passiflora edulis* possuem substâncias que diminuem a migração leucocitária, fato que deverá constituir-se objeto de estudo para novas pesquisas para isolamento do princípio ativo a partir do extrato hidroalcoólico da *Passiflora edulis* que possa atuar como agente antiinflamatório e/ou cicatrizante.



## 6 CONCLUSÕES

- a) Na avaliação tensiométrica, o uso do extrato da *Passiflora edulis* associa-se a aumento significativa da resistência à ruptura na fase precoce (3º dia) em relação ao subgrupo controle. A mesma ocorrência não foi observada no 7º dia.
- b) Na avaliação morfológica macroscópica, o uso da *Passiflora edulis* não influencia a cicatrização das anastomoses colônicas em ratos. Na avaliação microscópica, a *Passiflora edulis* está associada à aceleração do processo de cicatrização das anastomoses colônicas na fase aguda, mediante a redução do infiltrado neutrofílico. Associa-se também a aumento da proliferação fibroblástica (fibrose) angiogênese e infiltrado mononuclear no 3º e 7º dia.
- c) Na avaliação temporal observa-se que, independente do uso de *Passiflora edulis*, o tempo influencia a cicatrização das anastomoses colônicas em ratos.

Diante dos resultados apresentados neste trabalho, conclui-se que a administração da *Passiflora edulis* influencia de forma significativa a cicatrização das anastomoses colônicas em ratos até o 3º dia do pós-operatório.

---

## REFERÊNCIAS

## REFERÊNCIAS

AGUILAR-NASCIMENTO J. E.; SILVA da, L. R. F.; OLIVEIRA de, A. F. Deflazocort e cicatrização de anastomoses colônicas. Estudo experimental em ratos. **Rev. Ass. Med. Bras**, v. 46, p. 218-223, 2000.

AHRENDT, G. M.; TANTRY, U.S.; BARBUL, A. Intrabdomial sepsis impairs colonic reparative collagen synthesis. **Am J Surg**, v. 171, p. 102-108, 1996.

BALLANTYNE, G. H. The experimental basis of intestinal suturing: effect of surgical technique, inflammation, and infection on enteric wound healing. **Dis Colon Rectum**, v. 27, p. 61-71, 1984.

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

BENET, L. Z.; KROETZ, D. L. & SHEINER, L. B. Pharmacokinetics: The dynamics of drug absorption, distribution, and elimination. In: MOLINOFF, P. B.; RUDDON, R. W. (eds). **The Pharmacological Basis of Therapeutics**. 9. ed. USA: The McGraw-Hill Companies, 1996. Chap. 3.

BEVILACQUA, R. G.; MODOLIN, M.; ALMEIDA, C. G.; CHAPCHAP, P. Cicatrização. In: GOLDEMBERG, S; BEVILACQUA, R.G. **Manual de Cirurgia**. 2. ed. . São Paulo: E. P. U. / Springer, 1981. p. 99-116.

BIONDO-SIMÕES, M. L.; GRECA, F. G.; BRYK JÚNIOR, A.; KOMATSU, M. C. G.; BITTENCOURT, F. O.; GRECA, L. M. Influência da peritonite sobre a síntese de colágeno em anastomoses do cólon distal: estudo experimental em ratos. **Acta Cir Bras**, v. 15, p. 69-73. 2000.

BORRELLI, F.; PINTO, L.; IZZO, A. A.; MASCOLO, M.; CAPASSO, F.; MERCATI, V.; TOJA, E.; AUTORE, G. Anti-inflammatory activity of *Passiflora incarnata* L. in rats, **Phytother Resear**, v.10, p. 104-106. 1996.

BRITO, M.V.M.; BRITO, N.M.B.; ALMEIDA, A. J .B.; SANTOS, M. R. L. C. - Vaporizador artesanal de éter para cirurgia experimental em pequenos roedores. **Acta Cir Bras**, v. 13, p. 03-07, 1998.

