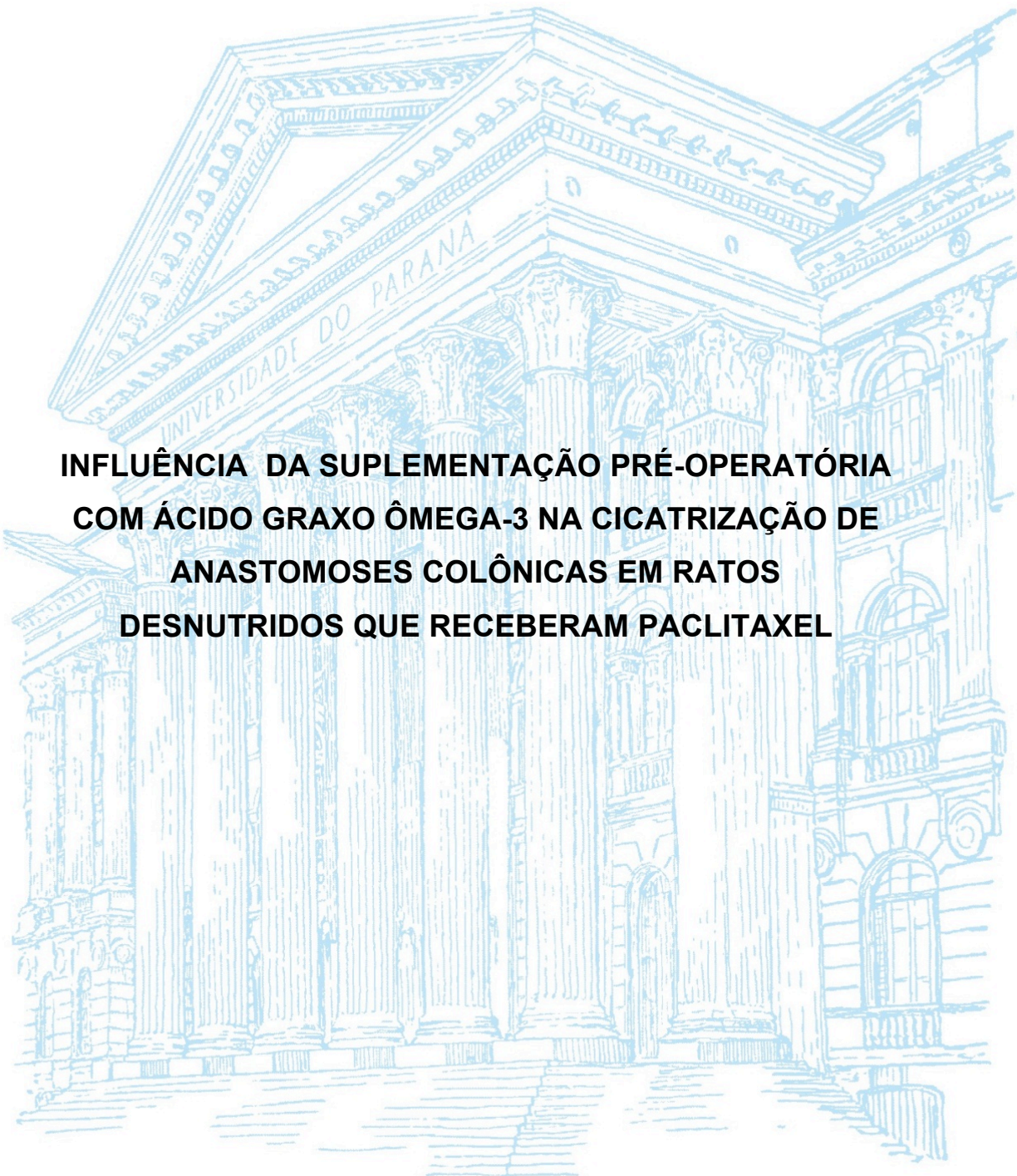


UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

ALVO ORLANDO VIZZOTTO JUNIOR



**INFLUÊNCIA DA SUPLEMENTAÇÃO PRÉ-OPERATÓRIA
COM ÁCIDO GRAXO ÔMEGA-3 NA CICATRIZAÇÃO DE
ANASTOMOSES COLÔNICAS EM RATOS
DESNUTRIDOS QUE RECEBERAM PACLITAXEL**

CURITIBA

2014

ALVO ORLANDO VIZZOTTO JUNIOR

**INFLUÊNCIA DA SUPLEMENTAÇÃO PRÉ-OPERATÓRIA COM
ÁCIDO GRAXO ÔMEGA-3 NA CICATRIZAÇÃO DE ANASTOMOSES
COLÔNICAS EM RATOS DESNUTRIDOS QUE RECEBERAM
PACLITAXEL**

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

Orientador: Prof. Dr. Antônio Carlos L. Campos

Co-orientadora: Prof^a. Dr^a. Eneri Leite Mello

Coordenador: Prof. Dr. Jorge Eduardo F. Matias

**CURITIBA
2014**

Vizzotto Junior, Alvo Orlando

Influência da suplementação pré-operatória com ácido graxo ômega-3 na cicatrização de anastomoses colônicas em ratos desnutridos que receberam paclitaxel / Alvo Orlando Vizzotto Junior. – Curitiba, 2014.

193 f. : il.

Orientador: Prof. Dr. Antônio Carlos L. Campos.

Tese (Doutorado) – Setor de Ciências da Saúde, Universidade Federal do Paraná.

1.Anastomose colônica. 2.Desnutrição. 3.Ômega-3. 4.Paclitaxel.
4.Cicatrização. I.Título.

NLM: W0 179



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

Ata do julgamento da 168ª Tese de Doutorado do Programa de Pós-Graduação em Clínica Cirúrgica da Universidade Federal do Paraná, referente ao aluno **ALVO ORLANDO VIZZOTTO JÚNIOR** sob o título **INFLUÊNCIA DA SUPLEMENTAÇÃO PRÉ-OPERATÓRIA COM ÁCIDO GRAXO ÔMEGA-3 NA CICATRIZAÇÃO DE ANASTOMOSES COLÔNICAS EM RATOS DESNUTRIDOS RECEBENDO PACLITAXEL na Linha de Pesquisa: Cicatrização e Medidas de Resistência dos Tecidos Área de Concentração: Nutrição e Cicatrização em Cirurgia** tendo como orientador Professor Doutor Antonio Carlos L. Campos

Às sete horas e trinta minutos do dia trinta e um de outubro de dois mil e quatorze no Auditório da CAD 7º andar – sala 701 do prédio central do Hospital de Clínicas da Universidade Federal do Paraná, reuniu-se, em sessão pública, a Banca Examinadora de Avaliação composta pelos doutores Eneir Leite Mello, Antonio Sergio Brenner, Marco Aurélio Raeder da Costa, Edison Luiz Almeida Tizzot e Antonio Carlos L. Campos sendo este último Presidente da banca, que abriu a sessão. Foi apresentada pelo Prof Dr. Jorge Eduardo Fouto Matias Coordenador da Pós-Graduação a documentação probatória do cumprimento pelo candidato das exigências legais que lhe facultam submeter-se à avaliação da tese, como última etapa à sua titulação no Programa. A seguir o Presidente da Banca Examinadora convidou o candidato a apresentar oralmente resumo de sua tese no prazo máximo de até trinta minutos para demonstração de sua capacidade didática e para melhor conhecimento do tema por parte da audiência composta de professores, médicos, alunos, familiares e demais interessados. Seguiu-se a arguição e imediata resposta pelo candidato, sucessivamente pelos componentes da banca examinadora. Obedecido o tempo máximo de vinte minutos para a arguição e igual tempo para cada resposta. Terminada a etapa de arguição, reuniu-se a banca examinadora em sala reservada para atribuição das notas, dos conceitos e lavratura do Parecer Conjunto. O candidato foi **APROVADO** considerando-se os parâmetros vigentes estabelecidos pelo programa e regidos pela legislação pertinente da instituição. Voltando à Sala de Sessão, o Senhor Presidente da Banca Examinadora leu os conceitos do Parecer Conjunto e deu por encerrada a sessão. E para constar, eu, Regina Aparecida Sass Marques, Secretária desta Pós-Graduação lavrei a presente Ata que depois de lida e aprovada será assinada pelos componentes da Banca Examinadora.

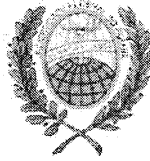

Eneir Leite Mello


Antonio Sergio Brenner


Edison Luiz Almeida Tizzot


Marco Aurélio Raeder da Costa


Antonio Carlos L. Campos



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

**PARECER CONJUNTO DA BANCA EXAMINADORA
DA AVALIAÇÃO DA TESE DE DOUTORADO**

Aluno **ALVO ORLANDO VIZZOTTO JÚNIOR**

Título da tese **INFLUÊNCIA DA SUPLEMENTAÇÃO PRÉ-OPERATÓRIA COM
ÁCIDO GRAXO ÔMEGA-3 NA CICATRIZAÇÃO DE ANASTOMOSES
COLÔNICAS EM RATOS DESNUTRIDOS RECEBENDO PACLITAXEL.**

CONCEITOS EMITIDOS

MEMBROS	CONCEITO	EQUIVALÊNCIA
Eneri Leite Mello	A	10,0
Antonio Sergio Brenner	A	10,0
Marco Aurélio Raeder da Costa	A	10,0
Edison Luiz Almeida Tizzot	A	10,0
Antonio Carlos L. Campos	A	10,0

CONCEITO FINAL DE AVALIAÇÃO

Conceito: _____ Equivalência: _____

Curitiba, 31 de outubro de 2014.

MEMBROS	ASSINATURA
Eneri Leite Mello	
Antonio Sergio Brenner	
Marco Aurélio Raeder da Costa	
Edison Luiz Almeida Tizzot	
Antonio Carlos L. Campos	

À minha esposa Paula, esteio da minha vida, toda a minha gratidão pelo amor e compreensão incondicionais e também pelo constante apoio nesta tese.

Aos meus filhos, José e Maria, pela compreensão, paciência e carinho.

Aos meus pais (*in memoriam*), pelo incansável encorajamento ao meu aprimoramento durante suas vidas.

Aos meus irmãos e suas famílias pela amizade e companheirismo.

Aos pacientes oncológicos cujo sofrimento é um estímulo constante ao meu aperfeiçoamento profissional e à minha busca do conhecimento para melhor compreender e lutar contra este mal.

AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Dr. Antonio Carlos L. Campos, orientador deste trabalho, pela fundamental participação e generosa dedicação o que tornou possível a realização deste projeto.

À Prof. Dra. Eneri Leite Mello, pelo acolhimento no Departamento de Morfologia da Universidade Estadual de Maringá, por ter aberto as portas e ter sido a grande viabilizadora desta tese.

Ao Prof. João Carlos Palazzo de Mello, pelo apoio na etapa experimental.

Ao Dr. Calixto Antonio Hakin Neto, a quem considero como um pai, mentor e paradigma, cujo caráter, profissionalismo, conhecimento técnico e sabedoria pautam a minha vida.

Ao Dr. Léo Uchida, que plantou a semente da qual hoje colhemos os frutos, pelo acolhimento no Serviço de Oncologia do Hospital Santa Rita de Maringá.

Ao Hospital Santa Rita de Maringá na pessoa do Dr. Hiran Mora seu fundador, pelo referencial de boa prática médica que representa.

Ao Sr. Hiran Alencar Mora Castilho, grande amigo, com quem muito aprendo no convívio cotidiano.

Ao Dr. Tiago Jacometo Castilho, sócio e amigo, pelo companheirismo durante todo este trabalho.

Ao Prof. Dr. Sergio Sábio, pelo apoio no uso do tensiômetro no CONCAP - UEM.

Ao Dr. Alex Pimenta pelo grande auxílio na avaliação histológica.

Aos colegas e sócios do Serviço de Oncologia do Hospital Santa Rita de Maringá por terem sido compreensivos e conduzido o serviço suprimindo minha ausência.

Aos técnicos do laboratório de histotécnica do Departamento de Morfologia da Universidade Estadual de Maringá, Maria Eurides Carlos Cancino e Maria dos Anjos Moreira Fortunato, bem como todos os demais membros da equipe, pela fundamental ajuda em toda a fase experimental.

Ao meu cunhado Clodoaldo Ribeiro Malheiros, pelo grande auxílio na fase experimental deste trabalho.

Ao Sr. Wellington Coelho de Castilho e Sra. Tânia Jacometo de Castilho pela sua participação viabilizando este estudo.

À enfermeira Juliane Aparecida Alves e à toda equipe do Serviço de Oncologia do Hospital Santa Rita de Maringá pelo importante contribuição no preparo do material utilizado na fase experimental.

“Eu cuidei da ferida. Deus a curou.”
Ambroise Parè, Séc XVI.

RESUMO

Introdução: A cicatrização das anastomoses em pacientes com câncer de ovário frequentemente se processa em ambiente de desnutrição e sob o efeito de quimioterápicos. Neste cenário o uso dos ácidos graxos ômega-3 têm sido propostos como elemento de reposição nutricional e como modulador do processo de cicatrização. **Material e método:** Foram estudados 160 ratos Wistar que foram divididos em dois grupos iguais. Um grupo foi submetido a desnutrição pelo processo de *pair feeding* (D) por quatro semanas, durante as quais os ratos receberam metade da quantidade de comida do grupo controle. O outro grupo, nutrido (N), recebeu ração *ad libitum*. Na última semana, cada grupo foi subdividido em dois subgrupos que receberam, por gavagem, ácido graxo ômega-3 (O) na dosagem de 100 mg/kg ou azeite de oliva (A). Após este período, todos os animais foram submetidos a procedimento de colotomia em segmentos proximal e distal do cólon seguida de colorrafia. Após o procedimento cirúrgico cada subgrupo foi novamente subdividido em dois subgrupos que receberam salina (S) ou paclitaxel (P) na dose de 3,5 mg/kg intraperitoneal. No quinto dia de pós-operatório os animais foram mortos. Foram avaliados dados evolutivos (peso, mortalidade, achados intra-abdominais pós-morte). Os segmentos anastomóticos foram avaliados por meio da resistência a tração, parâmetros histológicos (hematoxilina-eosina, picro-sirius red) e parâmetros imunoistoquímicos, por meio dos marcadores CD 31 (contagem de vasos sanguíneos), ki-67 (células em proliferação) e calponina (miofibroblastos). **Resultados:** A mortalidade global foi de 26,8% sendo maior no grupo de animais que recebeu paclitaxel ($p=0,003$). Os animais submetidos a desnutrição pelo *pair feeding* apresentaram perda de peso em relação aos animais que receberam ração *ad libitum* ($p<0,05$). A incidência de estenose de anastomose foi maior no grupo de animais desnutridos em relação aos nutridos ($p=0,007$). A força de ruptura completa foi maior no grupo NAP em relação ao grupo DAP ($1,2821\pm 0,174$ vs $0,7775\pm 0,077$; $p<0,05$). A média da intensidade do infiltrado inflamatório foi menor no grupo de DAS em relação ao grupo DOS ($1,61\pm 0,18$ vs $2,50\pm 0,16$; $p<0,05$). O grupo NAS teve índice de maturação de colágeno (IMaC) médio maior que o grupo DAS ($1,45\pm 0,4$ vs $0,35\pm 0,08$, $p<0,05$). O grupo NOS teve IMaC médio menor que o grupo DOS ($2,08\pm 0,35$ vs $2,82\pm 0,33$, $p<0,05$). O grupo DAS teve IMaC médio menor que o grupo DOS ($0,35\pm 0,08$ vs $2,82\pm 0,33$, $p<0,05$) e que o grupo DAP ($0,35\pm 0,08$ vs $1,58\pm 0,15$, $p<0,05$). A contagem do número de vasos sanguíneos foi maior no grupo DAS em relação ao grupo DAP ($12,64\pm 1,7$ vs $6,45\pm 0,28$; $p<0,05$) e menor no grupo DAP em relação ao grupo DOP ($6,45\pm 0,28$ vs $8,91\pm 0,88$; $p<0,05$). **Conclusão:** A suplementação com ácido graxo ômega-3 associou-se ao aumento significativo na produção de colágeno maduro nos animais desnutridos, à reversão do efeito deletério causado pela desnutrição associada à administração do paclitaxel na força de ruptura e ao estímulo da neoangiogênese no grupo que recebeu paclitaxel.

Palavras-chave: Anastomose colônica. Desnutrição. Ômega-3. Paclitaxel.

ABSTRACT

Intoduction: The healing process of colonic anastomosis in patients with ovarian cancer often occurs in a condition of malnutrition and under the effect of chemotherapy. In this scenario, the use of ω -3 poli-unsaturated fatty acids (ω -3 PUFA) has been proposed as nutrition element and as modulator of the cicatrization process. **Material and methods:** One hundred and sixty male Wistar rats were divided in two equal groups. The first group, malnourished (M), was submmited to a malnutrition process called pair feeding for a four-week period, in which animals have recieved half of the amount of food the control group received. The control group, well nourished (N), has received food *ad libitum*. During the last week of the four-week period, each group of rats was divided in two subgroups that has received, via gavage, 100 mg/Kg of ω -3 PUFA (F) or olive oil (O). After this period, rats were submmited to colotomy surgery in two segments of the colon, proximal and distal, followed by colorrhaphy. Then each subgroup was divided again into two subgroups that have received intraperitounously saline solution (S) or 3,5 mg/Kg paclitaxel (P). In the fifth day after surgery rats were killed. Weight, mortality and *post-mortem* intraperitonious findings were evaluated daily during these five days after surgery. The clonic segments with anastomosis were evaluated by means of tensile strength, hitologic features, imunohistochemical antibodies CD31 (blood vessels count), Ki67 (proliferating cells) and calponin (miofibroblsts). **Results:** The overall mortality tax was 26,8% being higher in the palcitaxel group ($p=0,003$). Animals submmited to a malnutrition process by pair feeding methodology lost more weight when compared with animals that have received food *ad libitum* ($p<0,05$). The incidence of anastomotic stenosis was higher in malnourished rats ($p=0,007$). The complete rupture strength (measured in Newtons) was higher in NOP group in relation to MOP group ($1,2821\pm 0,174$ vs $0,7775\pm 0,077$; $p<0,05$). The average of inflamatory infiltrate intensity was lesser in MOS group when compared with MFS group ($1,61\pm 0,18$ vs $2,50\pm 0,16$; $p<0,05$). The NOS group had mature collagen index (IMaC) higher than in MOS group ($1,45\pm 0,4$ vs $0,35\pm 0,08$, $p<0,05$). This index was lesser in group NFS than in group MFS ($2,08\pm 0,35$ vs $2,82\pm 0,33$, $p<0,05$) and lesser in group MOS than in groups MFS ($0,35\pm 0,08$ vs $2,82\pm 0,33$, $p<0,05$) and MOP ($0,35\pm 0,08$ vs $1,58\pm 0,15$, $p<0,05$). The blood vessels count was higher in MOS when compared with group MOP ($12,64\pm 1,7$ vs $6,45\pm 0,28$; $p<0,05$) and lesser in group MOP when compared with group MFP ($6,45\pm 0,28$ vs $8,91\pm 0,88$; $p<0,05$). **Conclusion:** The ω -3 PUFA supplementation was associated with increase in mature collagen production in malnourished animals, with reversion of deletrious effect of malnutrition associated with paclitaxel administration in rupture strenght and with neoangiogenesis stimulation in the paclitaxel group

Keywords: Colonic anastomosis. Malnutrition. ω -3 PUFA. Paclitaxel.