CARNEIRO, A. B.; FONTELES, M. C. Efeitos autonômicos da *Passiflora foetida*. In: SIMPÓSIO DE PLANTAS MEDICINAIS DO BRASIL, 13., 1994, Fortaleza-CE. **Anais ...**, Fortaleza, 1994. p. 373

CASEY, W. J.; PEACOCK Jr, E. E.; CHVAPIL, M. Induction of collagen synthesis in rats by transplantation of allogenic macrophages. **Surg Forum**, v. 27, p. 53-54, 1976.

CAVALCANTE, P. B. **Frutos comestíveis da Amazônia**. 2. ed. Belém: Habib Fraiha Neto, 1976. v. 2, 154 p.

CEELEN, W.; EL MALT, M.; CARDOM, A.; BERREVOET, F.; DE NEVE, W.; PATTYN. Influence of preoperative high-dose radiotherapy on postoperative and colonic anastomotic healing: experimental study in rats. **Dis Colon Rectum**, v. 44, p. 717-721, 2001.

CLARK, R. A. F.; HENSON, P. M. **The molecular and celular biology of wound repair**. New York: Plenum Press, 1988.

CORSI, R. C. C.; CORSI, P. R.; PIRANA, S.; MURACO, F. A. E.; JORGE, D. Cicatrização das feridas: revisão da literatura. **Rev Bras Cir**, v. 84, p. 17-24, 1994.

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 anastomosis in rats. **J Parent Ent Nut**, v. 27, p. 0-0, 2003.

CYSNEIROS, R. M. **Mecanismo de ação hipotensora do extrato aquoso e frações purificadas de Cecropia glazioui sneth**. São Paulo. 1996. Tese (Doutorado em Farmacologia) – Escola Paulista de Medicina, Universidade Federal de São Paulo.

DUNPHY, J. E.; JACKSON, D. S. Practical applications of experimental studies in the care of primarily closed wound. **Am J Surg**, v. 104, p. 273, 1962.

ELISABETSKY, E. Pesquisa em plantas medicinais. **Ciência e cultura**, v. 39, p. 649-702, 1987.

FORESMAN, P. A.; EDLICH, R. F.; RODEHEAVER, G. T. The effect of new monofilament absorbable sutures on the healing of musculoaponeurotic incisions, gastrotomies, and colonic anastomoses. **Arch Surg**, v. 124, p. 708-710, 1989.

GOLIGHER, J. C.; LEE, P.W.; SIMPKINS, K. C.; LINTOTT, D. J.: A controlled comparison of one- and two-layer techniques of suture for high and low colorectal anastomoses. **Br J Surg**, v. 64, p. 609-614, 1977.

GRAHAM, M. F.; DIEGELMANN, R. F.; ELSON, C. O. et al. Collagen content and types in the intestinal strictures of Crohn's disease. **Gastroenterology**, v. 94, p. 257, 1988.

GRECA, F. H.; BIONDO-SIMÕES, M. L. P.; COLLAÇO, L. M.; MONACO, V. D.; TOLAZZI, A. R. D.; GASPARETTO, E. L.; SANTOS, E. A. A. dos. Ação dos ácidos graxos de cadeia curta na cicatrização de anastomoses colônicas: estudo experimental em ratos. **Acta Cir Bras**, v. 15, p. 12-16, 2000.

GRECA, F. H.; BIONDO-SIMÕES, M. L. P.; IOSHI, S.; SANTOS, E. A. A.; CHIN, E.W.K.; EL TAWIL, I.I.; STALHSCHIMIDT, F.L. Cicatrização de anastomoses do cólon esquerdo com doença inflamatória: estudo experimental em ratos. **Acta Cir Bras**, v. 15, p. 41-46, 2000.