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1 – FÓRMULA ESTRUTURAL DA MOLÉCULA DO PACLITAXEL....	32
FIGURA 2 – FASES DA CICATRIZAÇÃO DA FERIDA	34
FIGURA 3 – FORÇA DE RUPTURA DA ANASTOMOSE JEJUNAL EM RATOS DE ACORDO COM O DIA DE PÓS-OPERATÓRIO	38
FIGURA 4 – EVOLUÇÃO DA FORÇA TÊNSIL DA ANASTOMOSE DE ACORDO COM A SÍNTESE E DEGRADAÇÃO DO COLÁGENO NO PROCESSO DE CICATRIZAÇÃO	39
FIGURA 5 – DIAGRAMA DA ESTRUTURA QUÍMICA DOS ÁCIDOS GRAXO POLI-INSATURADOS	49
FIGURA 6 – EFEITOS DOS ÁCIDOS GRAXOS ÔMEGA 3 NA VIA DE SÍNTESE DA CICLO - OXIGENASE E LIPO-OXGIENASE COMPARADO COM O ÔMEGA 6	50
FIGURA 7 – DIAGRAMA DO METABOLISMO DOS ÁCIDOS GRAXOS PELA CICLO-OXGIENASE E LIPO-OXIGENASE	53
FIGURA 8 – FÓRMULA QUÍMICA DO ÁCIDO OLÉICO.....	58
FIGURA 9 – DIAGRAMA DAS FORÇAS AVALIADAS NOS ENSAIOS.....	63
FIGURA 10 – DELINEAMENTO EXPERIMENTAL E CRONOLOGIA DO EXPERIMENTO.....	70
FIGURA 11 – REALIZAÇÃO DA GAVAGEM PARA ADMINISTRAÇÃO DA SOLUÇÃO LIPÍDICA (SEM ANESTESIA).....	72
FIGURA 12 – ANASTOMOSES COLÔNICAS	74
FIGURA 13 – CORPOS DE PROVA (CP).....	75
FIGURA 14 – EXEMPLO DE CELIOTOMIA APÓS A MORTE DOS ANIMAIS.	76
FIGURA 15 – EXEMPLO DE ADERÊNCIAS INTESTINAIS	77
FIGURA 16 – EXEMPLO DE ABSCESSO PERI-ANASTOMÓTICO	78
FIGURA 17 – TENSÍMETRO EMIC [®] , DL 1000, (EMIC SÃO JOSÉ DOS PINHAIS – PR)	78

FIGURA 18 – SEQUÊNCIA DE TRAÇÃO DO CORPO DE PROVA DISTAL (CPD) ATÉ SUA RUPTURA COMPLETA	79
FIGURA 19 – GRÁFICO ESTUDO DE TRAÇÃO NOS CORPOS DE PROVA...	80
FIGURA 20– EXEMPLO DE LÂMINA COM A COLORAÇÃO DE HEMATOXILINA-EOSINA DO LOCAL DA ANASTOMOSE.....	81
FIGURA 21 – EXEMPLO DE ACHADOS HISTOLÓGICOS DIGITALIZADOS PARA ANÁLISE DE DEPOSIÇÃO DE COLÁGENO. IMAGEM CAPTADA DIRETAMENTE DA MICORSCOPIA PELA CÂMERA SONY E CAPTURADA DA TELA DO COMPUTADOR	82
FIGURA 22 – EXEMPLO DE ACHADOS HISTOLÓGICOS DIGITALIZADOS PARA ANÁLISE DE DEPOSIÇÃO DE COLÁGENO. IMAGEM CAPTADA DIRETAMENTE DA MICORSCOPIA PELA CÂMERA SONY E CAPTURADA DA TELA DO COMPUTADOR. Demarcação do colágeno tipo I	83
FIGURA 23 – EXEMPLO DE ACHADOS HISTOLÓGICOS DIGITALIZADOS PARA ANÁLISE DE DEPOSIÇÃO DE COLÁGENO. IMAGEM CAPTADA DIRETAMENTE DA MICORSCOPIA PELA CÂMERA SONY E CAPTURADA DA TELA DO COMPUTADOR. Demarcação do colágeno tipo III.....	84
FIGURA 24 – EXEMPLOS DE LÂMINA CORADA COM MARCADOR CD 31 CORANDO CÉLULAS ENDOTELIAIS, AUMENTO DE 200 VEZES (SETAS)	86
FIGURA 25 – EXEMPLOS DE LÂMINA CORADA COM MARCADOR CALPONINA CORANDO MIOFIBROBLASTOS, AUMENTO DE 400 VEZES (SETAS).....	87
FIGURA 26 – EXEMPLOS DE LÂMINA CORADA COM MARCADOR KI-67 CORANDO CÉLULAS EM FASE ATIVA DO CICLO CELULAR, AUMENTO DE 400 VEZES (SETAS).....	87

LISTA DE GRÁFICOS

GRÁFICO 1 – EVOLUÇÃO DE PESO DOS ANIMAIS.....	92
GRÁFICO 2 – MÉDIAS DOS PESOS NOS GRUPOS NO DIA 1.....	92
GRÁFICO 3 – MÉDIAS DOS PESOS NOS GRUPOS NO DIA DA CIRURGIA	93
GRÁFICO 4 – MÉDIAS DOS PESO NOS GRUPOS DESNUTRIDOS NO DIA DA CIRURGIA	94
GRÁFICO 5 – FORÇA MÁXIMA DE TRAÇÃO (FMT) NOS GRUPOS	97
GRÁFICO 6 – FORÇA DE RUPTURA COMPLETA (FRC) NOS GRUPOS	97
GRÁFICO 7 – TENSÃO MÁXIMA (TM) NOS GRUPOS	98
GRÁFICO 8 – INTENSIDADE DO INFILTRADO INFLAMATÓRIONO (ATIVIDADE CELULAR) PELA COLORAÇÃO DE HE.....	99
GRÁFICO 9 – INTENSIDADE DO EDEMA PELA COLORAÇÃO DE HE.....	100
GRÁFICO 10 – INTENSIDADE DA CONGESTÃO VASCULAR PELA COLORAÇÃO DE HE.....	100
GRÁFICO 11 – INTENSIDADE DO TECIDO DE GRANULAÇÃO PELA COLORAÇÃO DE HE.....	101
GRÁFICO 12 – INTENSIDADE DA FIBROSE PELA COLORAÇÃO DE HE	101
GRÁFICO 13 – ÍNDICE DE MATURAÇÃO DO COLÁGENO (IMAC) MÉDIO ..	103
GRÁFICO 14 – MÉDIAS DO NÚMERO DE VASOS SANGUÍNEOS PELO MARCADOR CD 31.....	104
GRÁFICO 15 – MÉDIAS DO NÚMERO DE MIOFRIBROBLASTOS (CALPONINA).....	105
GRÁFICO 16 – MÉDIAS DO NÚMERO DE CÉLULAS EM PROLIFERAÇÃO (KI67)	106

LISTA DE QUADROS

QUADRO 1 – INTENSIDADE DOS ACHADOS HISTOLÓGICOS PELA TÉCNICA DE HEMATOXILINA-EOSINA	81
QUADRO 2 – ÍNDICE DE MATURAÇÃO DO COLÁGENO (IMaC).....	84
QUADRO 3 – RESUMO DOS ÓBITOS.....	106
QUADRO 4 – RESUMO DA ESTENOSE DA ANASTOMOSE	106
QUADRO 5 – RESUMO DOS ACHADOS DAS VARIÁVEIS AVALIADAS	107

LISTA DE TABELAS

TABELA 1 – COMPOSIÇÃO MÉDIA DOS ÁCIDOS GRAXOS NO AZEITE DE OLIVA EXTRA-VIRGEM.....	58
TABELA 2 – COMPOSIÇÃO DO AZEITE DE OLIVA UTILIZADO.....	73
TABELA 3 – EVOLUÇÃO A ÓBITO DOS RATOS.....	90
TABELA 4 – PESO DOS ANIMAIS (EM GRAMAS) POR GRUPOS (MÉDIA ± ERRO PADRÃO).....	91
TABELA 5 – ACHADOS INTRA-ABDOMINAIS APÓS A MORTE DOS ANIMAIS	94
TABELA 6 – INTENSIDADE DAS ADERÊNCIAS POR GRUPOS.....	95
TABELA 7 – FORÇA MÁXIMA DE TRAÇÃO (FMT), FORÇA DE RUPTURA COMPLETA (FRC) E TENSÃO MÁXIMA (TM) NOS GRUPOS, MEDIDAS EM NEWTONS (N).....	96
TABELA 8 – ÍNDICE DE INTENSIDADE DOS ACHADOS HISTOLÓGICOS PELA TÉCNICA DE HEMATOXILINA-EOSINA. (MÉDIA±ERRO PADRÃO)...	99
TABELA 9 – ÍNDICE DE MATURAÇÃO DO COLÁGENO (IMAC) MÉDIO POR GRUPOS.....	102
TABELA 10 – ACHADOS IMUNOISTOQUÍMICOS PELOS MARCADORES CD 31, CALPONINA E KI67.....	104

LISTA DE ABREVIATURAS

gf	–	gramaforça
Kgf/cm ²	–	quilogramaforça/centímetro quadrado
μM	–	micromol
mg/Kg	–	miligramas/kilograma
mg/ml	–	miligrama/mililitro
ml/Kg	–	mililitros/kilograma
mm/minuto	–	milímetro/minuto
mol/g	–	mol/grama
n	–	número
N	–	Newtons
N/cm ²	–	Newtons/centímetro quadrado
ng	–	nanograma
nmol	–	nanomol
vs	–	<i>versus</i>

LISTA DE SIGLAS

AA	–	ácido araquidônico
ACTION	–	<i>Adjuvant ChemoTherapy In Ovarian Neoplasm</i>
AGCC	–	ácidos graxos de cadeia curta
ALNA	–	ácido alfa-linolênico
ANOVA	–	análise de variância de médias
CAP	–	ciclofosfamida, doxorubicina e cisplatina
CD31	–	<i>cluster of differentiation 31</i>
COBEA	–	Colégio Brasileiro de Experimentação Animal
COX	–	ciclo-oxigenase
CPP	–	corpo de prova proximal
CPD	–	corpo de prova distal
DAS	–	ratos desnutridos, azeite, salina
DAP	–	ratos desnutridos, azeite-paclitaxel
DOP	–	ratos desnutridos, ômega-3-paclitaxe
DHA	–	ácido docosahexanóico
DNA	–	ácido desoxirribonucleico
DOS	–	ratos desnutridos, ômega-3-salina
DPA	–	ácido docosapentanóico
EGF	–	fator de crescimento epidérmico
EPA	–	ácido eicosapentanóico
FMT	–	força máxima de tração
FRC	–	força de ruptura completa
GLA	–	ácido gama-linolênico
HE	–	hematoxilina-eosina
ICON 1	–	<i>International Collaborative Ovarian Neoplasm – trial 1</i>
IL-1 β	–	interleucina 1 β
IMaC	–	índice de maturação de colágeno
LOX	–	lipo-oxigenase
LTB	–	leucotrieno B
NAS	–	ratos nutridos, azeite, salina

NAP	–	ratos nutridos, azeite-paclitaxel
NOP	–	ratos nutridos, ômega-3-paclitaxel
NOS	–	ratos nutridos, ômega-3-salina
PC	–	prostaciclina
PCR	–	proteína C reativa
PECAM-1	–	molécula de adesão celular endotelial plaquetária 1
PGDF	–	fator de crescimento derivado das plaqueta
PGE	–	prostagaldina E
PGF	–	prostaglandina F
PSR	–	picro-sirius red
PUFA	–	ácidos graxos poli-insaturados
RNA	–	ácido ribonucleico
SRF	–	Sirius-red F3BA
TGF- β	–	fator de crescimento e transformação beta
TM	–	tensão máxima
TNF	–	fator de necrose tumoral
TX	–	tromboxano
ω -3	–	ácido graxo ômega-3
ω -6	–	ácido graxo ômega-6
ω -9	–	ácido graxo ômega-9

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	23
2 OBJETIVO.....	26
3 REVISÃO DE LITERATURA.....	28
3.1 CÂNCER DE OVÁRIO	28
3.1.1 Tratamento do câncer de ovário.....	28
3.1.1.1 Tratamento cirúrgico do câncer de ovário	28
3.1.1.2 Tratamento quimioterápico do câncer de ovário	30
3.1.1.2.1 Paclitaxel	31
3.2 CICATRIZAÇÃO DAS FERIDAS CIRÚRGICAS	33
3.2.1 Cicatrização das anastomoses intestinais.....	36
3.2.2 Efeitos da quimioterapia sobre a cicatrização	39
3.2.2.1 Efeitos da quimioterapia sobre a cicatrização em geral	39
3.2.2.2 Efeitos da quimioterapia sobre a cicatrização das anastomoses colônicas.....	40
3.3 NUTRIÇÃO E A CICATRIZAÇÃO	43
3.3.1 Efeitos da desnutrição sobre a cicatrização	44
3.3.2 Efeitos da desnutrição sobre a cicatrização das anastomoses colônicas.....	45
3.3.3 Efeitos da renutrição sobre a cicatrização das anastomoses.....	47
3.4 ÁCIDOS GRAXOS.....	48
3.4.1 Ácidos graxos ômega-3.....	49
3.4.1.1 Efeitos dos ácidos graxos ômega-3 sistêmicos sobre a proliferação celular e o processo inflamatório	50
3.4.1.2 Efeitos dos ácidos graxos ômega-3 sobre a mucosa colônica.....	55
3.4.1.3 Efeitos dos ácidos graxos ômega-3 sobre a cicatrização.....	55

3.4.1.4 Efeitos dos ácidos graxos ômega-3 sobre a cicatrização das anastomoses colônicas.....	56
3.4.2 Ácidos graxos ômega-9.....	57
3.4.2.1 Propriedades inflamatórias dos ácidos graxos ômega-9	57
3.4.2.2 Propriedades inflamatórias dos ácidos graxos ômega-9 versus ômega-3.....	59
3.5 MÉTODOS DE AVALIAÇÃO DA CICATRIZAÇÃO DAS ANASTOMOSES INTESTINAIS.....	59
3.5.1 Parâmetros evolutivos	60
3.5.2 Parâmetros mecânicos.....	60
3.5.2.1 Pressão de ruptura.....	61
3.5.2.2 Força de ruptura	61
3.5.3 Parâmetros histológicos.....	63
3.5.4 Parâmetros imunoistoquímicos.....	64
3.5.4.1 CD 31.....	65
3.5.4.1.1 CD 31 como método imunoistoquímico de avaliação da cicatrização das anastomoses colônicas.....	65
3.5.4.2 Ki67.....	66
3.5.4.2.1 Ki67 como método imunoistoquímico de de avaliação da cicatrização das anastomoses colônicas.....	66
3.4.4.3 Calponina.....	67
4 MATERIAL E MÉTODO	69
4.1 ANIMAIS.....	69
4.2 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL.....	70
4.3 SOLUÇÕES LIPÍDICAS	72
4.4 PROCEDIMENTO CIRÚRGICO.....	73
4.4.1 Pré-operatório.....	73
4.4.2 Per-operatório.....	73
4.4.3 Pós-operatório	74

4.5 QUIMIOTERAPIA	74
4.6 MORTE DOS ANIMAIS	75
4.7 DADOS AVALIADOS.....	75
4.7.1 Peso do animal.....	75
4.7.2 Evolução clínica.....	76
4.7.3 Achados intra-abdominais pós-morte.....	76
4.7.3.1 Infecção de sítio cirúrgico.....	77
4.7.3.2 Aderências.....	77
4.7.3.3 Complicações anastomóticas.....	77
4.7.4 Força tênsil.....	78
4.7.5 Avaliação anátomo-patológica.....	80
4.7.5.1 Hematoxilina-eosina	80
4.7.5.2 <i>Picrosirius-red</i>	81
4.7.6 Avaliação imunoistoquímica	83
4.7.6.1 Número de vasos sanguíneos.....	85
4.7.6.2 Número de miofibroblastos.....	86
4.7.6.3 Número de células em proliferação.....	87
4.8 ANÁLISE ESTATÍSTICA	88
5 RESULTADOS.....	90
5.1 EVOLUÇÃO.....	90
5.2 PESO DO ANIMAL.....	90
5.3 ACHADOS INTRA-ABDOMINAIS PÓS-MORTE.....	94
5.3.1 Infecção de sítio cirúrgico	95
5.3.2 Complicações anastomóticas	95
5.3.2.1 Deiscência de anastomose.....	95
5.3.2.2 Estenose de anastomose.....	95
5.3.3 Aderências.....	96
5.4 FORÇA TÊNSIL.....	96
5.5 AVALIAÇÃO ANÁTOMO-PATOLÓGICA.....	98

5.5.1 Avaliação por hematoxilina-eosina (HE).....	98
5.5.2 Avaliação por picro-sirius (PS)	102
5.6 AVALIAÇÃO IMUNOISTOQUÍMICA.....	103
5.6.1 Número de vasos sanguíneos (CD31).....	103
5.6.2 Número de miofibroblastos (Calponina)	105
5.6.3 Número de células em proliferação (KI67)	105
5.7 RESUMO DOS ACHADOS	106
6 DISCUSSÃO	109
6.1 EM RELAÇÃO AO MODELO EXPERIMENTAL.....	109
6.1.1 Em relação a escolha da dose do paclitaxel	110
6.2 EM RELAÇÃO A SUPLEMENTAÇÃO NUTRICIONAL PRÉ-OPERATÓRIA	110
6.2.1 Em relação ao ômega 3	111
6.2.2 Em relação a escolha do ômega-9 como controle	111
6.3 EM RELAÇÃO AO MODELO EXPERIMENTAL DE DESNUTRIÇÃO	112
6.4 EM RELAÇÃO A ESCOLHA DOS MÉTODOS DE AVALIAÇÃO	113
6.4.1 Parâmetros evolutivos	113
6.4.2 Parâmetros tensiométricos	114
6.4.3 Parâmetros histológicos	115
6.4.3.1 Histologia convencional – hematoxilina-eosina	115
6.4.3.2 Densitometria do colágeno	116
6.4.4 Parâmetros imunoistoquímicos	116
6.5 EM RELAÇÃO A ANÁLISE DOS RESULTADOS	117
6.5.1 Parâmetros evolutivos	117
6.5.1.1 Óbito	117
6.5.1.2 Achados intra-abdominais	118
6.5.1.3 Peso.....	118
6.5.2 Parâmetros tensiométricos	119
6.5.3 Parâmetros histológicos	121
6.5.3.1 Histologia convencional – hematoxilina-eosina	121

6.5.3.2 Densitometria do colágeno	122
6.5.4 Parâmetros imunoistoquímicos	123
6.5.4.1 Número de vasos sanguíneos	123
6.5.4.2 Número de miofibroblastos	123
6.5.4.3 Número de células em proliferação	124
6.6 CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	124
7 CONCLUSÃO.....	127
REFERÊNCIAS.....	129
APÊNDICE 1 - TABELAS DE RESULTADOS	146
APÊNDICE 2 - LEITURA COMPLEMENTAR.....	170
ANEXO 1 - ESTADIMENTO DO CÂNCER DE OVÁRIO.....	190
ANEXO 2 - PARECER DO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA DA UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MARINGÁ.....	191
ANEXO 3 - CERTIFICADO DE QULIDADE DO ÔMEGA-3	192
ANEXO 4 - DECLARAÇÃO DA FORMULAÇÃO DA SOLUÇÃO DE ÔMEGA-3.....	193

INTRODUÇÃO

1 INTRODUÇÃO

O câncer de ovário corresponde à segunda neoplasia ginecológica mais comum no Brasil, porém é a de maior letalidade. Estimam-se 5.680 casos novos de câncer de ovário para o Brasil no ano de 2014, com risco estimado de 5,58 casos a cada 100 mil mulheres (INSTITUTO NACIONAL DO CÂNCER, 2013).

Siegel *et al.* (2011) apresentam este câncer como responsável por mais de 15.000 mortes dos quase 22.000 casos novos de câncer de ovário no ano de 2011 nos Estados Unidos. Estima-se que 1 em 70 mulheres (1,4%) desenvolverá câncer de ovário durante sua vida (CRAMER, 1986).

Este estudo experimental foi desenhado baseado no modelo da prática clínica observado nas pacientes com câncer de ovário. De forma frequente o câncer de ovário como *silent killer* (MARTINEZ; SCHRAY; HOWES, 1985) torna-se sintomático e tem seu diagnóstico feito já na presença de disseminação peritoneal, isto é, em fase avançada.

O tratamento do câncer de ovário baseia-se inicialmente no procedimento cirúrgico com o objetivo de diagnóstico e do estadiamento correto. Preconiza-se já no primeiro ato operatório, sempre que possível, a ressecção do tumor primário mediante a histerectomia total com salpingooforectomia bilateral e das metástases na cavidade peritoneal, pois, segundo Du Bois *et al.* (2005), a quimioterapia pós-operatória é mais efetiva quando a doença residual for mínima, isto é, quando o diâmetro for menor que 0,5 cm.

A terapia adjuvante padrão preconizada para tumores estágio IC ou qualquer paciente com doença estágio II (ANEXO 1), como apresentado por Neijt *et al.* (2000) no estudo ACTION (*Adjuvant Chemotherapy in Ovarian Neoplasm Trial*), é baseada no uso de paclitaxel associado a carboplatina, normalmente iniciados idealmente até um mês após o procedimento cirúrgico.

Ao chegar para atendimento especializado a paciente com câncer de ovário frequentemente já se apresenta em estado consumido com perda de peso e quadro instalado de desnutrição (PALESTY; DUDRICK, 2003). Em mais de 50% dos casos, o quadro de desnutrição é significativo e compromete a eficácia do tratamento, aumentando a morbidade e a mortalidade (CORREIA *et al.*, 2001; WAITZBERG *et al.*, 2001; BALOGUN *et al.*, 2012; LAMEU; POZIOMYCK; MOREIRA, 2013). Neste ambiente de desnutrição, a abordagem inicial é a intervenção cirúrgica na qual

frequentemente é necessária a ressecção de segmentos intestinais com o objetivo da citorredução e com conseqüente realização de anastomoses intestinais (VAN DER BURG, 1995). Sendo a quimioterapia etapa crucial no tratamento do câncer de ovário, esta anastomose intestinal, na paciente já desnutrida, tem sua cicatrização se processando sob o efeito desta quimioterapia (DU BOIS *et al.*, 2005).

A ingestão alimentar pré-operatória, em pacientes com estado nutricional comprometido, é determinante para garantir que o processo de cicatrização ocorra de forma adequada no pós-operatório (MARTINDALE *et al.*, 2009; CAMPOS, 2013). O suporte nutricional perioperatório é geralmente recomendado para pacientes com desnutrição moderada ou grave e que tolerem esperar pelo menos 7 dias para cirurgia eletiva (BRAGA *et al.*, 2002; KAVALUKAS; BARBUL, 2011; MARTINDALE; MCCLAVE; MCCARTHY, 2013; CAMPOS, 2013).

Este processo de renutrição no pré-operatório em pacientes com câncer de ovário nem sempre é possível, pois além da inapetência induzida pela doença (PALESTY; DUDRICK, 2003; EVANGELISTA; SANTOS, 2012) frequentemente há associação da doença com quadro sub-oclusivo intestinal por disseminação peritoneal da doença (BENEDET *et al.*, 2000; LAMEU; POZIOMYCK; MOREIRA, 2013). Embora a renutrição adequada seja difícil no pré-operatório destes pacientes, a suplementação com elementos nutricionais específicos com pequenos volumes pode ser alternativa para minimizar os efeitos da desnutrição pré-operatória. E se, além disso, este substrato tiver papel modulador no *processo* de cicatrização, possibilita que ele transcorra com menores conseqüências da desnutrição.

Neste cenário os ácidos graxos ômega-3 têm sido propostos como elemento nutricional que possibilitam aporte calórico e modulação favorável do processo inflamatório e de cicatrização (CALDER, 2001a; WAITZBERG; TORRINHAS; JACINTO, 2006; TODD *et al.*, 2008, TORRINHAS; RODRIGUES; WAITZBERG, 2013).

Estudos experimentais com metodologias semelhantes a este foram conduzidos para avaliar o efeito do paclitaxel na anastomose colônica de ratos e observaram que, quando administrado no pós-operatório destas anastomoses, este quimioterápico traz prejuízos ao processo de cicatrização (YUCEYAR; ERTURK; TEMIZ, 2005; BOZKURTOGLU *et al.*, 2005). Não foram encontrados, no entanto, trabalhos que avaliassem os efeitos dos ácidos graxos ômega-3 na cicatrização destas anastomoses.

OBJETIVO

2 OBJETIVO

O presente estudo tem o objetivo de avaliar o efeito da suplementação pré-operatória de ácidos graxos ômega-3 sobre a cicatrização das anastomoses colônicas em ratos desnutridos que receberam paclitaxel intra-peritoneal no per-operatório pelos seguintes parâmetros:

- 1 – Parâmetros evolutivos;
- 2 – Tensiometria;
- 3 – Parâmetros histológicos;
- 4 – Densitometria do colágeno;
- 5 – Quantificação da angiogênese, do número de miofibroblastos e do número de células em proliferação.

3 REVISÃO DE LITERATURA

3.1 CÂNCER DE OVÁRIO

O câncer de ovário é a quinta causa mais comum de morte por câncer em mulheres. A estimativa do Instituto Nacional do Câncer é de 5.680 casos novos para o Brasil no ano de 2014, com risco estimado de 5,58 casos a cada 100 mil mulheres (INSTITUTO NACIONAL DO CÂNCER, 2013).

Segundo Ellenson (2005), do ponto de vista histológico, os tumores de ovário podem ser dividido em três grupos: tumores da linhagem epitelial, tumores da linhagem estromal-cordão sexual e tumores da linhagem germinativa. Os tumores epiteliais do ovário correspondem por cerca de 70% dos casos de todos os tumores ovarianos. Os tumores epiteliais malignos do ovário respondem por mais de 90% dos tumores malignos deste órgão e são os que melhor respondem ao tratamento.

Benedet *et al.* (2000) mostraram que mais de 60% dos casos de câncer de ovário são diagnosticados em fase avançada, isto é nos estágios III e IV (ANEXO 1).

3.1.1 Tratamento do câncer de ovário

3.1.1.1 Tratamento cirúrgico do câncer de ovário

A ressecção cirúrgica é o procedimento terapêutico inicial preconizado no tratamento do câncer ovariano. O procedimento cirúrgico consiste habitualmente na histerectomia total com salpingo-ooforectomia bilateral. Quando houver evidência de implantes tumorais intra-abdominais, preconiza-se a ressecção destes com o objetivo de que a doença residual tenha menos que 0,5 cm de diâmetro, isto é, cirurgia citorrredutora ideal (DU BOIS *et al.*, 2005).

O conceito de citorredução foi introduzido por Hoskins *et al.* (1992) que mostraram que a sobrevida livre de doença e a sobrevida global de pacientes com doença inicial menor que 1,0 cm diâmetro na cavidade pélvica e abdominal foram maiores. Em seu artigo publicado em 1994, o mesmo grupo de autores mostrou sobrevida significativamente maior entre as pacientes com doença residual < 2 cm em relação àquelas com doença ≥ 2 cm ($p < 0,01$).

Neste sentido Eisenkop *et al.* (1993) avaliaram, em seu estudo, três grupos de pacientes: grupo A - pacientes sem doença macroscópica após cirurgia de citorredução, sem necessidade de ressecções peritoneais adicionais, grupo B - pacientes sem doença macroscópica após cirurgia de citorredução, porém com necessidade de ressecções peritoneais adicionais e grupo C - pacientes com doença macroscópica após cirurgia de citorredução, apesar da realização de ressecções peritoneais adicionais. A análise da sobrevida média foi significativamente maior nos grupos A e B em relação ao grupo C, sugerindo que a cirurgia de citorredução é importante fator no tratamento das pacientes com câncer de ovário no estágio clínico IIIC.

A citorredução tem papel importante no tratamento do câncer de ovário seja como abordagem inicial quando a doença residual for menor que 0,5 cm, ou após a quimioterapia de indução, quando a doença residual for maior que 1,0 cm de diâmetro após o primeiro ato operatório; neste caso chamada de cirurgia citoredutora de intervalo. Van der Burg *et al.* (1995) mostraram aumento significativo na sobrevida livre de progressão e na sobrevida global em pacientes submetidas a cirurgia citoredutora de intervalo quando comparadas com pacientes não submetidas a tal procedimento.

A cirurgia citoredutora tem ainda papel importante no tratamento do câncer de ovário recorrente após tratamento completo com cirurgia e quimioterapia, a chamada cirurgia citoredutora secundária. Eisenkop, Friedman e Spirtos (2000) mostraram que a sobrevida média de pacientes com recidiva de câncer de ovário após mais de 6 meses de tratamento, submetidas a cirurgia citoredutora secundária efetiva (sem doença residual visível), foi de 44,4 meses, enquanto a sobrevida média das pacientes com cirurgia citoredutora secundária incompleta (doença residual após ressecção cirúrgica) foi de 19,3 meses ($p=0,007$).

Em 1998 Sugarbaker propôs abordagem mais radical no tratamento de neoplasias com disseminação peritoneal extensa, porém sem evidência de doença em outros sítios fora da cavidade peritoneal. A conduta proposta envolvia a peritonectomia associada ou não à ressecção visceral (p. ex.: estômago, apêndice cecal, cólon) com o intuito de retirar toda doença macroscópica existente. No intra-operatório, após a ressecção cirúrgica, era iniciada quimioterapia intra-peritoneal hipertérmica (42° a 43° C) com o objetivo de potencializar sua absorção pelas células neoplásicas remanescentes intensificando sua eficácia. Um dos primeiros

estudos publicados utilizando esta metodologia foi o de Yonemura *et al.* (1996). Estes autores mostraram que pacientes com câncer de estômago com disseminação peritoneal (sem doença extra-peritoneal) submetidos a ressecção radical das lesões seguida de quimioterapia intra-peritoneal hipertérmica (42° a 43° C) intra-operatória com mitomicina associada a etoposido e cisplatina, tiveram sobrevida global em 1 e 5 anos de 43% e 11% respectivamente.

Bristow *et al.* (2002) em sua meta-análise mostraram que houve correlação positiva entre a citorredução máxima e o tempo médio de sobrevida nas pacientes com câncer de ovário avançado, e esta correlação permaneceu significativa após controlar todas as outras variáveis ($p < 0,001$). Observaram que cada aumento de 10% na máxima citorredução foi associado com aumento de 5,5% no tempo de sobrevida média.

Rufia *et al.* (2006) utilizaram metodologia semelhante a apresentada por Sugarbaker (1998) para o tratamento da neoplasia ovariana com disseminação intra-peritoneal extensa. Os autores estudaram 33 pacientes submetidas a cirurgia citorrredutora ideal por neoplasia maligna de ovário estágio III (ANEXO 1), seguida de quimioterapia intra-peritoneal hipertérmica com paclitaxel, seguida de quimioterapia sistêmica com cisplatina e paclitaxel. As pacientes apresentaram sobrevida em 5 anos de 63%. Kim *et al.* (2010) e Tentes *et al.* (2012), utilizando metodologias semelhantes, realizaram cirurgia citorrredutora ideal para neoplasia ovariana com disseminação peritoneal extensa, como no estágio clínico III (ANEXO 1) seguida de quimioterapia intra-peritoneal hipertérmica e obtiveram sobrevida global em 8 anos de 84% e em 5 anos de 54%, respectivamente.

Peiretti *et al.* (2012), em estudo multicêntrico, mostraram a incidência de complicações anastomóticas (fístula e abscesso) em 6,7% dos casos de pacientes submetidas a ressecções de segmentos colônicos durante a cirurgia de citorredução para tratamento do câncer de ovários nos estádios IIC-IV (ANEXO 1).

3.1.1.2 Tratamento quimioterápico do câncer de ovário

A quimioterapia adjuvante, isto é, profilática, tem sido utilizada desde a década de 80 e tem mostrado aumento na sobrevida livre de doença e na sobrevida global. Young, Walton e Elenberg (1990) mostraram que a utilização de melfalan

produziu aumento na sobrevida livre de doença e na sobrevida global nas pacientes com câncer de ovário estágio I e II (ANEXO 1).

A eficácia na utilização de drogas quimioterápicas de maneira adjuvante no tratamento das doenças malignas, como o tumor de ovário, dependem fundamentalmente da precocidade de seu início (DU BOIS *et al.*, 2005).

O estudo multicêntrico ICON 1 (*International Collaborative Ovarian Neoplasm – trial 1*) mostrou que a quimioterapia adjuvante com esquemas baseados em platina (carboplatina) como monoterapia e CAP (ciclofosfamida, doxorrubicina e cisplatina) produziu aumento significativo na sobrevida livre de doença em 5 anos e na sobrevida global (COLOMBO; GUTHRIE; CHIARI, 2003).

Outro estudo multicêntrico, o ACTION (*Adjuvant ChemoTherapy In Ovarian Neoplasm*), com desenho semelhante ao estudo acima (ICON 1), mostrou resultados semelhantes com aumentos significativos na sobrevida livre de doença em 5 anos e na sobrevida global (TRIMBOS; PARMAR; VERGOTE, 2003).

Em meta-análise, Colombo *et al.* (2006) mostraram que a quimioterapia adjuvante com esquemas baseados em platina tem evidência nível 1 no aumento da sobrevida livre de recorrência em 5 anos e na sobrevida global.

Estudos e revisões mais recentes têm mostrado benefício na associação do paclitaxel à platina na terapia adjuvante do câncer de ovário. Du Bois *et al.* (2005) na Terceira Conferência de Consenso do Câncer Ovariano do Intergupo do Câncer Ginecológico em 2004 estabeleceram que a abordagem inicial do câncer de ovário é feita com ressecção cirúrgica tendo como objetivo a cirurgia citorrredutora ideal, isto é com doença residual menor que 0,5 cm de diâmetro. Definiram também que o esquema padrão de quimioterapia para o tratamento do câncer de ovário (estádio clínico II-IV) é baseado na associação de paclitaxel à carboplatina.

Armstrong *et al.* (2006) mostraram que a associação de paclitaxel à cisplatina, com administração intra-peritoneal, aumenta a sobrevida livre de recorrência e a sobrevida global em pacientes com câncer de ovário estágio III submetidas a cirurgia citorrredutora ideal.

3.1.1.2.1 Paclitaxel

O paclitaxel é agente antineoplásico diterpeno, isolado da casca do caule do teixo *Taxus brevifolia*, que inibe a intérfase e a despolimerização e reorganização da

rede de microtúbulos. Esta estabilidade resulta na inibição da reorganização dinâmica normal da rede de microtúbulos que é essencial para as funções celulares, provocando bloqueio da divisão celular na fase G2 da mitose. O nome químico para o paclitaxel é 5 β ,20-Epoxy-1,2 α ,4,7 β ,10 β ,13 α -hexahydroxytax-11-en-9-one4,10-diacetate2-benzoate13-ester(2R,3S)-N-benzoyl-3-phenylisoserine.

O paclitaxel tem a seguinte fórmula estrutural (FIGURA 1):

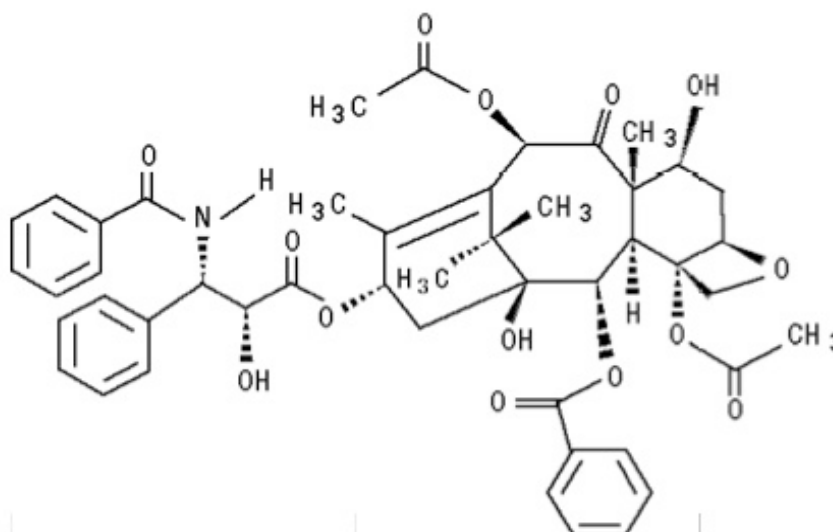


FIGURA 1 – FÓRMULA ESTRUTURAL DA MOLÉCULA DO PACLITAXEL
 FONTE: KLEIN *et al.* (2005).

Os primeiros estudos com paclitaxel foram feitos na década de 30 por laboratório francês, sendo utilizado como laxativo. Em 1969 surgiram os primeiros estudos laboratoriais mostrando sua atividade citotóxica. Em 1979, Susan Horwitz, farmacologista molecular do Albert Einstein College of Medicine descreveu o mecanismo de ação da droga e sua atuação na estabilização dos microtúbulos com especial efeito anti-angiogênico (KLEIN *et al.*, 2005). Os primeiros ensaios clínicos começaram em 1988 com o uso do paclitaxel como droga de segunda linha para o tratamento do câncer de ovário refratário (McGUIRE *et al.*, 1989) e melanoma maligno metastático (LEGHA *et al.*, 1990).

Em 2002, Harper e Colombo publicaram um dos primeiros estudos comparando o paclitaxel associado à carboplatina com os esquemas padrões de adjuvância utilizados até então, o esquema CAP (ciclofosfamida, doxorrubicina e cisplatina) e a carboplatina como monoterapia. Os autores avaliaram sobrevida global, sobrevida livre de progressão e toxicidade. As pacientes tiveram seguimento

médio de 51 meses. Os autores não encontraram diferença significativa na sobrevida global média entre os grupos, que foi de 36,1 meses no grupo que recebeu paclitaxel associado à carboplatina e de 35,4 meses no grupo controle (CAP e carboplatina), $p=0,74$. A sobrevida livre de progressão também não apresentou diferença significativa, sendo de 17,3 meses no grupo que utilizou paclitaxel com carboplatina e de 16,1 meses no grupo controle ($p=0,16$). A toxicidade foi maior no grupo do paclitaxel + carboplatina quando comparado com o controle. A avaliação dos autores foi de que não havia claro benefício na utilização da associação paclitaxel e carboplatina como primeira linha do tratamento quimioterápico adjuvante para o câncer de ovário.