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

HOEHNE, F. C. **Plantas e substâncias vegetais tóxicas e medicinais**. 2ª reimpressão. São Paulo, SP: Instituto Botânica (ed), 1978. v. 2.

INSEL, P. A. Analgesic-antipyretic and antiinflammatory agents and drugs employed in the treatment of gout. In: MOLINOFF, P. B.; RUDDON, R. W. (eds). **The Pharmacological Basis of Therapeutics**. 9. ed. USA: The McGraw-Hill Companies, 1996. Chap. 27.

IRVIN, T. T.; GOLIGHER, J. C. Aetiology of disruption of intestinal anastomoses. **Br J Surg**, v. 60, p. 461, 1973.

KIYAMA, T.; EFRON, D. T.; TANTRY, U.; BARBUL, A. Effect of nutritional route on colonic anastomotic healing in the rat. **J Gras Surg**, v. 3, p. 441-446, 1999.

KLEYMAN, I.; SIMÕES, M. J.; GOLDENBERG, S. Aspectos atuais do processo de reparação tecidual. **Acta Cir Bras**, v. 2, p. 19-21, 1987.

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

KORUDA, M. J.; ROLANDELLI, R. H. Current research review: experimental studies on the healing of colonic anastomoses. **J Surg Res**, v. 48, p. 504-515, 1990.

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

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 do rato. Estudo da força de ruptura e do colágeno tecidual. **Acta Cir Bras**, v. 8, p. 145-150, 1993.

LUTOMSKI, J.; MALEK, B.; RYBACKA, L. Pharmacochemical investigations of the raw materials from Passiflora genus. 2. The Pharmacochemical estimation of juices from the fruits of Passiflora edulis and Passiflora edulis forma flavicarpa. **Planta Med**, v. 27, p. 112-121, 1975.

MALUF, E.; BARROS, H. M. T.; FROCHTEMGARTEM, M. L.; BENTI, R.; LEITE, J. R. Assessment of the hypnotic/sedative effects and toxicity of *Passiflora edulis* aqueous extract in rodents and humans. **Phytotherapy Research**, v.5, p. 262-266, 1992.

MILLER, J. M. Evaluation of a new surgical suture (Prolene). **Am Surg**, v. 39, p. 31-39, 1973.

MODOLIN, M.; BEVILACQUA, R. G. Cicatrização das feridas. Síntese das aquisições recentes. **Rev Bras Clin Terap**, v. 14, p. 208-213, 1985.

MUNIZ, M. S. O bem e o mal das plantas medicinais. **Presença pedagógica**, v. 3, p. 80-84, 1997.

NICHOLS, R. C. Surgical Wound. **Am J Med**, v. 91, p. 345-364, 1991.

NICOLLS, J. M.; BIRNER, J.; FORSELL, P. **Passicol, an antibacterial and antifungal agent produced by *Passiflora* plant species**: qualitative and quantitative range of activity. Hobart, Australia: Commonwealth Scientific and Industrial Research Organization, 1972.

OLIVEIRA, P. G. **Efeito da peritonite por *Candida albicans* na cicatrização de anastomoses colônicas**: estudo experimental em ratos. Ribeirão Preto, 1995, 119 f. Tese (Doutorado) – Faculdade Médica de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo.

OLIVEIRA, P. G. de; SOARES, E. G.; APRILLI, F. Influence of misoprostol, a synthetic prostaglandin E<sub>1</sub> analog on the healing of colonic anastomoses in rats. **Dis Colon Rectum**, v. 37, p. 660, 1994.

POLK Jr, H. C.; LOPES-MAYOR, J. F. Postoperative wound infection: a prospective study of determinant factors and prevention. **Surgery**, v. 66, p. 103, 1969.

ROBBERS, J. E. **Farmacognosia e farmacobiotechnologia**. São Paulo: Editorial Premier, 1998.