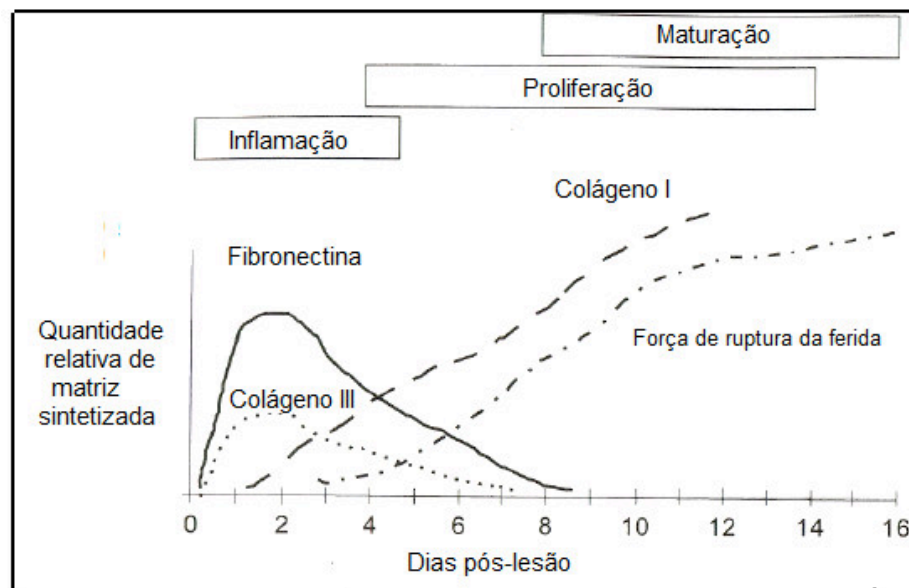
Vários estudos posteriores, no entanto, têm proposto a combinação de paclitaxel com drogas a base de platina (cisplatina, carboplatina) como padrão de quimioterapia adjuvante em câncer de ovário. Ozols *et al.* (2003), Bell *et al.* (2006), Harvilesky *et al.* (2008), Pecorelli *et al.* (2009) e Gruenigen *et al.* (2012) utilizaram paclitaxel associado à cisplatina ou carboplatina na terapia adjuvante de pacientes com neoplasia ovariana na avaliação de vários aspectos da terapia do câncer de ovário tais como quantidade de ciclos na adjuvância (BELL *et al.*, 2006), custo-efetividade da associação paclitaxel e carboplatina endovenosa versus intraperitoneal (HARVILESKY *et al.*, 2008), necessidade de consolidação (PECORELLI *et al.*, 2009), sobrevida global versus qualidade de vida (GRUENIGEN *et al.*, 2012).

O consenso vigente que foi estabelecido na Terceira Conferência de Consenso do Câncer Ovariano do Intergrupo do Câncer Ginecológico em 2004 é que a abordagem inicial do câncer de ovário é feita com ressecção cirúrgica tendo como objetivo a cirurgia citorrredutora ideal seguida de quimioterapia com carboplatina associada ao paclitaxel (DU BOIS *et al.*, 2005)

3.2 CICATRIZAÇÃO DAS FERIDAS CIRÚRGICAS

A cicatrização é processo de reparo tecidual que obedece sequência de eventos comuns a todas as feridas independentemente do agente que a produziu. É processo sistêmico e dinâmico diretamente relacionado com as condições gerais do organismo (BROUGHTON; JANIS; ATTINGER, 2006a; URDIALES, 2006; CAMPOS; BRANCO; GROTH, 2007; CAMPOS, 2013). Em 1910, Carrel fez a primeira descrição ordenada dos eventos da cicatrização, dividindo-o em quatro etapas:

período de quiescência, período de retração do tecido de granulação, período de epidermização e período cicatricial. Desde então diversos autores propuseram reavaliações da classificação do processo cicatricial (SPAIN; LOEB, 1916; ORGILL; DEMLING, 1988). Em 2005, Clark reclassificou este processo, dividindo-o didaticamente em três etapas: fase inflamatória, fase de proliferação ou de formação do tecido de granulação e fase de remodelamento tecidual ou de maturação.



ADAPTADO DE WITTE; BARBUL, 1997

FIGURA 2 – FASES DA CICATRIZAÇÃO DA FERIDA
 FONTE: TRUBIAN (2008).

A fase inflamatória inicia-se logo após a lesão tecidual (FIGURA 2) e é caracterizada por vasoconstrição local decorrente de mediadores vasoativos, como o tromboxane A2, 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 haver saída de fluidos e macromoléculas para o interstício. O passo seguinte é a adesão de neutrófilos atraídos quimiotaticamente pelos mediadores da inflamação, também liberados pelas plaquetas, tais como o fator de crescimento e transformação beta - TGF- β , o fator de crescimento derivado das plaquetas - PGDF e o fator de crescimento epidérmico - EGF (WITTE; BARBUL, 1997; BROUGHTON; JANIS; ATTINGER, 2006a; BROUGHTON, JANIS; ATTINGER, 2006b; CAMPOS; BRANCO; GROTH, 2007; CAMPOS, 2013). Com a chegada dos neutrófilos, inicia-se aí o processo de

“limpeza” da ferida através da lise dos tecidos desvitalizados e dos microorganismos presentes na ferida. As substâncias liberadas pelos neutrófilos começam atrair os macrófagos e monócitos (BROUGHTON; JANIS; ATTINGER, 2006b). Estas serão as células dominantes nos primeiros dias do processo inflamatório complementando a função de “limpeza” da ferida e orquestrando o início do processo de reparação da ferida.

A fase de proliferação celular, como processo contínuo da fase anterior, inicia-se por volta do quarto dia após a lesão (FIGURA 2) e se estende até por volta da segunda semana e é caracterizada pelo aparecimento dos fibroblastos atraídos pelos fatores liberados pelos macrófagos. Esta fase é constituída por quatro processos paralelos: a epitelização, a angiogênese, a proliferação fibroblástica (formação do tecido de granulação) e a deposição do colágeno. Todos estes processos são decorrentes da multiplicação celular e são mediados pela liberação de fatores angiogênicos e fatores de crescimento pelas células inflamatórias (CAMPOS; GROTH; BRANCO, 2008; CAMPOS, 2013). A proliferação fibroblástica é a grande marca desta fase e se dá pelo estímulo dos fatores de crescimento, em especial do PGDF e do TGF- β , que atraem os fibroblastos quiescentes dos tecidos vizinhos e estimulam sua proliferação (BROUGHTON, JANIS; ATTINGER, 2006a; CAMPOS; BRANCO; GROTH, 2007; CAMPOS, 2013).

A terceira fase, de remodelamento tecidual ou de maturação, tem início na segunda semana e é caracterizada pela produção e deposição do colágeno. O colágeno produzido inicialmente é mais fino do que o colágeno presente no tecido normal. Com o tempo, no entanto, este colágeno inicial (tipo III) é reabsorvido e dá lugar ao colágeno mais espesso (tipo I), depositado ao longo das linhas de tensão, que será responsável pelo aumento da força tênsil da ferida (CAMPOS; BRANCO; GROTH, 2007; OKAWA, 2009; CAMPOS, 2013).

A contração e remodelação da ferida são processos mais tardios, responsáveis pela maturação da ferida, que se iniciam por volta do oitavo dia após a lesão e perduram por meses (FIGURA 2). A fase de contração, decorrente da ação dos miofibroblastos, tem como consequência a redução no tamanho da lesão. A fase de remodelação, decorrente da formação de pontes entre as fibras de colágeno (*cross-links*), tem como consequência a formação da cicatriz madura (TRUBIAN, 2008).

O colágeno é a proteína mais abundante do tecido conjuntivo. Já foram descritas dezenove isoformas de colágeno codificadas pelo mesmo gene. A diferença entre os diversos tipos de colágeno está relacionada à sua composição química e determina a sua função biológica (CAMPOS, 2013).

O colágeno tipo I é sintetizado pelos fibroblastos, sendo predominante nos tecidos ósseos e nos tendões. O colágeno tipo III é mais comumente encontrado no tecido conjuntivo de vasos sanguíneos, derme e fâscias. A derme contém 80% de colágeno tipo I e 20% de colágeno tipo III. O tecido de granulação expressa 30 a 40% de colágeno tipo III (ROBSON; STEED; FRANZ, 2001).

3.2.1 Cicatrização das anastomoses intestinais

O processo de cicatrização das anastomoses intestinais obedece às mesmas etapas das demais feridas cirúrgicas como exposto anteriormente. Este processo inicia-se precocemente; cerca de 3 horas após a sua confecção já se observa aumento significativo de neutrófilos atraídos pelos mediadores inflamatórios. Por volta de 12 horas após, os monócitos começam a se acumular na área da anastomose (EKMEKTZOGLOU *et al.*, 2006; OKAWA, 2009).

As etapas da cicatrização se desenvolvem em todas as camadas da estrutura histológica da alça intestinal. Cada camada da parede colônica exibe características específicas e em diferentes intensidades (THORNTON; BARBUL, 1997; URDIALES, 2006). A submucosa é a camada onde ocorrem as etapas mais importantes do processo de cicatrização colônica com restabelecimento da força tênsil da anastomose, pois é este o local de maior proliferação de fibroblastos com produção da maior concentração de colágeno (COSTA, 2003; TRUBIAN, 2008). Na camada muscular também ocorre proliferação fibroblástica, a partir da diferenciação das células musculares lisas e das células mesenquimais indiferenciadas, por volta do 3º dia (URDIALES, 2006; OKAWA, 2009). A serosa, composta pelo peritônio visceral, também desempenha papel importante na cicatrização. Goligher, Graham e Dombal (1970) mostraram que estruturas desprovidas de serosa estavam sujeitas a maior incidência de fístula.

Okawa (2009), citando Hermann, Woodward e Pulaski (1964), mostrou que estes autores observaram, em ratos, que a seqüência de eventos que ocorre na cicatrização das anastomoses digestivas é semelhante à que ocorre nos demais

tecidos, sendo que a fase inflamatória estendeu-se até o quarto dia, a fase de fibroplasia até o décimo quarto dia e, a partir daí, a fase de maturação. Estes autores sugeriram que as alterações histológicas da cicatrização eram responsáveis pela força da anastomose e identificaram três diferentes fases:

- Fase Lag (quiescência): predominância de edema e inflamação, ocorrendo entre o dia da cirurgia e o 4° dia de pós-operatório, momento em que a força da ferida é dependente do reforço artificial das suturas;
- Fase Logarítmica (fibroplasia): proliferação de fibroblastos com rápido ganho de força tênsil, ocorrendo entre 3 e 14 dias;
- Fase Estacionária (maturação): remodelamento das fibras colágenas, iniciando-se em torno do 10° dia de pós-operatório.

Assim como no processo de cicatrização das feridas em geral, o processo cicatricial das anastomoses colônicas passa pelas mesmas etapas: inflamação, proliferação e formação tecidual e maturação. Estas etapas seguem a mesma sequência e temporalidade do processo cicatricial geral (CAMPOS; BRANCO; GROTH, 2007; TRUBIAN, 2008; CAMPOS, 2013).

Da mesma forma o colágeno é o principal componente da matriz extracelular e a principal fibra no processo de manutenção da integridade tecidual. A quantidade do colágeno modifica-se no cólon durante o pós-operatório das anastomoses colônicas, principalmente na região peri-anastomótica (JIBORN; AHONEN; ZEDERFELDT, 1980; COSTA, 2003; OKAWA, 2009). Tal variação é resultado do balanço entre síntese e degradação das fibras colágenas pelas colagenases teciduais (CAMPOS; BRANCO; GROTH, 2007; TRUBIAN, 2008; CAMPOS, 2013). As colagenases são enzimas que quebram o colágeno, principalmente na fase inicial da cicatrização da anastomose colônica; após o 3° dia de pós-operatório a atividade colagenolítica diminui e a quantidade absoluta do colágeno aumenta na região cicatricial (CHOWCAT *et al.*, 1988; OKAWA, 2009).

Os níveis absolutos de colágeno na anastomose colônica de ratos permanecem baixos até por volta do 5° dia de pós-operatório, com aumento progressivo a partir de então e alcançando níveis praticamente normais por volta do 10° dia de pós-operatório (TRUBIAN, 2008). A síntese de colágeno peri-anastomótico permanece baixa nos primeiros três dias de pós-operatório, com aumento significativo a partir daí, alcançando valores máximos por volta do 7° dia de

pós-operatório (URDIALES, 2006; CAMPOS; BRANCO; GROTH, 2007; TRUBIAN, 2008; CAMPOS, 2013).

Jonson, Jiborn e Zederfeldt (1983) avaliaram a resistência à tração de anastomoses jejunais em ratos imediatamente após a confecção da sutura e nos dias 1°, 2°, 3°, 4°, 14° e 28° de pós-operatório. Observaram decréscimo progressivo nesta resistência nos três primeiros dias de pós-operatório, com aumento progressivo a partir do quarto dia, alcançando o máximo a partir do 14° dia de pós-operatório (FIGURA 3).

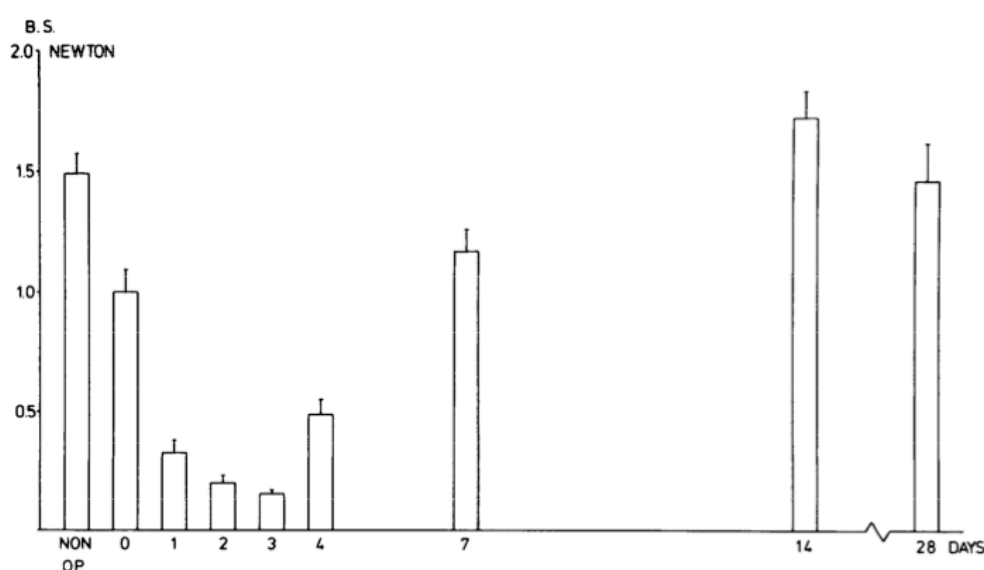


FIGURA 3 – FORÇA DE RUPTURA DA ANASTOMOSE JEJUNAL EM RATOS DE ACORDO COM O DIA DE PÓS-OPERATÓRIO
 FONTE: JONSSON; JIBORN; ZEDERFERLDT (1983).

As anastomoses colônicas perdem 70% a 90% da força tênsil em relação ao tecido original durante os três primeiros dias do processo cicatricial, período em que há atividade mais acentuada das colagenases (HÖGSTRÖN *et al.*, 1985; TRUBIAN, 2008). Após este período, ocorre ganho progressivo da resistência tênsil da anastomose paralelamente ao aumento progressivo da síntese e deposição do colágeno na área da anastomose (JIBORN; AHONEN; ZEDERFELDT, 1980; OKAWA, 2009).

A qualidade do colágeno, no entanto, é mais importante que a sua concentração tecidual (DOILLON *et al.*, 1985; TRUBIAN, 2008). A recuperação da força tênsil está relacionada com colágeno tipo I (maduro) mais do que com o colágeno do tipo III (imaturo).

O período de maior vulnerabilidade da anastomose é entre o 4° e o 7° dia pós-anastomose (FIGURA 4), pois, por ação das colagenases teciduais, houve degradação do colágeno antigo na área da anastomose e a síntese do novo colágeno ainda não alcançou níveis de segurança (URDIALES, 2006; OKAWA, 2009).

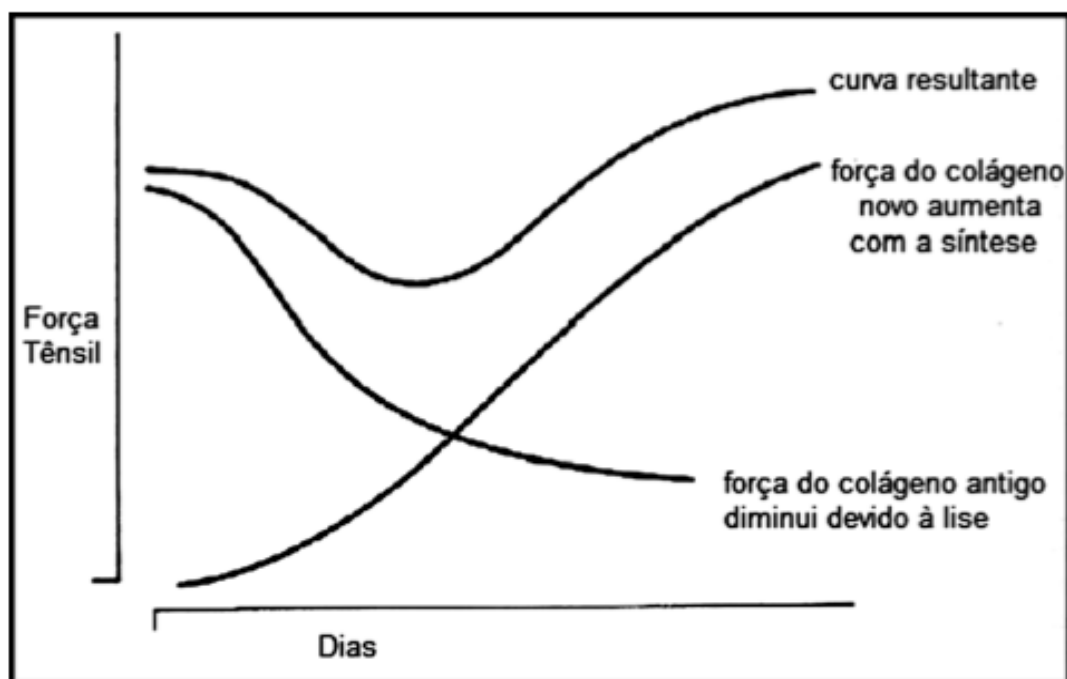


FIGURA 4 – EVOLUÇÃO DA FORÇA TÊNSIL DA ANASTOMOSE DE ACORDO COM A SÍNTESE E DEGRADAÇÃO DO COLÁGENO NO PROCESSO DE CICATRIZAÇÃO
 FONTE: OKAWA (2009).

3.2.2 Efeitos da quimioterapia sobre a cicatrização

As drogas anti-neoplásicas, também conhecidas como quimioterápicos, por meio de diversos mecanismos de ação no ciclo celular, produzem importante inibição no processo proliferativo celular. Desta forma, é esperado que tais drogas atuem de forma inibitória no processo de cicatrização, pois a principal característica deste processo é a proliferação celular (SOARES, 2001; VIZZOTTO JR. , 2001; VIZZOTTO JR. *et al.*, 2003).

3.2.2.1 Efeitos da quimioterapia sobre a cicatrização em geral

A ação das drogas quimioterápicas na inibição da proliferação celular do processo de cicatrização foi estudada por vários autores tanto *in vitro* quanto *in vivo* (VIZZOTTO JR. , 2001; VIZZOTTO JR. *et al.*, 2003).

Waard *et al.* (1998), em seu estudo *in vitro* com cultura de fibroblastos de pele de rato observaram acentuada supressão, dose-dependente, na síntese de ácido desoxirribonucleico quando acrescentaram 5-fluorouracil na cultura celular por 72 horas. Esta inibição foi vista com uso de 5-fluorouracil na dose de 1 μ M, sendo que com dose de 20 μ M houve inibição de 50% da proliferação. Foi avaliado ainda o levamisole, que também produziu efeito de inibição de proliferação fibroblástica, só que em concentrações maiores, cerca de 100 μ M. Ao ser utilizado sinergicamente, o levamisole potencializou o efeito do 5-fluorouracil. Estas drogas foram também utilizadas, nas mesmas concentrações, em cultura de fibroblastos confluentes, isto é, fora da fase de divisão celular, e não afetaram o número de células presentes na cultura. Os autores propuseram então que ambas as drogas isoladamente ou combinadas, na dependência da dose e do tempo de exposição, apresentam efeito inibidor sobre a proliferação de fibroblastos ativos.

Outro estudo em cultura de fibroblasto de pele utilizando 5-fluorouracil, conduzido por Ward *et al.* (1982), também mostrou efeito inibitório deste quimioterápico sobre a proliferação fibroblástica. Neste experimento as culturas foram expostas ao 5-fluorouracil por 24, 48 e 72 horas. Na cultura exposta à droga por 24 horas a proliferação fibroblástica foi refratária à concentração de 50 μ M de 5-fluorouracil, corroborando com a idéia de que o tempo de exposição ao quimioterápico é fundamental para a obtenção do efeito de inibição da divisão celular.

3.2.2.2 Efeitos da quimioterapia sobre a cicatrização das anastomoses colônicas

A interferência de drogas quimioterápicas no processo de cicatrização das anastomoses intestinais foi extensamente estudada por meio de diferentes metodologias. Estudos experimentais realizados em ratos, como os de Soares (2001), Vizzotto Jr. *et al.* (2003), Yuceyar, Erturk e Temiz (2005), Bozkurtoglu *et al.* (2005), Kanellos *et al.* (2008; 2011) e Ozel *et al.* (2009) com utilização de diversas drogas antineoplásicas administradas antes, durante ou após procedimento

cirúrgico, nos quais foram realizadas anastomoses intestinais, mostraram que tais drogas prejudicaram o processo de cicatrização destas anastomoses.

Soares (2001) avaliou a ação do 5-fluorouracil administrado intraperitonealmente após anastomose colônica em ratos por 5 e 8 dias. Observou redução na força máxima de tração da anastomose nos animais que receberam 5-fluorouracil no 5º dia de pós-operatório ($p=0,0014$).

Vizzotto Jr. *et al.* (2003) estudaram a ação da cisplatina administrada intraperitonealmente no pré e pós-operatório de anastomoses colônicas e observaram redução da força máxima de tração no 5º dia de pós-operatório no grupo que recebeu cisplatina tanto no pré quanto no pós-operatório ($p=0,029$) e aumento na intensidade do infiltrado inflamatório no grupo que recebeu cisplatina no pós-operatório ($p=0,0005$).

Yuceyar, Erturk e Temiz (2005) avaliaram a ação do paclitaxel no pós-operatório de anastomoses colônicas de ratos. Os animais receberam salina ou paclitaxel na dose de 2,5 mg/Kg e 3,5 mg/kg intra-peritonealmente no pós-operatório de anastomose colônica e foram mortos no terceiro e sétimo dia de pós-operatório. As variáveis avaliadas foram pressão de ruptura, níveis de hidroxiprolina e níveis de neovascularização com o uso do CD31. Não foi observada diferença entre os grupos em relação à pressão de ruptura. Houve redução ($p=0,001$) na quantidade de hidroxiprolina nos grupos que receberam paclitaxel. A neovascularização estava diminuída no grupo que recebeu a droga e foi avaliado no terceiro dia, na dose de 2,5 mg/Kg ($p=0,029$) e na dose de 3,5 mg/kg ($p=0,005$), porém não houve diferença no grupo avaliado no sétimo dia.

Bozkurtoglu *et al.* (2005) avaliaram a ação do paclitaxel na cicatrização das anastomoses colônicas de ratos. Os autores avaliaram a ação do paclitaxel administrado na dose de 4,5 mg/Kg intraperitonealmente, comparado com salina, em ratos submetidos a anastomose colônica e testados pela pressão de ruptura da anastomose, quantidade de hidroxiprolina e densidade dos vasos (neovascularização). Os ratos foram mortos no quarto e sétimo dia. Houve redução ($p<0,05$) na pressão de ruptura no sétimo dia nos ratos que receberam o paclitaxel, bem como redução na quantidade de hidroxiprolina ($p<0,001$) e na quantidade de vasos ($p<0,05$). Não houve diferença entre os grupos nos ratos mortos no quarto dia.

Kanellos *et al.* (2008) avaliaram a ação da oxaliplatina administrada intraperitonealmente na dose de 2,4 mg/Kg no pós-operatório de anastomose

colônica em ratos. Os animais foram mortos no oitavo dia de pós-operatório e foram avaliadas a presença de complicações macroscópicas, a pressão de ruptura, os níveis de hidroxiprolina, a intensidade das células inflamatórias, da neoangiogênese e da deposição de colágeno pela microscopia óptica. Observou-se aumento na incidência de fístula anastomótica ($p=0,016$) e aderências peri-anastomóticas ($p=0,001$) no grupo que recebeu a droga. Houve redução na pressão de ruptura ($p=0,001$), nos níveis de hidroxiprolina tecidual ($p=0,001$), na intensidade de neoangiogênese ($p=0,033$), na atividade fibroblástica ($p=0,001$) e na deposição de fibras colágenas ($p=0,001$) no grupo que recebeu a oxaliplatina.

Ozel *et al.* (2009) avaliaram a ação do 5-fluorouracil administrado no pré-operatório de anastomose colônica em ratos. A droga foi administrada intraperitonealmente ou endovenosamente na dose de 20 ml/Kg por 5 dias e após 3 dias os animais foram submetidos a ressecção de segmento colônico com anastomose. Os animais foram mortos no terceiro e sétimo dia de pós-operatório e foram avaliadas a pressão de ruptura, os níveis de hidroxiprolina e o conteúdo de DNA (ácido desoxirribonucleico). Os autores observaram redução na pressão de ruptura nos grupos que receberam 5-fluorouracil intra-peritonealmente ($p<0,05$) e endovenosamente ($p<0,001$) nos animais mortos no terceiro dia. Os níveis de hidroxiprolina foram menores no grupo que recebeu 5-fluorouracil endovenoso quando comparado com o grupo que recebeu a droga intraperitonealmente, avaliados tanto no terceiro quanto no sétimo dia ($p<0,01$). Não foi observada diferença no conteúdo de DNA entre os grupos.

O mesmo grupo de autores, liderados por Kanellos, publicaram outro artigo em 2011 no qual avaliaram a ação de 5-fluorouracil associado ou não a oxaliplatina na cicatrização de anastomoses colônicas em ratos. Os animais foram divididos em quatro grupos: salina, 5-fluorouracil, oxaliplatina e 5-fluorouracil associado a oxaliplatina. As drogas foram administradas intraperitonealmente na dose de 20 mg/Kg para o 5-fluorouracil e 2,4 mg/Kg para a oxaliplatina. Os grupos controle e 5-fluorouracil receberam administração da droga logo após a cirurgia e no primeiro dia de pós-operatório, enquanto os grupos oxaliplatina e 5-fluorouracil associado a oxaliplatina receberam a administração apenas no pós-operatório imediato. Os animais foram mortos no oitavo dia pós-operatório e foram avaliadas alterações macroscópicas (aderências, fístula, abscesso e peritonite), pressão de ruptura, níveis de hidroxiprolina e achados histológicos. A presença de alterações

macroscópicas foi maior nos grupos que receberam droga ($p=0,016$). A pressão de ruptura foi menor em todos os grupos que receberam os quimioterápicos em relação ao grupo controle ($p<0,001$). Também os níveis de hidroxiprolina assim como a quantidade de fibroblastos foram menores ($p<0,001$) em todos os grupos que receberam droga em relação ao grupo controle (KANELLOS *et al.*, 2011).

3.3 NUTRIÇÃO E A CICATRIZAÇÃO

A interferência da nutrição sobre o processo de cicatrização tem sido estudada ao longo dos anos. Os primeiros estudos datam das primeiras décadas do século XX. Em 1989 Clark baseado na descrição de Carrel (1910) sobre o processo de cicatrização, estudou o efeito de diferentes dietas nas várias fases da cicatrização. Ele avaliou a evolução de feridas, de diferentes tamanhos, em dorso de cães nutridos com diferentes tipos de dietas. Os animais foram nutridos com dieta hiperprotéica, a base de carne de fígado; dieta rica em carboidratos, a base de pão; dieta rica em gorduras, a base de manteiga e dieta mista, utilizando a combinação destes vários ingredientes. Ele observou que o período de latência, primeira fase do processo de cicatrização descrito por Carrel, foi ausente nos animais que receberam dieta hiperproteica. No outro extremo, foi mais longo, durando seis dias, nos animais que receberam dieta rica em gorduras. Este período teve duração intermediária nos outros dois tipos de dieta, durando três dias nos animais que receberam dieta rica em carboidrato e quatro dias nos animais que receberam dieta mista.

Howes e Harvey (1930) estudaram a influência do tipo de dieta na cicatrização da parede gástrica de ratos. Os animais foram submetidos a gastrotomia e gastrorrafia e foram alimentados com dieta padrão versus dieta hiperproteica. Foram mortos, em grupos, do primeiro ao décimo quarto dia e a pressão de ruptura da parede gástrica foi avaliada. Observaram que a velocidade de recuperação da força tênsil entre o quinto e o nono dia foi significativamente maior no grupo que recebeu dieta hiperproteica e que houve, neste grupo, antecipação do obtenção da força tênsil máxima (força tênsil em que há ruptura da parede gástrica não operada) do décimo terceiro para o décimo primeiro dia. Desta forma os autores propuseram que a dieta hiperproteica atua acelerando o processo cicatrização das anastomoses do trato digestivo (CAMPOS, 2013).

Mais recentemente diversos autores têm estudado a associação entre o estado nutricional e a incidência de complicações nas cirurgias do trato gastrointestinal, bem como o papel de substratos específicos no processo de cicatrização (CAMPOS, 2013).

Braga *et al.* (2002), em seu estudo prospectivo randomizado, mostraram que o suporte nutricional iniciado sete dias antes do procedimento cirúrgico em pacientes desnutridos submetidos a ressecção de porções do trato gastrointestinal por câncer e mantido no pós-operatório reduziu significativamente a incidência de complicações cirúrgicas como o desenvolvimento de fístulas e reduziu também a permanência hospitalar.

Witte e Barbul (2003a, 2003b) em seu artigo de revisão apresentaram a importância da arginina no processo de cicatrização.

Todd *et al.* (2008) publicaram revisão de vários artigos que apresenta a nutrição enteral com fórmulas especiais, contendo concentrações de determinados elementos nutricionais, voltada para condições específicas do paciente crítico e dos pacientes submetidos a injúrias, como traumas e cirurgias. Os autores utilizaram novo conceito para nutrição, a farmaconutrição, com dietas contendo nutrientes imunomoduladores como a glutamina, a arginina, os ácidos graxos ômega-3, entre outros.

Em 2012, Torrinhas mostrou a ação dos ácidos graxos ômega-3 por meio de infusão lipídica parenteral pré-operatória na evolução clínica imediata de pacientes submetidos a ressecção de câncer do trato gastro-intestinal.

No âmbito experimental, a relação entre a nutrição, por meio de diferentes substratos, e a cicatrização também tem sido estudada. Costa (2003) e Schimitz (2006) avaliaram a suplementação de glutamina na cicatrização de anastomose colônica em ratos.

3.3.1 Efeitos da desnutrição sobre a cicatrização

Os distúrbios do estado nutricional, seja pela desnutrição protéico-calórica devido à baixa ingestão alimentar, seja pela anemia e a hipoproteinemia associadas às doenças do trato gastro-intestinal e, em especial, as doenças neoplásicas, têm sido associados a maior incidência de deficiência no processo de cicatrização das feridas cirúrgicas (CAMPOS; BRANCO; GROTH, 2007, 2008; CAMPOS, 2013) .

Thompson, Chang e Jobe (2006) avaliaram a relação da desnutrição com a deiscência de feridas operatórias. Observaram que 72% dos cães submetidos a laparotomia e que receberam dieta hipoprotéica apresentaram déficit na cicatrização da parede abdominal.

Coelho-Lemos *et al.* (2004) avaliaram a cicatrização em ratos neonatos de matrizes desnutridas e observaram que a desnutrição intra-útero reduz a força tênsil da ferida destes ratos.

3.3.2 Efeitos da desnutrição sobre a cicatrização das anastomoses colônicas

Os distúrbios de cicatrização das anastomoses colônicas se manifestam como “vazamentos” na anastomose, clinicamente denominados como fístula. A incidência de fístulas na anastomose colônica é variável, em média de 5% a 15%, dependente de fatores, como doenças de base do paciente, topografia da anastomose, técnica cirúrgica utilizada, estado nutricional, entre outros fatores. Fielding *et al.* (1980), em estudo multicêntrico, mostraram incidência de 13% de fístulas em anastomose colônica no tratamento do câncer colônico.

A desnutrição afeta negativamente a cicatrização das anastomoses colônicas, prolongando a fase inflamatória, aumentando o risco de infecção e diminuindo a proliferação de fibroblastos, a angiogênese e a síntese de colágeno, tendo como consequência a diminuição da resistência à tração (RUBERG, 1984).

Campos, Meguid e Coelho (1996) publicaram revisão mostrando os principais fatores que influenciam o resultado dos pacientes com fístulas gastrointestinais. Dentre os fatores apontados, o estado nutricional tem grande importância, pois pacientes desnutridos com albumina sérica menor que 2,5 g/dL tiveram 42% de mortalidade enquanto nenhuma morte foi observada em pacientes com albumina maior que 3,5 g/dL. Estes autores propuseram também, baseados em sua revisão, que os melhores resultados estão associados com a nutrição via enteral quando possível. Em outro artigo, Campos, Meguid e Coelho (1996) propuseram que a via enteral para alimentação seja utilizada sempre que possível pois esta abordagem permite, além da reposição nutricional, a manutenção da integridade da mucosa do trato gastrointestinal, importante barreira contra a translocação bacteriana, no já imunologicamente comprometido paciente com fístula.

Estudos experimentais também têm demonstrado os efeitos deletérios que a desnutrição causa sobre as anastomoses colônicas.

Trubian (2008) analisou os efeitos da nutrição peri-operatória na cicatrização de anastomoses colônicas de ratos desnutridos e toxêmicos. Foram utilizados 45 ratos, divididos em três grupos: grupo controle (C) – ração *ad libitum* por 21 dias, recebendo injeções de solução salina intra-peritoneais por 4 dias; grupo desnutrido e toxêmico (DT) – desnutridos pela técnica de *pair feeding* (processo de alimentação pareada em que o grupo de estudo recebe metade da quantidade de alimento que o grupo controle recebeu no dia anterior) por 21 dias, recebendo injeções de lipopolissacarídeos por 4 dias; grupo desnutrido e toxêmico, com nutrição peri-operatória (DTN) – desnutridos pela técnica de *pair feeding* por 21 dias, recebendo injeções de lipopolissacarídeos por 4 dias e nutrição peri-operatória por 14 dias. Os ratos foram submetidos a laparotomia com duas anastomoses colônicas, e mortos no quinto dia de pós-operatório. A média de peso do grupo DTN foi superior ao grupo DT e semelhante ao controle, assim como a dosagem de albumina sérica. A dosagem sérica de PCR e TNF foi superior no grupo DT em relação ao DTN e controle. No grupo DTN a tensão máxima foi superior no grupo DT ($0,86 \pm 0,14$ Kgf/cm² vs. $0,52 \pm 0,06$ Kgf/cm²; $p=0,04$) e semelhante ao grupo controle ($0,86 \pm 0,14$ Kgf/cm² vs. $0,89 \pm 0,06$ Kgf/cm²; $p=0,54$). A média da força máxima de tração também foi superior no grupo DTN em relação ao grupo DT ($0,32 \pm 0,06$ Kgf/cm² vs. $0,10 \pm 0,01$ Kgf/cm²; $p=0,04$) e semelhante ao grupo controle ($0,32 \pm 0,06$ Kgf/cm² vs. $0,18 \pm 0,01$ Kgf/cm²; $p=0,36$). A análise da densitometria do colágeno não demonstrou diferença entre os grupos. O número de miofibroblastos foi superior no grupo DTN em relação ao grupo DT ($6,17 \pm 0,46$ vs. $4,06 \pm 0,77$; $p=0,03$), porém inferior ao grupo controle ($6,17 \pm 0,46$ vs. $7,62 \pm 0,28$; $p=0,02$). O número de vasos sanguíneos nas anastomoses foi semelhante nos grupos DT e DTN ($8,11 \pm 0,35$ vs. $8,35 \pm 0,73$; $p=0,59$) e superior ao controle ($8,11 \pm 0,35$ vs. $4,33 \pm 0,39$; $p=0,0000$ e $8,35 \pm 0,73$ vs. $4,33 \pm 0,39$; $p=0,0004$). Concluiu-se que a nutrição peri-operatória, durante 14 dias, foi eficaz em reverter os efeitos deletérios da desnutrição e da toxemia.

Em 2009, Gonçalves *et al.* publicaram artigo em que avaliaram os efeitos da desnutrição nas anastomoses colônicas de ratos. Os animais foram submetidos a processo de desnutrição denominado *pair feeding*, produzindo amplo quadro de desnutrição e não de apenas um elemento nutricional. Os ratos submetidos a este

processo de desnutrição por 21 dias foram denominados de malnutridos (M), enquanto o grupo controle 1 (C1) recebeu alimentação *ad libitum* por 21 dias. Após este período estes dois grupos foram submetidos a confecção de duas anastomoses colônicas. Um terceiro grupo (PRE) foi submetido ao mesmo processo de desnutrição por *pair feeding* por 21 dias, seguidos de 7 dias de nutrição *ad libitum* e no 28° dia foram submetidos a duas anastomoses colônicas. O quarto grupo de animais, chamado grupo controle 2 (C2), recebeu alimentação *ad libitum* até 28° dia e então foi submetido a duas anastomoses colônicas. No quinto dia de pós-operatório os animais foram mortos e as anastomoses foram submetidas à análise. Uma das anastomoses foi avaliada quanto a força de ruptura a tração e outra submetida a análise histológica qualitativa e quantitativa do colágeno. Os autores encontraram redução na força máxima de ruptura da anastomose nos animais malnutridos - M em relação ao controle - C1 ($0,09 \pm 0,04$ Kgf vs $0,15 \pm 0,07$ Kgf, $p=0,014$) e normalização desta variável no grupo renutrido por 7 dias (PRE), em que a força máxima de ruptura da anastomose foi de $0,15 \pm 0,05$ Kgf. Em relação ao colágeno, os animais malnutridos (M) tiveram área de colágeno tipo I (maduro) menor em relação ao controle - C1 ($p < 0,05$). Embora o grupo realimentado (PRE) tenha tido recuperação da área de colágeno tipo I em relação ao grupo malnutrido ($p=0,02$), esta foi ainda menor que no grupo controle 2 - C2 ($p=0,01$).