SANTIS, P. B.; LOUREIRO, A. L. R. dos S.; ANDRADE, D. A. S.; GUILGEN, G. A.; SIMÕES, J. C. Aspectos morfológicos da cicatrização das anastomoses colo-cólicas após injeção intraperitoneal de cisplatina: estudo experimental em ratos. **Rev Med PR**, v. 53, p. 01-10, 1996.

SCHULTZ, A. R. M **Introdução à botânica sistemática**. 4. ed. Porto Alegre: Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 1984. v. 2.

SECCO, R. S. Produtos naturais: alternativa segura? **Rev Cien Cult**, v. 42, p. 807-810, 1990.

SHASHIDHARAN, M.; LIN, K. M.; TERNENT, C. A.; SMYRK, T. C.; THORSON, A. G.; BLATCHFORD, G. J.; CHISTENSEN, M. A. Influence of arginine dietary supplementation on the healing of colonic anastomosis in the rat. **Dis Colon Rectum**, v. 42, p. 613-617, 1999.

SILVA, B. T. F.; FREIRE, S. M. F. Estudos farmacológicos do extrato etanólico de folhas de *Passiflora edulis* (maracujá amarelo) em ratos e camundongos. **Rev Cien Sau**, v. 2, p. 21-24, 2000.

SILVA, B. T. F.; NUNES, S. F. L. C.; FREIRE, S. M. F. Efeito antiinflamatório, analgésico e antipirético do extrato etanólico de folhas de *Passiflora edulis* var. *flavicarpa* (maracujá amarelo). **Caderno de Pesquisa**, v. 11, 2001.

- SIMÕES, M. J.; UZUNIAN, A.; MORA, A. O.; SASSO, W. S. Aspectos ultra-estruturais do processo de reparação da pele de ratos albinos. **Rev Paul Med**, v. 103, p. 142-147, 1985.
- SOARES, E. W. S.; CAMPOS, A. C. L.; MATIAS, J. E. F.; COELHO, J. C. U.; MALAFAIA, O. Influência da quimioterapia pós-operatória com 5-fluorouracil, na cicatrização de anastomoses colônicas em ratos. **Arq Bras Cir Dig**, v. 15, p. 31-35, 2002.
- SOUSA, J. B. **Evolução da cicatrização de anastomoses colônicas sob ação do diclofenaco sódico administrado no período perioperatório: Estudo experimental em coelhos.** Ribeirão Preto, 1994. 95f. Tese (Doutorado) – Faculdade Médica de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo.
- STASI, L. C. **Plantas medicinais: arte e ciência.** São Paulo, SP: Universidade Estadual Paulista (ed), 1996.
- TEVES, T. C.; CABRAL, A. C. V.; SIMÕES, M. J.; KULAY Jr, L. Biologia da reparação tecidual. **JBM**, v. 50, p. 39-44, 1986.
- THORNTON, F. J.; BARBUL, A. Cicatrização no trato gastrintestinal. **Clínicas Cirúrgicas da América do Norte**, v. 77, p. 547-570, 1997.
- VERHOFSTAD, M. H. J.; LOMME, R. M. L. M.; de MAN, B. M.; HENDRIKS, T. Intestinal anastomoses from diabetic rats contain supranormal level gelatinase activity. **Dis Colon Rectum**, v. 45, p. 554-561, 2002.
- VILARIÑO, T. C. **Análise comparativa entre suturas com pontos contínuos e separados, em plano único extra mucoso: estudo experimental em colo de rato.** São Paulo, 1992. 93 p. Dissertação (Mestrado) – Escola Paulista de Medicina, Universidade Federal de São Paulo.
- WARDE, P. J. **Anastomose colorretal experimental em um e em dois planos de sutura: Estudo comparativo.** São Paulo, 1972. 122 f. Tese (Doutorado) – Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo.
- WHITE, M. N.; JOHNSON, A. C.; EGER, K. L. Anesthesia in experimental surgery. **Exp Surg**, v. 1, p. 250-260, 1974.
- ZEEH, J.; INGLIN, R.; BAUMANN, G.; DIRSCH, O.; RILEY, N. E.; GERKEN, G.; BÜCHLER, M. W.; EGGER, B. Micophenolate mofetil impairs healing of left – sided colon anastomoses. **Transplantation**, v. 71, p. 1429-1435, 2001.