3.3.3 Efeitos da renutrição sobre a cicatrização das anastomoses

Se por um lado a desnutrição, no pré ou pós-operatório, traz efeitos deletérios sobre a cicatrização das anastomoses intestinais, a nutrição adequada, por outro lado, pode minimizar ou reverter tais efeitos (GONÇALVES *et al.*, 2009).

Farreras *et al.* (2005) avaliaram o papel da imunonutrição (fórmula enriquecida com arginina, ácidos graxos ômega-3 e ácido ribonucleico - RNA) na incidência de complicações anastomóticas após gastrectomia por câncer e a quantificação de hidroxiprolina na anastomose. Estes autores observaram 66 pacientes em pós-operatório de gastrectomia por câncer com quadro de desnutrição prévia à cirurgia. Os pacientes foram randomizados em dois grupos para receber dieta enteral padrão ou dieta enriquecida no pós-operatório. Os autores observaram redução no número de complicações anastomóticas (0 vs. 8 - $p=0,005$) no grupo

que recebeu imunonutrição. Os níveis de hidroxiprolina no local da anastomose foram maiores (57,9 nmol vs. 28 nmol, $p=0,0018$) nos pacientes que receberam imunonutrição.

Estudos experimentais também têm sido conduzidos para avaliar o efeito da renutrição sobre as anastomoses colônicas.

Fukuzawa, Terasnima e Ohkohshi (2007) avaliaram o efeito da nutrição enteral precoce em ratos submetidos a anastomose intestinal. Os animais foram submetidos a anastomose jejunal, gastrostomia e acesso central. Um grupo recebeu nutrição parenteral via acesso central e salina pela gastrostomia e outro grupo recebeu nutrição enteral pela gastrostomia e salina pelo acesso central. As soluções para administração enteral e parenteral foram idênticas. Os animais foram mortos no quinto dia de pós-operatório sendo avaliadas a pressão de ruptura e a dosagem de hidroxiprolina na anastomose. Os autores observaram pressão de ruptura maior no grupo que recebeu nutrição enteral em relação ao que recebeu nutrição parenteral (214.6 ± 42 versus 149.5 ± 49 mmHg; $p<0.01$). Também a dosagem de hidroxiprolina foi maior no grupo que recebeu nutrição enteral (63.5 ± 10 versus 50.5 ± 12 mol/g tecido seco; $p < 0.01$).

Gonçalves *et al.* (2009), como já apresentado anteriormente, mostraram em seu estudo que a renutrição pré-operatória de ratos desnutridos permite recuperação da força máxima de ruptura da anastomose.

3.4 ÁCIDOS GRAXOS

Os ácidos graxos são ácidos monocarboxílicos compostos por cadeia alquílica de átomos de carbono com grupo carboxila ($-\text{COOH}$) em uma das extremidades e um grupo metílico ($-\text{CH}_3$) na outra extremidade, representado pela letra ω - ômega. A cadeia alquílica pode ser saturada ou insaturada; é considerada insaturada quando há uma dupla ligação entre os átomos de carbono (TORRINHAS; RODRIGUES; WAITZBERG, 2013).

A localização de dupla ligação a partir da extremidade metílica da cadeia carbônica determina se o ácido graxo é ω -3, quando a dupla ligação está no terceiro átomo de carbono a partir da extremidade do radical metil; ω -6, quando a dupla ligação está no sexto átomo de carbono a partir da extremidade metílica da cadeia

carbônica ou ω -9, quando a dupla ligação está no nono átomo de carbono a partir da extremidade metílica da cadeia carbônica (TORRINHAS; RODRIGUES; WAITZBERG, 2013).

3.4.1 Ácidos graxos ômega-3

O óleo de peixe é o nome genérico dado a preparações de óleos extraídos dos tecidos do corpo de peixes de água fria, por exemplo, atum, cavala, arenque, salmão, sardinha, bacalhau ou a partir de fígados de peixes de água quente, por exemplo, truta arco-íris, pacu, curubatá, entre outros (SEGURA, 2012). O óleo de peixe é rico nos ácidos graxos poli-insaturados de cadeia longa ω -3 (FIGURA 5), como o ácido eicosapentanóico (EPA; 20:5 ω -3), ácido docosapentanóico (DPA; 22:5 ω -3) e ácido docosahexanóico (DHA; 22:6 ω -3).

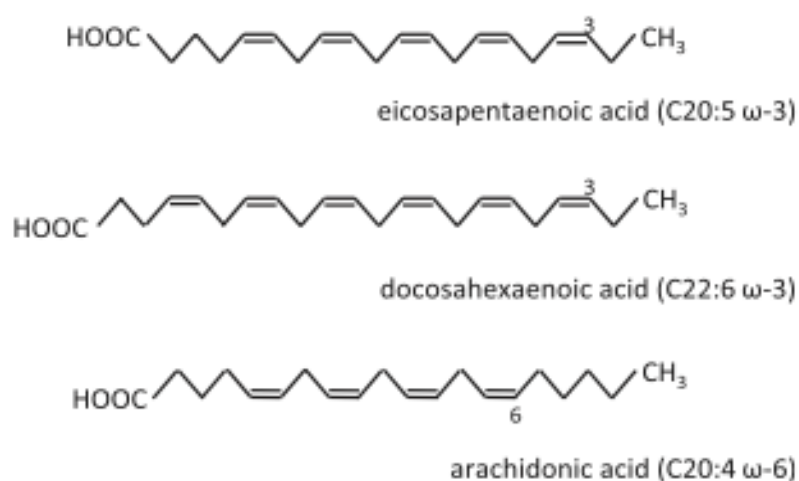


FIGURA 5 – DIAGRAMA DA ESTRUTURA QUÍMICA DOS ÁCIDOS GRAXOS POLI-INSATURADOS
 FONTE: COCKBAIN; TOOGOOD; HULL (2012).

Estes ácidos graxos compreendem 15-30% dos ácidos graxos presentes no óleo de peixe dependendo de uma série de fatores como a espécie do peixe e a estação do ano em que foram pescados entre outros (CALDER, 2001b).

Os ácidos graxos poli-insaturados de cadeia longa ω -3, principalmente o ácido eicosapentanóico (EPA) e o ácido docosahexanóico (DHA) são obtidos habitualmente a partir da ingestão na dieta. Kimura *et al.* (2008), em seu estudo experimental, no entanto, mostraram que o EPA pode ser sintetizado em nível

hepático a partir da DHA. Neste estudo, ratos nascidos de matrizes deficientes em ácidos graxos poli-insaturados ω -3 (ω -3 PUFA) receberam suplemento de óleo de peixe (OP) ou óleo de microalga rico em DHA e pobre e em EPA (DMO). Após quatro semanas os animais foram mortos e as dosagens teciduais de ω -3 PUFA foram determinadas. A recuperação de EPA no fígado no grupo de animais que receberam DMO indica que houve retroconversão de DHA nos ratos recém-nascidos. Estes resultados sugerem que o EPA pode ser sintetizado em nível hepático se quantidades apropriadas de DHA forem adequadamente suplementadas.

3.4.1.1 Efeitos dos ácidos graxos ômega-3 sistêmicos sobre a proliferação celular e o processo inflamatório

A composição de ácidos graxos de células inflamatórias e imunes é sensível a alterações da composição de ácidos graxos da dieta. O ácido araquidônico (AA), ácido graxo poli-insaturado ω -6 (FIGURA 5), principal ácido graxo de cadeia longa presente na membrana celular, é o precursor de prostaglandinas, leucotrienos e compostos relacionados, os quais têm papéis importantes na inflamação e na regulação da imunidade.

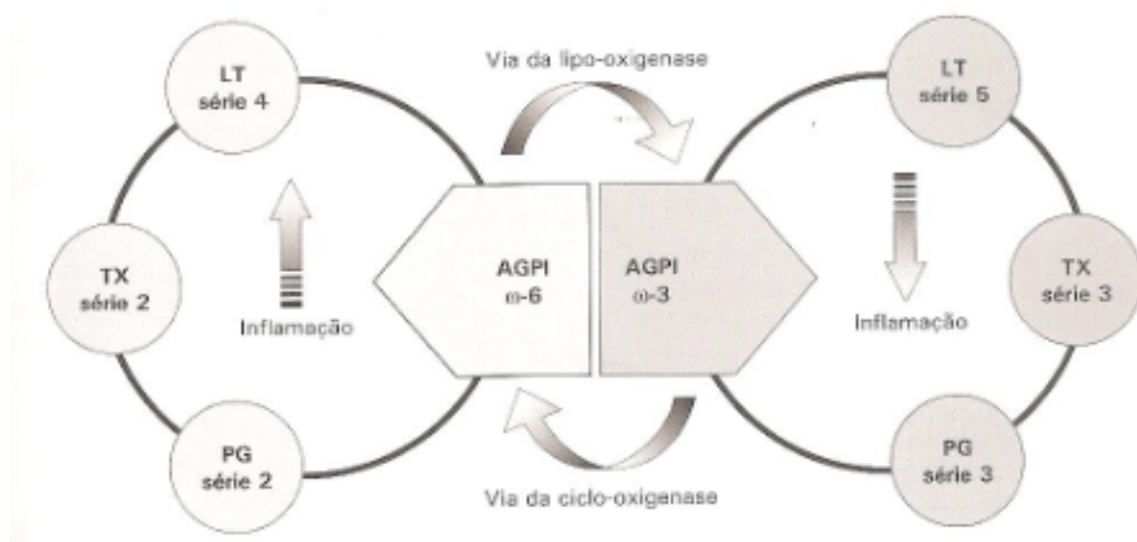


FIGURA 6 – EFEITOS DOS ÁCIDOS GRAXOS ÔMEGA 3 NA VIA DE SÍNTESE DA CICLO-OXIGENASE E LIPO-OXIGENASE COMPARADO COM O ÔMEGA 6
 FONTE: TORRINHAS; RODRIGUES; WAITZBERG (2013).

Vários estudos (TAKAHASHI *et al.*, 1993; MUND *et al.*, 2007; FETTERMAN; ZDANOWICZ, 2009; KIM *et al.*, 2010; COCKBAIN,; TOOGOOD; HULL, 2012,) têm mostrado que a ingestão de óleo de peixe produz substituição parcial de AA nas membranas das células pelo EPA e outros ácidos graxos poli-insaturados ω -3, levando à diminuição da produção de mediadores derivados do AA (FIGURA 6). Além disso, o EPA é substrato para a ciclo-oxigenase e lipoxigenase e dá origem a mediadores com ação biológica diferentes daqueles formados a partir de AA. A suplementação da dieta de voluntários humanos saudáveis com óleo de peixe resultou na redução da quimiotaxia de monócitos e neutrófilos e diminuição da produção de citocinas pró-inflamatórias (CALDER, 2001b). Estudos clínicos têm relatado que a suplementação de óleo de peixe tem efeitos benéficos na artrite reumatóide, doença inflamatória do intestino e asma, apoiando a idéia de que os ácidos graxos ω -3 possuem ação anti-inflamatória e imunomoduladora. Segundo Calder (2003), a ação dos ácidos graxos poli-insaturados ω -3 como o EPA possivelmente se deva tanto ao impedimento da liberação do AA pela inibição das fosfolipases quanto pela competição do AA como substrato da ciclo-oxigenase e lipo-oxigenase levando a redução na produção de prostaglandina E_2 (PGE_2). A redução da produção de prostaglandina E_2 (PGE_2) leva a redução na produção de citocina Th_2 e do TGF- β (fator de crescimento transformador - β), com consequente redução na proliferação e na ativação linfocitária. Desta forma o autor propõe que a suplementação da dieta com ácidos graxo poli-insaturados ω -3, como o EPA, seja útil no tratamento de situações clínicas em que haja hiperativação da cascata inflamatória como a sepse e o trauma. O mesmo autor (CALDER, 2001b, 2003) publicou outros artigos reforçando a ação do óleo de peixe na diminuição da produção de prostaglandinas como PGE_2 e de leucotrienos como LTB_4 . Segundo ele, os ácidos graxos ω -3 podem reduzir potencialmente a agregação plaquetária, a coagulação do sangue, a contração do músculo liso, e a quimiotaxia de leucócitos, e pode modular a produção de citocinas inflamatórias e a função imune. Em 2007, Calder, em seu artigo de revisão sobre a imunomodulação dos ácidos graxos ômega-3, discutiu sobre os possíveis mecanismos celulares pelos quais tais ácidos graxos atuam na modulação do sistema imune. O autor apresentou a ação do ômega-3 nos *lipid rafts*, regiões específicas da membrana celular em que estão plataformas de co-localização protéicas envolvidas na sinalização intra-celular. O

autor propôs que a modificação estrutural da membrana bem como a produção de eicosanóides como a prostaglandina E_3 e do leucotrieno B_5 sejam os principais responsáveis pela atividade moduladora do sistema imunológico.

Estes efeitos têm sido demonstrados em culturas de células, em estudos experimentais e em estudos clínicos.

Recentemente estudos clínicos realizados em diferentes grupos de pacientes têm reforçado o benefício do uso da suplementação de ácidos graxos ômega-3 na dieta como agente modulador da resposta inflamatória. Tsekos *et al.* (2004) avaliaram a ação do óleo de peixe em pacientes críticos de pós-operatório de cirurgias abdominais de grande porte. Os pacientes foram divididos em três grupos; dois grupos receberam nutrição parenteral “standard” associada a emulsão lipídica padrão (I) ou óleo de peixe (II) no pós-operatório; um terceiro grupo recebeu óleo de peixe também no pré-operatório (III) por três dias. Os autores observaram que o grupo III teve mortalidade menor ($p=0,02$) que o grupo I. A necessidade de ventilação mecânica e a permanência hospitalar também foram menores no grupo III em relação ao I ($p<0,05$ para ambas variáveis).

Waitzberg, Torrinhas e Jacinto (2006) avaliaram as emulsões lipídicas administradas na prática clínica e sua ação sobre as funções imunológicas. Observaram que emulsões lipídicas ricas em ácidos graxos $\omega-6$ podem exercer uma influência negativa sobre as funções imunológicas enquanto as emulsões ricas em ácidos graxos $\omega-3$ apresentaram efeitos anti-inflamatórios e imunomoduladores, sugerindo assim que a relação entre os ácidos graxos $\omega-6/\omega-3$ é o fator preponderante nestas emulsões lipídicas.

Singer *et al.* (2006) também avaliaram a suplementação de ácido eicosapentaóico (EPA), ácido gama-linolênico (GLA) e antioxidantes na dieta enteral por 14 dias em pacientes com insuficiência respiratória por injúria pulmonar aguda. Embora não tenham observado diferença na sobrevida, a duração da ventilação mecânica foi menor no grupo que recebeu suplementação com EPA, GLA e anti-oxidantes em relação ao grupo controle ($p<0,04$) e melhora nos padrões ventilatórios (PaO_2/FIO_2 , 317.3 ± 99.5 vs. 214.3 ± 56.4 e 296.5 ± 165.3 vs. 236.3 ± 79.8 , respectivamente; $p<0,05$).

Wichmann *et al.* (2007) avaliaram a administração parenteral de emulsão lipídica enriquecida com óleo de peixe (Lipoplus®) por 5 dias no pós-operatório de cirurgias abdominais de grande porte comparada com emulsão lipídica convencional

(Intralipid®). Mensuraram os níveis plasmáticos de ácido eicosapentaóico (EPA) e leucotrieno B₅ (LTB₅) e o tempo de permanência hospitalar. Observaram que o grupo que recebeu Lipoplus® teve níveis séricos maiores de EPA e LTB₅ e o tempo de permanência hospitalar foi 21% menor (17.2 vs. 21.9 dias; p=0,0061).

Em seu artigo de revisão, publicado em 2008, Todd *et al.*, como já referido anteriormente, utilizando o conceito de farmaconutrição, apresentaram os ácidos graxos ômega-3 como nutriente imunomodulador. As propriedades anti-inflamatórias do ômega-3, cujos componentes ativos são ácidos graxos eicosapentaóico (EPA) e docosahexaenóico (DHA), têm sido atribuídas ao deslocamento do ácido araquidônico da membrana celular, antagonizando a produção de eicosanóides pró-inflamatório, tais como a prostaglandina E₂ e leucotrieno B₄, e promovendo a produção de eicosanóides de menor potencial inflamatório, tais como a prostaglandina E₃ e o leucotrieno B₅ (FIGURA 7).

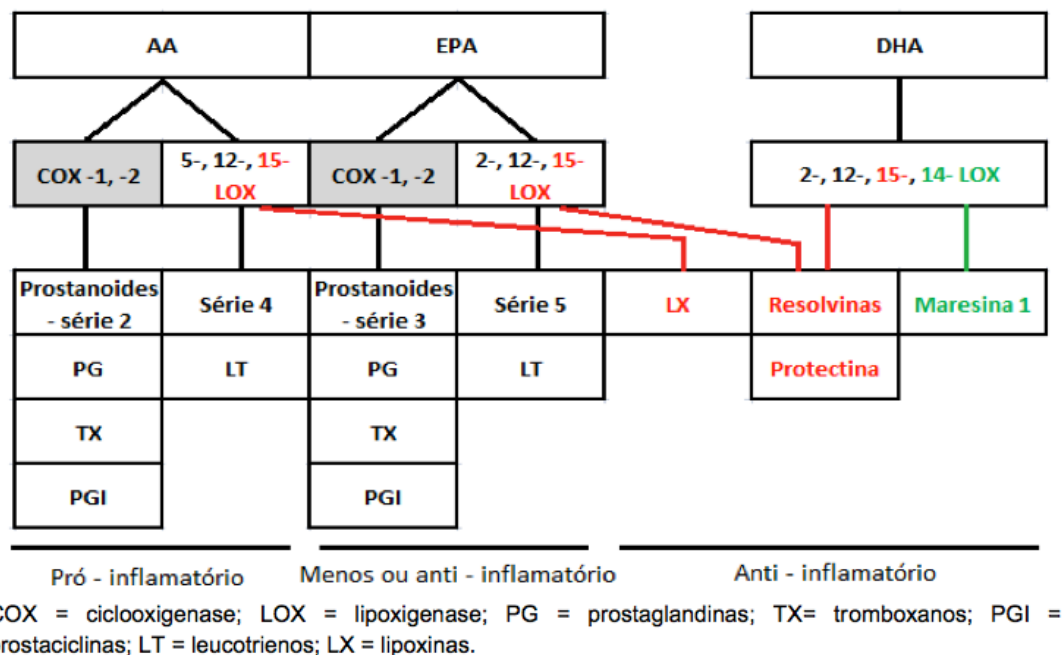


FIGURA 7 – DIAGRAMA DO METABOLISMO DOS ÁCIDOS GRAXOS PELO CICLO-OXIGENASE E LIPO-OXIGENASE
 FONTE: SEGURA (2012).

Cockbain, Toogood e Hull (2012), revisando dezenas de artigos sobre a ação dos ácidos graxos poli-insaturados (PUFA) ômega 3 (ω 3) na prevenção e no tratamento do câncer colorretal, apresentaram como um dos mecanismos de ação a modulação na produção de prostaglandinas. A adição de PUFA ω 3 na dieta leva a

redução da produção de PGE₂ (de maior potencial inflamatório) e aumento na produção de PGE₃ (de menor potencial inflamatório). Além disso os PUFA ω 3 possuem ainda outras atividades imunomoduladoras, ainda em estudo, sobre a produção de citocinas, a ativação dos linfócitos T e na angiogênese (SEGURA, 2012).

Torrinhas (2012) recentemente avaliou a infusão de emulsões lipídicas à base de óleo de peixe por via parenteral sobre a resposta imunológica pós-operatória em pacientes com câncer gastrointestinal. A autora comparou infusão de emulsões lipídicas ricas em ω -3 (Omegaven®) com emulsões lipídicas padrão (Lipovenos MCT®) e observou melhora de ordem imunológica nos pacientes que receberam aquela dieta em comparação com esta.

Aoyama *et al.* (2013) estudaram a ação da suplementação de ácido eicosapentanóico (Prosure®) em pacientes submetidos a anastomoses do trato digestivo e avaliaram perda ou ganho de peso no pós-operatório. Observaram que tal suplementação teve importante papel na recuperação nutricional reduzindo a perda de peso.

Estudos em animais mostraram que a adição de óleo peixe na dieta produz alteração na função dos linfócitos e supressão na produção de citocinas pró-inflamatórias pelos macrófagos (CALDER, 2001b). Em 2010 Hagi *et al.*, avaliaram a ação anti-inflamatória da administração de óleo de peixe em emulsões parenterais em ratos. Os autores administraram, por via parenteral, emulsões lipídicas por três dias contendo diferentes proporções de ácidos graxos ω 6 e ω 3 (ω 6: ω 3). Avaliaram os fosfolípidos da membrana dos esplenócitos e a quantidade de leucotrieno B₄ e B₅ (LTB₄ e LTB₅) liberados pelos leucócitos polimorfonucleares peritoneais dos ratos. Foi observado aumento de 70% na proporção de ácidos graxos ω 3 na membrana celular dos esplenócitos dos animais que receberam administração de emulsões lipídicas com maior proporção de ω 3 e também aumento significativo na quantidade de LTB₅ liberado pelos leucócitos polimorfonucleares peritoneais. O efeito anti-inflamatório da administração de emulsões lipídicas com maior teor de ácidos graxos ω 3 ocorre porque o LTB₅ tem menor potencial inflamatório em relação ao LTB₄.

3.4.1.2 Efeitos dos ácidos graxos ômega-3 sobre a mucosa colônica

Hendrickse, Keighley e Neoptolemos (1995) avaliaram, em ratos, a ação do ômega-3 na taxa de proliferação das células crípticas colônicas, especialmente na região da anastomose colônica. Os animais foram alimentados com dieta rica em ácidos graxos poli-insaturados ou ácido graxo ômega-3. Receberam por 7 semanas injeção intra-peritoneal salina ou azoximetano (agente carcinogênico) e foram submetidos a secção colônica e anastomose. Os animais foram mortos com 23 semanas e avaliados quanto a presença de tumores e a taxa de proliferação das células crípticas colônicas. Observaram redução significativa na incidência de tumores e na taxa de proliferação das células crípticas colônicas nos animais que receberam ômega-3 em relação aos que receberam dieta rica em ácidos graxo poli-insaturados.

Ruthig e Meckling-Gill (1999) avaliaram a ação *in vitro* do ácido eicosapentanóico – EPA em cultura de células do epitélio intestinal de ratos (IEC-6) e observaram que o EPA, bem como outros ácidos graxos, produziram aumento significativo na migração celular. O EPA, no entanto, produziu esta ação em concentração menor que os demais ácidos graxos, alfa-linolênico, gama-linolênico e araquidônico.

Calviello *et al.* (1999) publicaram artigo em que avaliaram a suplementação de ácidos graxos ômega-3 na mucosa intestinal de ratos. Os animais receberam EPA purificado ou DHA (1g/kg de peso corporal) por administração oral. Foram analisadas proliferação celular, diferenciação celular e apoptose nas células da mucosa do cólon. Também investigaram a incorporação de ácidos graxos poli-insaturados ômega-3 na membrana celular. Ambos EPA e DHA suprimiram a proliferação dos colonócitos e aumentaram o número de células diferenciadas e apoptóticas sem a modificação da morfologia das criptas e do número de células por colunas das criptas.

3.4.1.3 Efeitos dos ácidos graxos ômega-3 sobre a cicatrização

Albina, Gladden e Walsh (1993) publicaram artigo em que mostram que a suplementação de ômega-3 na dieta de ratos produziu prejuízo na cicatrização. Os autores avaliaram a suplementação de ômega-3 por vinte e um dias antes do

procedimento cirúrgico e mantida por 30 dias após. Os animais foram submetidos a incisão dorsal de 5 cm e foram mortos dez e trinta dias após o procedimento cirúrgico. Avaliaram a força de resistência a tração e a quantidade de colágeno da área de cicatriz. Nos ratos mortos no décimo dia de pós-operatório não observaram diferença, porém nos ratos mortos no trigésimo dia observaram redução significativa na força de resistência à tração. Não houve diferença na quantidade de colágeno entre os grupos.

Lu, Caplan e Li (2008) avaliaram a ação do ácido docosahexanoico (DHA) por administração intra-dérmica na cicatrização de feridas cirúrgicas em camundongos. O DHA foi administrado na dose 50 ng por injeções intra-dérmicas em quatro pontos da ferida no volume de 10 μ l/sítio. A avaliação da cicatrização da ferida foi feita pelo método imunistoquímico com a utilização do CD 31. Para a comparação dos diferentes tratamentos de feridas, a densidade vascular capilar, a área de tecido de granulação, e o “*gap*” epitelial foram apresentados como percentagens relativas. Os autores observaram aceleração no fechamento da ferida, na reepitelização, no crescimento de tecido de granulação e na formação de capilares de feridas do camundongos submetidos ao tratamento com DHA.

McDaniel *et al.* (2008) avaliaram a ação do EPA e do DHA no infiltrado inflamatório de feridas cutâneas humanas em cicatrização. Observaram níveis significativamente maiores de interleucina 1 β (IL-1 β) no fluido inflamatório lesional no grupo que recebeu a administração do EPA e DHA e sugeriram que estes ácidos graxos produzem aumento de citocinas pró-inflamatórias no sítio de feridas em cicatrização.

3.4.1.4 Efeitos dos ácidos graxos ômega-3 sobre a cicatrização das anastomoses colônicas

Relativamente poucos trabalhos avaliaram o efeito dos ácidos graxos ômega-3 na cicatrização das anastomoses colônicas.

Em tecido colônico normal o ácido araquidônico é metabolizado igualmente pela ciclo-oxigenase e lipo-oxigenase com produção habitual de seus derivados. Após a confecção da anastomose, no entanto, há aumento da atividade da lipo-oxigenase, enquanto a atividade da ciclo-oxigenase permanece baixa. Van der Ham *et al.* (1990) mostraram que a redução na atividade da ciclo-oxigenase após a

anastomose do cólon leva a redução na quantidade de prostaglandina E₂ e outros produtos desta enzima, desempenhando papel importante na cicatrização da anastomose colônica não complicada de ratos. A prostaglandina E₂ (PGE₂) tem importante papel na produção e ativação da colagenase tecidual. Ratos tratados com PGE₂ apresentaram anastomose colônica significativamente mais fraca no terceiro dia em comparação com ratos do grupo controle (BRENNAN *et al.*, 1984).

Ekçi *et al.* (2011) avaliaram a ação do ácido graxo ômega-3 na anastomose colônica em ratos. Os animais foram submetidos a anatomose colônica e receberam por cinco dias de pós-operatório salina, ácido ascórbico (200 mg/Kg, intra-peritoneal) e/ou ácido graxo ômega-3 (13 mg/Kg, via enteral por gavagem). Foram avaliados a pressão de ruptura da anastomose e os níveis de hidroxiprolina. A pressão de ruptura e os níveis hidroxiprolina foram maiores no grupo que recebeu a combinação de ácido ascórbico mais ômega-3 em relação aos outros grupos ($p < 0,05$).

3.4.2 Ácidos graxos ômega-9

Os ácidos graxos ômega-9 são os que apresentam a dupla ligação no nono átomo de carbono a partir da extremidade metílica da cadeia carbônica.

O ácido graxo ômega-9 mais comumente encontrado nos alimentos é o ácido oléico (FIGURA 8) que é o principal ácido graxo do azeite de oliva (TABELA 1) (MENENDEZ; LUPU, 2006).

3.4.2.1 Propriedades inflamatórias dos ácidos graxos ômega-9

Os ácidos graxos ômega-9 são considerados de natureza neutra do ponto de vista de sua ação sobre a atividade inflamatória (JĘDRZEJCZAK-CZECHOWICZ; KOWALSKI, 2011), quando comparados com os ácidos graxos ômega-6, que são considerados como tendo ação pró-inflamatória e com os ácidos graxos ômega-3, que são considerados como tendo ação menos pró-inflamatória (PUERTOLLANO *et al.*, 2010).

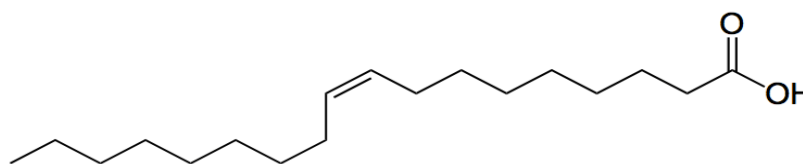


FIGURA 8 – FÓRMULA QUÍMICA DO ÁCIDO OLÉICO
 FONTE: JĘDRZEJCZAK-CZECHOWICZ; KOWALSKI (2011).

TABELA 1 – COMPOSIÇÃO MÉDIA DOS ÁCIDOS GRAXOS NO AZEITE DE OLIVA EXTRA-VIRGEM

ÁCIDO GRAXO	NÚMERO DE CARBONOS (C)	FAIXA DE DISPONIBILIDADE %
Mirístico	C 14:0	0,002-0,8
Palmítico	C 16:0	8,5-15,2
Palmitoléico	C 16:1	0,9-2,2
Estearico	C 18:0	1,3-2,7
Oléico	C 18:1	63,8-82,6
Linoléico	C 18:2	5,1-13,6
Linolênico	C 18:3	0,7-1,0
Araquídico	C 20:0	0,1-0,8

FONTE: GOIÁS. Câmara de Comércio. **Manual do azeite de oliva**. ABOISSA, 2004.
 Modificado pelo autor.

Cardoso *et al.* (2011) compararam a ação do ácido oléico (ω -9) com o ácido linolênico (ω -3) sobre o processo de cicatrização de feridas induzidas no dorso de camundongos. Os autores observaram que o processo de cicatrização foi mais rápido nos animais que receberam ácido oléico e que os níveis de RNAm do colágeno tipo III eram significativamente maiores neste grupo. Observaram também que a atividade da COX2 estava significativamente menor neste grupo. Este mesmo grupo de autores encontrou resultados semelhantes ao comparar o ácido oléico com ácido linoléico e linolênico no processo de cicatrização de feridas induzidas em dorso de camundongos.

Vários estudos têm mostrado esta ação do ácido oléico na aceleração do processo de cicatrização das feridas com redução na produção de prostanóides com maior efeito inflamatório (WANTEN, 2006; WANTEN; CALDER, 2007; RODRIGUES *et al.*, 2010, 2012; SALES-CAMPOS *et al.*, 2012).

Esta ação modulatória do processo inflamatório do ácidos graxos ômega-9 é dependente da dose. Jiang, Wu e Chen (2012) mostraram em seu estudo em cultura de fibroblastos que em altas doses o ácido oléico estimula o proceso inflamatório, promovendo produção de mediadores inflamatórios com atividade pró-inflamatória, e inibe a proliferação fibroblástica.

3.4.2.2 Propriedades inflamatórias dos ácidos graxos ômega-9 versus ômega-3

Os ácidos graxos ômega-3 possuem ação anti-inflamatória quando comparados com os ácidos graxo ômega-9.

Patten *et al.* (2002) compararam a ação do ácido docosahexanóico com o ácido oléico administrados via enteral em ratos na contratilidade intestinal e na produção de prostanóides inflamatórios (PGE₂ e PGF₂) na mucosa intestinal de ratos. Os autores observaram que os animais tratados com o ácido docosahexanóico apresentaram maior contratilidade intestinal e menores níveis de produção de eicosanóides inflamatórios.

3.5 MÉTODOS DE AVALIAÇÃO DA CICATRIZAÇÃO DAS ANASTOMOSES INTESTINAIS

São diversos os métodos que podem ser utilizados para avaliação da cicatrização das anastomoses colônicas. Hendricks e Mastboom (1990) fizeram extensa revisão da literatura mostrando os diferentes métodos pelos quais as cicatrização das anastomoses colônicas podem ser avaliadas. Os autores apresentaram que os métodos mais comumente utilizados são o mecânico e o bioquímico. Estes métodos avaliam de forma indireta a correlação entre a síntese de colágeno e a recuperação da resistência tecidual no sítio da anastomose intestinal.

Outras metodologias de avaliação da cicatrização das anastomoses colônicas também frequentemente utilizadas são parâmetros evolutivos, microbiológicos, radiológicos (MANSSON *et al.*, 2002), microangiográficos, histopatológicos e imunistoquímicos (VIZZOTTO JR. *et al.*, 2003).

3.5.1 Parâmetros evolutivos

Os parâmetros evolutivos levam em conta a observação pós-operatória do animal e os achados intra-abdominais após sua morte. Indicam, geralmente, o sucesso ou o insucesso da anastomose e direta ou indiretamente refletem a presença de deiscência da anastomose o que, em última análise, é o que se procura avaliar nos experimentos em que se estuda cicatrização de anastomoses colônicas (VIZZOTTO JR., 2001).

Os dados evolutivos mais comumente explorados são: ganho ou perda de peso, evolução pós-operatória (óbitos) e presença de infecção ou deiscência de ferida cirúrgica (SOARES, 2001; COSTA, 2003; URDIALES, 2006; TRUBIAN, 2008; OKAWA, 2009)

À exploração da cavidade, os dados mais freqüentemente avaliados são: quantificação de aderências intra-abdominais (SOARES, 2001; URDIALES, 2006), complicações anastomóticas, tais como deiscência de anastomose (KUZU *et al.*, 1998; TRUBIAN, 2008; OKAWA, 2009), abscesso peri-anastomótico e estenose (VIZZOTTO JR., 2001).

3.5.2 Parâmetros mecânicos

Em 1853 Paget foi o primeiro a introduzir a medida de força tênsil de tecidos ao avaliar o reparo de tendões de coelhos rompidos cirurgicamente. Por meio de método rudimentar, disponível à época, observou o ganho de força do tecido ao longo dos dias de pós-operatório (BALLANTYNE, 1983).

Howes, Sooy e Harvey (1929) publicaram estudo visando a sistematização da avaliação da tensão das feridas cirúrgicas em fase precoce da cicatrização. Nele os autores avaliaram a resistência da sutura de anastomoses intestinais na fase inicial de cicatrização e a habilidade da parede intestinal em conter a sutura realizada por meio de diferentes técnicas.

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

3.5.2.1 Pressão de ruptura

Este método foi descrito pela primeira vez no início do século por Chlumsky (1989) é atualmente bastante utilizado em estudos experimentais. A avaliação é feita no segmento do intestino onde foi realizada a anastomose, sendo que esta fica no meio do segmento. Uma das extremidades é adequadamente fechada e na outra se conecta uma bomba de insuflação. Através desta extremidade infunde-se líquido ou, mais comumente, insufla-se ar atmosférico até que haja ruptura da anastomose. A pressão em que ocorreu a ruptura é registrada por manômetro ou fisiógrafo. Este método pode ser aplicado no animal vivo anestesiado, sem rompimento das aderências ou no segmento de intestino ressecado; os resultados da pressão serão diferentes nos dois casos, porém ambos são aceitos e utilizados (VIZZOTTO JR., 2001).

3.5.2.2 Força de ruptura

A força de ruptura, também denominada de resistência à tração, é a força de tração necessária para romper determinado segmento de tecido. Este método foi inicialmente descrito por Farhat (1958) e aprimorado por Staley, Trippel e Treston (1961). Estes dois autores utilizaram dispositivo mecânico bastante simples para efetuar a tração do segmento de tecido, baseado em recipiente de plástico passível de ser preenchido por líquido, conectado ao tecido por clampes. O recipiente, após conectado ao tecido era preenchido gradativamente por líquido até que houvesse a ruptura tecidual, caracterizando a quantidade de líquido, isto é o peso (força) necessário para rompê-lo. Posteriormente houve aprimoramento do método com o desenvolvimento de dispositivo eletro-mecânico, como o descrito por Jonson (1983), com maior precisão para a aferição da força de ruptura. Este autor introduziu a utilização da força de tração para a avaliação da resistência das anastomoses em processo de cicatrização.

Ikeuchi *et al.* (1999) desenvolveram método mecânico computadorizado de alta precisão para determinação da força de ruptura. Eles utilizaram máquina de ensaio mecânico computadorizada para aferição de tensão, compararam a pressão de ruptura e a força de tração, e concluíram que há forte correlação entre estes dois métodos na avaliação da resistência das anastomoses. Propuseram então a força de

resistência a tração como método eficaz para avaliação da resistência tênsil da anastomose.

A utilização do método de força de tração para avaliação da resistência das anastomoses intestinais, como proposto por Jonsson, Jiborn, Ahonen e Zederferldt (1983), se dá pela fixação das extremidades do segmento de intestino no aparelho seguida da tração até que haja a ruptura deste segmento no local onde há a anastomose. Há duas maneiras de se exercer a tração; uma com aumento contínuo da força, como descrito por Blomquist, Jiborn e Zederfeldt (1984), e outra com aumento da força em intervalos.

Ekmektzoglou *et al.* (2006) propuseram que a força de ruptura seria o método mais adequado em relação à pressão de ruptura para avaliar a resistência tênsil das anastomoses colônicas e portanto sua cicatrização, pois tal método permite a avaliação da ação de uma única força unidirecional (FIGURA 9-A) sobre a área da anastomose enquanto a pressão de ruptura avalia a ação de duas forças bidirecionais sobre a anastomose (FIGURA 9-B). Utilizaram velocidades de tração variando de 0,5 mm/min (ensaio quase estático) a 500 mm/min (ensaio dinâmico). Quanto à força de tração (medida em Newtons - N) obtiveram que a força de ruptura para os segmentos intestinais intactos (sem anastomose) foi de 2,09 N \pm 0,6 N, para os animais saudáveis com anastomose colônica a força de ruptura, na anastomose ou próxima a ela, foi de 1,35 N \pm 0,42 N e para os animais não saudáveis (desnutridos) a força de ruptura foi de 1,09 N \pm 0,19 N.