## APÊNDICES

APÊNDICE 1 – FICHA PROTOCOLO.....	67
APÊNDICE 2 – FICHA PROTOCOLO HISTOLOGIA.....	70
APÊNDICE 3 – TABELA GERAL DOS DADOS ESTATÍSTICOS .....	74
APÊNDICE 4 – TABELA DAS MEDIANAS DAS VARIÁVEIS MICROSCÓPICAS DOS SUBGRUPOS C3, P3 E C7, P7 .....	76

**APÊNDICE 1 – FICHA PROTOCOLO**

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ**  
**UNIVERSIDADE FEDERAL DO MARANHÃO**  
**MESTRADO INTERINSTITUCIONAL EM CLÍNICA CIRÚRGICA**  
**MESTRANDO: JOSÉ ANTONIO FERREIRA BEZERRA**  
**ORIENTADOR: PROF.DR. ANTONIO CARLOS LIGOCKI CAMPOS**

FICHA PROTOCOLO

EXTRATO: \_\_\_\_\_

RATO Nº: \_\_\_\_\_

GAIOLA Nº: \_\_\_\_\_

MARCAÇÃO: GC3; GP3;;GC7;;GP7. \_\_\_\_\_

MORTE DOS ANIMAIS: ( ) 3 dias ( ) 7 dias

GRUPO:

( ) Passiflora edulis

( ) Controle

TÉCNICA CIRÚRGICA:

a) Data: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

b) Incisão: \_\_\_\_\_ cm

c) Sangramento: ( ) Discreto ( ) Moderado ( ) Acentuado

d) Hemostasia: ( ) Compressão ( ) Sutura ( ) Ineficaz

e) Fotografias nº: \_\_\_\_\_

Evolução Diária

Dia	Alteração
D0	
D1	
D2	
D3	
D4	
D5	
D6	
D7	

## TESTE DE RUPTURA:

a) Tensão máxima: \_\_\_\_\_ mmHg

## MORTE DOS ANIMAIS

- a) Infecção de sítio operatório: ( ) Sim ( ) Não
- b) Deiscência de ferida operatória: ( ) Sim ( ) Não
- c) Tipo de deiscência: ( ) Total ( ) Parcial ( ) Não houve
- d) Abscesso intraabdominal: ( ) Sim ( ) Não
- e) Fístula: ( ) Sim ( ) Não
- f) Hematoma: ( ) Sim ( ) Não
- g) Aderências – grau: \_\_\_\_\_

## ANÁLISE HISTOLÓGICA:

- a) Fixador: \_\_\_\_\_
- b) Coloração: \_\_\_\_\_
- c) Nº da lâmina: \_\_\_\_\_
- d) Fotomicrografia nº: \_\_\_\_\_
- e) Processo inflamatório: ( ) Agudo ( ) Subagudo ( ) Crônico
- f) Graduação histológica: \_\_\_\_\_

**APÊNDICE 2 – FICHA PROTOCOLO HISTOLOGIA**

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ  
UNIVERSIDADE FEDERAL DO MARANHÃO  
MESTRADO INTERINSTITUCIONAL EM CLÍNICA CIRÚRGICA

MESTRANDO: JOSÉ ANTONIO FERREIRA BEZERRA

ORIENTADOR: PROF.DR. ANTONIO CARLOS LIGOCKI CAMPOS

FICHA PROTOCOLO HISTOLOGIA

RATO Nº: \_\_\_\_\_ FRASCO: \_\_\_\_\_ DATA: \_\_\_/\_\_\_/\_\_\_

**INFLAMAÇÃO AGUDA:**

- ( ) AUSENTE (quando não há evidência de células inflamatórias polimorfonucleares – PMN)
- ( ) DISCRETA (quando há evidências de células inflamatórias PMN esparsas e isoladas. Visíveis áreas livres de infiltrados).
- ( ) MODERADA (maior número de células PMN, com agregados densos, ainda há áreas livres de infiltrados).
- ( ) ACENTUADA (maior frequência de células inflamatórias PMN, agregados densos e justapostos. Não há áreas livres de infiltrados).

**INFLAMAÇÃO CRÔNICA:**

- ( ) AUSENTE (não existem células inflamatórias leucócitos mononucleares)
- ( ) DISCRETA (existem células inflamatórias isoladas e esparsas. Há áreas livres de infiltrados).
- ( ) MODERADA (existem células inflamatórias mononucleares, agregados densos. Ainda há áreas livres de infiltrados).
- ( ) ACENTUADA (quando existem células inflamatórias mononucleares, agregados densos justapostos. Não há áreas livres de infiltrados).

**NEOFORMAÇÃO VASCULAR (ANGIOGÊNESE):**

- AUSENTE
- DISCRETA
- MODERADA
- ACENTUADA

**PROLIFERAÇÃO FIBROBLÁSTICA:**

- AUSENTE (não existem fibroblastos no campo da anastomose).
- DISCRETA (existem esparsos fibroblastos proliferados em meio ao tecido conjuntivo frouxo).
- MODERADA (existe quantidade moderada de fibroblastos proliferados formando pequenos feixes de células multidirecionalmente).
- ACENTUADA (existe grande quantidade de fibroblastos proliferados constituindo agregados compactos de células arranjadas multidirecionalmente).

**FIBROSE (COLAGENIZAÇÃO):**

- AUSENTE (não existem fibras colágenas depositadas).
- DISCRETA (deposição de fibras colágenas em pequena quantidade, esparsas fibras depositadas em meio aos fibroblastos proliferados).
- MODERADA (fibras colágenas depositadas formam feixes espessos eosinofílicos intercalados com áreas de tecidos conjuntivo frouxo e fibroblastos proliferados).
- ACENTUADA (grande deposição de fibras colágenas com feixes espessos e compactos em meio a fibroblastos proliferados e sem áreas de tecidos conjuntivo frouxo).

**EXTENSÃO DA INFLAMAÇÃO DA PAREDE:**

- ( ) MUCOSA
- ( ) SUBMUCOSA
- ( ) MUSCULAR
- ( ) SEROSA

**ESCALA DE PONTUAÇÃO:**

0 – AUSENTE; 1 – DISCRETO; 2 – MODERADO; 3 – ACENTUADO.

**APÊNDICE 3 – TABELA GERAL DOS DADOS ESTATÍSTICOS**

Grupo	Pres-são	Conges-tão	Edema	PMN	MMN	P. Fibro	Angio-gênese	Soma-toria	Infla-mação	Ade-rência	Cola-gen
C3	2	-1	-2	-2	0	0	0	-5	A	II	0
C3	5	-1	-2	-2	0	0	0	-5	A	II	0
C3	32	-1	-2	-1	0	0	0	-4	A	II	0
C3	30	-2	-2	-2	1	0	0	-6	A	II	0
C3	24	-1	-2	-2	0	0	0	-5	A	III	0
C3	33	-2	-1	-1	0	0	0	-4	A	I	0
C3	46	-2	-3	-3	1	0	0	-7	A	I	0
C3	36	-1	-1	-2	0	0	0	-4	A	I	0
C3	14	-2	-1	-2	0	0	0	-5	A	I	0
C3	32	-2	-1	-3	0	0	0	-6	A	I	0
P3	40	-1	-2	-3	1	1	0	-4	A	I	0
P3	43	-1	-1	-2	1	1	0	-2	B	I	0
P3	21	-1	-2	-3	1	1	1	-3	A	III	0
P3	25	-2	-2	-2	1	0	0	-5	A	I	0
P3	42	-1	-2	-3	1	1	0	-4	A	I	0
P3	44	-1	-1	-3	1	1	1	-2	B	I	0
P3	65	-1	-1	-3	1	1	0	-3	A	I	0
P3	75	-1	-1	-3	1	1	0	-3	A	I	0
P3	21	-1	-1	-3	1	1	0	-3	A	I	0
P3	50	-1	-1	-2	1	1	0	-2	B	I	0
C7	218	-1	-2	-2	0	0	0	-5	A	II	0
C7	141	-1	-2	-2	0	0	0	-5	A	III	0
C7	165	-1	-2	-2	0	0	0	-5	A	III	0
C7	202	-1	-2	-2	1	1	1	-2	B	II	0
C7	173	-1	-2	-2	1	0	1	-3	A	II	0
C7	192	-1	-1	-2	0	1	0	-3	A	I	0
C7	190	-1	-1	-1	2	2	0	1	B	I	0
C7	242	0	-1	-1	3	3	2	6	C	I	2
C7	117	-1	-2	-2	1	0	0	-4	A	I	0
C7	233	-1	-1	-1	1	1	0	-1	B	III	0
P7	151	0	0	-1	3	3	1	6	C	I	1
P7	290	0	0	-1	3	3	1	6	C	III	1
P7	209	0	0	-1	3	3	1	6	C	III	1
P7	178	0	0	-1	2	3	2	6	C	II	1
P7	158	0	0	-1	3	3	1	6	C	I	1
P7	278	0	0	-1	3	2	1	5	C	I	1
P7	227	0	0	-1	3	3	1	6	C	II	1
P7	146	0	0	-1	3	3	1	6	C	III	1
P7	190	0	0	-1	3	3	1	6	C	II	1
P7	203	0	0	-1	3	3	1	6	C	II	1

**APÊNDICE 4 – TABELA DAS MEDIANAS DAS VARIÁVEIS MICROSCÓPICAS  
DOS SUBGRUPOS C3, P3 E C7, P7**

VARIÁVEIS	C3	P3	C7	P7
CONGESTÃO	-1,5	-1,0	-1,0	0,0
EDEMA	-2,0	-1,0	-2,0	0,0
PMN	-2,0	-3,0	-2,0	-1,0
MMN	0,0	1,0	1,0	3,0
P.FIBROBLÁSTICA	0,0	1,0	0,5	3,0
ANGIOGÊNESE	0,0	0,0	0,0	1,0
COLAGENIZAÇÃO	0,0	0,0	0,0	1,0

**ANEXO**

**ANEXO 1 – PARECER DA COMISSÃO CIENTÍFICA ..... 79**

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO MARANHÃO**  
Fundação Instituída nos termos da Lei nº 5.152, de 21/10/1966  
**CCBS-DEPARTAMENTO DE MEDICINA II.**  
MESTRADO INTERINSTITUCIONAL EM CLÍNICA CIRÚRGICA.  
UFPR/UFMA

Parecer da Comissão Científica.

A Comissão Científica do Departamento de Medicina II da Universidade Federal do Maranhão, analisou sob aspectos científicos e éticos o Projeto de Pesquisa do Dr. JOSÉ ANTÔNIO FERREIRA BEZERRA de título: **EXTRATO DE *Passiflora edulis* NA CICATRIZAÇÃO DE ANASTOMOSE COLÔNICA EM RATOS: ESTUDO TENSIO MÉTRICO E MORFOLÓGICO**

Após análise do Projeto a Comissão Científica emitiu o seguinte parecer:

Aprovado.

São Luís, 20 de junho de 2002.

  
Prof. Raimundo Nonato Baldez  
Chefe do Departamento de Medicina II