Diversos estudos experimentais têm utilizado este método para avaliação da cicatrização das anastomoses colônicas (VIZZOTTO JR., 2001; SOARES, 2001; COSTA, 2003; BONIN, 2003; SCHIMITZ, 2006; URDIALES, 2006; TRUBIAN, 2008; OKAWA, 2009). Campos, Branco e Groth (2007) e Campos, (2013) apresentam este método como sendo o mais adequado para avaliação biológica da cicatrização das anastomoses.

A



B

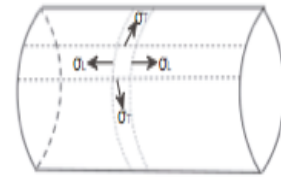


FIGURA 9 – DIAGRAMA DAS FORÇAS AVALIADAS NOS ENSAIOS

A – Força unidirecional de tração; B – Força bidirecional dos ensaios hidráulicos

FONTE: EKMEKTZOGLOU *et al.* (2006).

3.5.3 Parâmetros histológicos

A microscopia óptica é método de avaliação da evolução do processo de cicatrização das anastomoses intestinais utilizado com frequência nos estudos experimentais. Seu valor é, em geral, subestimado, pois permite avaliação de todos os passos do processo cicatricial. O inconveniente consta no fato de que este método é subjetivo. Porém, em mãos experientes que analisem de maneira imparcial é possível extrair dados passíveis de quantificação, fundamentais para avaliação e comparação do processo de cicatrização (VIZZOTTO JR. *et al.*, 2003).

O processo de reparação pode ser avaliado, através da técnica de coloração com hematoxilina-eosina (HE), por diferentes indicadores, tais como: exudato neutrofilico, edema intersticial, necrose de mucosa, necrose transmural, deposição de fibrina, congestão vascular, infiltrado monomorfonuclear, atividade regenerativa da mucosa, proliferação fibroblástica, neoformação vascular, processo granulomatoso e fibrose intersticial (CAMPOS; BRANCO; GROTH, 2007).

Vizzotto Jr. (2001) e Soares (2001) utilizaram o parâmetro histológico em seus trabalhos para avaliação do processo de cicatrização de anastomoses colônicas em ratos. Ambos avaliaram o infiltrado inflamatório, o edema intersticial, a congestão vascular, o tecido de granulação e a fibrose classificando-os e quantificando-os, de acordo com sua presença e intensidade, em ausente, leve, moderado ou intenso.

A polarização com Picrosirius é outro método de grande utilidade na avaliação da cicatrização pois permite a diferenciação entre os diversos tipos de colágeno. Sweat, Puchtler e Rosenthal (1964) adotaram o Sirius-red F3BA (SRF) como corante ideal para avaliação do colágeno tecidual, pois as moléculas de SRF interagem individualmente com as moléculas de colágeno, mantendo relacionamento espacial paralelo com as mesmas, ressaltando a birrefringência. A combinação seletiva com o colágeno permite a visualização como fibras amarelo-brilhantes, sendo que o uso da microscopia polarizada aumenta a especificidade, a sensibilidade e a resolução do método.

A utilização do Sirius-red permite avaliar os diferentes tipos de colágeno, pois de acordo com os tipos, isto é de acordo com a maturidade das fibras colágenas, estas assumem colorações diferentes com este método. O colágeno tipo I, maduro, apresenta forte birrefringência e assume a coloração amarela ou vermelha, enquanto o colágeno tipo III, imaturo, possui aspecto de fibras finas e assume a coloração esverdeada (TRUBIAN, 2008).

Coelho-Lemos *et al.* (2004), avaliando a influência da desnutrição intra-uterina na cicatrização da parede abdominal em ratos lactentes, idealizaram o índice de maturação do colágeno (IMaC), que foi definido com a razão entre as percentagens de colágeno tipo I e tipo III. Este índice tem sido amplamente utilizado por ser efetivo e de fácil reprodutibilidade; valores acima de 1 indicam predomínio de colágeno tipo I, maduro, e valores abaixo de 1 indicam predomínio do colágeno tipo III, imaturo.

3.5.4 Parâmetros imunistoquímicos

As diferentes fases do processo inflamatório que se desenvolve na região das anastomoses intestinais vêm sendo estudadas através de marcadores imunistoquímicos das células presentes durante as diferentes etapas da cicatrização (TORRES *et al.*, 2000; WERNER, 2002; WERNER *et al.*, 2005).

Vários têm sido os marcadores utilizados, na dependência da fase do processo de cicatrização e do tipo celular que se queira avaliar. Os principais marcadores utilizados são o CD 31 para avaliação de neoangiogênese, o Ki67 para avaliação de células em proliferação e a calponina para avaliação da presença de miofibroblastos

3.5.4.1 CD 31

O CD 31 (*cluster of differentiation 31*, i.e. aglomerado de diferenciação 31), também conhecido como molécula de adesão celular endotelial plaquetária 1 (PECAM-1), é proteína que, em humanos é codificada pelo gene PECAM1 encontrado no cromossomo 17 (GUMINA, 1996). O PECAM -1 desempenha papel fundamental na eliminação de neutrófilos envelhecidos (NEWMAN *et al.*, 1990).

O PECAM-1 é encontrado na superfície das plaquetas, monócitos, neutrófilos, e alguns tipos de células-T, e desempenha papel importante nas junções intercelulares das células endoteliais. A proteína codificada é membro da superfamília de imunoglobulinas e está provavelmente envolvido na migração de leucócitos, na angiogênese, e na ativação da integrina (ALBELDA *et al.*, 1991).

Em imunistoquímica, o CD 31 é usado principalmente para demonstrar a presença de células endoteliais em secções histológicas teciduais. Isto permite avaliar o grau de angiogênese tecidual (JACKSON, 2003). Pode ser utilizado também no diagnóstico de angiomas e angiossarcomas pois as células endoteliais malignas geralmente apresentam este antígeno.

Newman *et al.* (1990) mostrou que o marcador imunohistoquímico mais utilizado para avaliação de neoangiogênese foi o CD 31 (PECAM – 1), tendo sido citado em mais de 1.500 artigos sobre o assunto.

3.5.4.1.1 CD 31 como método imunistoquímico de avaliação da cicatrização das anastomoses colônicas

Mall *et al.* (2003) avaliaram a ação da talidomida na cicatrização de anastomoses colônicas em coelhos. Os animais foram submetidos a secção colônica com anastomose e administração intraperitoneal de talidomida ou salina e foram mortos no 3° e 7° pós-operatórios. Foram avaliadas a pressão de ruptura e o escore de angiogênese avaliado pela intensidade da expressão do CD 31. Os autores não observaram diferença significativa na pressão de ruptura entre os grupos, no entanto observaram redução no escore de angiogênese nos animais que receberam talidomida e foram mortos no 3° dia ($p < 0,05$).

Yuceyar, Erturk e Temiz (2005) avaliaram a ação antiangiogênica do paclitaxel na anastomose colônica de ratos. Os autores administraram salina ou

paclitaxel, nas doses de 2,5 mg/kg ou 3,5 mg/kg, intraperitonealmente. Os animais foram mortos no 3° e no 7° dia de pós-operatório. Foram avaliadas a pressão de ruptura da anastomose, os níveis de hidroxiprolina e a neovascularização pelo CD 31. Não houve diferença na pressão de ruptura entre os grupos. Os níveis de hidroxiprolina foram menores nos animais que receberam paclitaxel em relação ao controle ($p=0,001$). A neovascularização foi menor nos animais que receberam paclitaxel em relação ao controle nos animais mortos no 3° dia de pós-operatório ($p=0,029$ para dose de 2,5 mg/kg e $p=0,005$ para dose de 3,5 mg/kg).

3.5.4.2 Ki67

O antígeno Ki-67 é proteína nuclear que está associado com a proliferação celular. Além disso, está associada com a transcrição de RNA ribossomal. A inativação de antígenos Ki-67 conduz à inibição da síntese de RNA ribossômico (YU WOODS; LEVINS, 1992; YU; FILIPEM, 1993; BULLWINKEL *et al.*, 2005; RAHMANZADEH *et al.*, 2007).

A proteína Ki-67 (também conhecido como MKI67) é marcador celular para proliferação, estritamente associado com a proliferação celular, frequentemente utilizado na avaliação tumoral (BACCHI; GOWN, 1993), mas também largamente difundido para avaliação do processo inflamatório (BETZ *et al.*, 1993). Segundo Scholzen *et al.* (2005), durante a interfase, o antígeno Ki-67 pode ser detectado exclusivamente dentro do núcleo da célula, ao passo que na mitose a maioria da proteínas é transferida para a superfície dos cromossomos. O Ki-67 está presente em todas as fases ativas do ciclo celular (G1, S, G2, e mitose), mas está ausente em células em repouso (G0).

3.5.4.2.1 Ki67 como método imunistoquímico de avaliação da cicatrização das anastomoses colônicas

Canbay *et al.* (2010) utilizaram o Ki67 como elemento para avaliação da ação do Montelukast (antagonista selectivo dos receptores de leucotrienos cisteínicos 1 - CysLT1R – utilizado no tratamento oral da asma) na cicatrização das anastomoses intestinais de ratos. Os autores observaram que o Montelukast causa

comprometimento da cicatrização de feridas, sem alterar a pressão de ruptura da anastomose e reverte o dano oxidativo das anastomoses de cólon em ratos.

3.5.4.3 Calponina

A Calponina é proteína expressa no músculo liso, ligada à calmodulina e à actina. Ela promove a polimerização de actina e inibe a atividade da actina-miosina ATPase ativada. Apesar da caracterização molecular e funcional de calponina *in vitro*, seu papel fisiológico *in vivo* ainda não foi totalmente esclarecido (YOSHIKAWA *et al.*, 1998).

Appel *et al.* (2010) mostraram que a calponina, pela sua atuação no citoesqueleto, regula a migração tecidual do fibroblasto. Tang *et al.* (2006) mostraram que calponina desempenha papel importante na migração das células endoteliais *in vivo* e *in vitro* e que a sua expressão é crítica para o desenvolvimento vascular adequado.

Como a principal característica do processo inflamatório é migração e a proliferação celular (dos miofibroblastos e fibroblastos), o que caracteriza a fase de fibroplasia, a calponina torna-se importante marcador para a detecção dos miofibroblastos neste meio.

MATERIAL E MÉTODO

4 MATERIAL E MÉTODO

Este estudo faz parte da linha de pesquisa em Cicatrização e Medidas de Resistência dos Tecidos do programa de Pós-graduação em Clínica Cirúrgica da Universidade Federal do Paraná em parceria com o Departamento de Ciências Morfológicas (DCM) da Universidade Estadual de Maringá e o COMCAP (Complexo de Centrais de Apoio à Pesquisa), laboratórios em que foram realizadas as etapas experimentais. Foram obedecidas as normas de pesquisa animal estabelecidas na legislação nacional, de acordo com os Princípios Éticos na Experimentação Animal postulados pelo Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA). O trabalho de pesquisa foi devidamente aprovado pelo Comitê de Conduta Ética no Uso de Animais em Experimentação, da Universidade Estadual de Maringá sob o parecer número 032/2013 – CEAE (ANEXO 2).

4.1 ANIMAIS

Para a realização deste estudo experimental foram utilizados 160 ratos Wistar (*Rattus norvegicus albinus*, *Roentia Mammalia*), do sexo masculino, com peso corporal variando entre 200 e 330 gramas ($294,8 \pm 1,67g$), provenientes do Biotério Central da UEM.

Os animais foram alojados em caixas individualizadas, no Biotério Setorial do DCM, e receberam água e ração *ad libitum* ou dieta racionada no grupo desnutrido, pela metodologia de *pair feeding*, isto é, cada animal submetido ao racionamento recebeu metade da quantidade da dieta que seu par controle nutrido havia recebido no dia anterior.

As condições ambientais foram de: temperatura de 22° C, umidade relativa do ar de 55% e ciclo claro-escuro de 12 horas.

Todos os animais tiveram o peso corporal aferido diariamente desde o dia anterior ao início do experimento.

Os animais foram alojados em gaiolas individuais dois dias anteriores ao início do delineamento experimental para aclimação às condições do biotério e do experimento.

4.2 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL

Os ratos foram divididos em 2 grupos principais: ratos nutridos (n=80) e ratos desnutridos (n=80). O delineamento do experimento seguiu o diagrama abaixo (FIGURA 10).

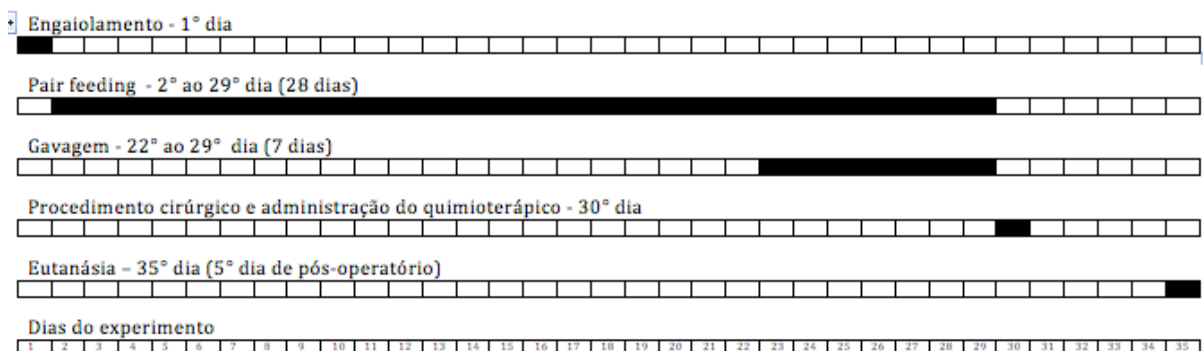


FIGURA 10 – DELINEAMENTO EXPERIMENTAL E CRONOLOGIA DO EXPERIMENTO
 FONTE: O AUTOR (2014).

Os ratos que foram adequadamente nutridos (N), receberam ração *ad libitum* nas quatro semanas anteriores ao procedimento cirúrgico e foram divididos em 4 subgrupos:

O grupo NAS - ratos nutridos, azeite-salina - (n=20) foi submetido a alimentação com ração *ad libitum* por quatro semanas e recebeu por uma semana, antes do procedimento cirúrgico, via gavagem orogástrica, suplementação com solução isocalórica e isovolumétrica de azeite de oliva e recebeu também injeção intraperitoneal de 3 ml de solução salina isotônica 0,9% imediatamente após o procedimento cirúrgico.

O grupo NOS - ratos nutridos, ômega-3-salina - (n=20) foi submetido a alimentação com ração *ad libitum* por quatro semanas e recebeu por uma semana, antes do procedimento cirúrgico, via gavagem orogástrica, suplementação com solução isocalórica de ácido graxo ômega-3 na dose de 100 mg/kg e recebeu também injeção intraperitoneal de 3 ml de solução salina isotônica 0,9% imediatamente após o procedimento cirúrgico.

O grupo NAP - ratos nutridos, azeite-paclitaxel - (n=20) foi submetido a alimentação com ração *ad libitum* por quatro semanas e recebeu por uma semana, antes do procedimento cirúrgico, via gavagem orogástrica, suplementação com

solução isocalórica e isovolumétrica de azeite de oliva e recebeu também injeção intraperitoneal de paclitaxel na concentração de 3,5 mg/kg imediatamente o procedimento cirúrgico.

O grupo NOP - ratos nutridos, ômega-3-paclitaxel - (n=20) foi submetido a alimentação com ração *ad libitum* por quatro semanas e recebeu por uma semana, antes do procedimento cirúrgico, via gavagem orogástrica, suplementação com solução isocalórica de ácido graxo ômega-3 na dose de 100 mg/kg e recebeu também injeção intraperitoneal de paclitaxel na concentração de 3,5 mg/kg imediatamente após o procedimento cirúrgico.

Os ratos submetidos a processo de desnutrição pela técnica de *pair feeding* (alimentação pareada) por quatro semanas foram chamados de ratos desnutridos (D) e também foram divididos em 4 subgrupos:

O grupo DAS - ratos desnutridos, azeite-salina - (n=20) recebeu alimentação com ração pelo método de *pair feeding* (50% do ração recebida pelo seu par controle no dia anterior), por quatro semanas antes do procedimento cirúrgico, sendo que por uma semana anterior a tal procedimento recebeu suplementação, via gavagem orogástrica, com solução isocalórica e isovolumétrica de azeite de oliva e recebeu também injeção intraperitoneal de 3 ml de solução salina isotônica 0,9% imediatamente após o procedimento cirúrgico.

O grupo DOS - ratos desnutridos, ômega-3-salina - (n=20) recebeu alimentação com ração pelo método de *pair feeding*, por quatro semanas antes do procedimento cirúrgico, sendo que por uma semana anterior a tal procedimento recebeu suplementação, via gavagem orogástrica, com solução isocalórica de ácido graxo ômega-3 na dose de 100 mg/kg e recebeu também injeção intraperitoneal de 3 ml de solução salina isotônica 0,9% imediatamente após o procedimento cirúrgico.

O grupo DAP - ratos desnutridos, azeite-paclitaxel - (n=20) recebeu alimentação com ração pelo método de *pair feeding*, por quatro semanas antes do procedimento cirúrgico, sendo que por uma semana anterior a tal procedimento recebeu suplementação, via gavagem orogástrica, com solução isocalórica e isovolumétrica de azeite de oliva e recebeu também injeção intraperitoneal de paclitaxel na concentração de 3,5 mg/kg imediatamente após o procedimento cirúrgico.

O grupo DOP - ratos desnutridos, ômega-3-paclitaxel - (n=20) recebeu alimentação com ração pelo método de *pair feeding*, por quatro semanas antes do

procedimento cirúrgico, sendo que por uma semana anterior a tal procedimento recebeu suplementação, via gavagem orogástrica, com solução isocalórica de ácido graxo ômega-3 na dose de 100 mg/kg e recebeu também injeção intraperitoneal de paclitaxel na concentração de 3,5 mg/kg imediatamente após o procedimento cirúrgico.

4.3 SOLUÇÕES LIPÍDICAS

As soluções lipídicas utilizadas foram azeite de oliva extra-virgem (TABELA 2) e solução de ácidos graxos ômega-3 composta por EPA e DHA na proporção de 80:20 numa concentração de 20 mg/ml (ANEXOS 3 e 4). A administração desta solução foi feita na dosagem de 100 mg/kg via gavagem orogástrica, sem anestesia (FIGURA 11).



FIGURA 11 – REALIZAÇÃO DA GAVAGEM PARA ADMINISTRAÇÃO DA SOLUÇÃO LIPÍDICA (SEM ANESTESIA)
FONTE: O AUTOR (2014).

TABELA 2 – COMPOSIÇÃO DO AZEITE DE OLIVA UTILIZADO

COMPOSIÇÃO DO AZEITE UTILIZADO	
Cada ml contém:	
Kcal	8,3
Gorduras totais (g)	0,92
Gorduras saturadas (g)	0,14
Gorduras monoinsaturadas (g)	0,71
Gorduras poliinsaturadas (g)	0,06

FONTE: Informações contidas no rótulo do produto utilizado.

4.4 PROCEDIMENTO CIRÚRGICO

4.4.1 Pré-operatório

Todos os animais foram submetidos a jejum de 12 horas prévias ao procedimento cirúrgico com o objetivo de diminuir o conteúdo fecal no intestino grosso do rato, local em que foram feitas as anastomoses.

4.4.2 Per-operatório

Para procedimento cirúrgico, a anestesia foi feita com a associação de xilasina na dose de 10 mg/kg associada a ketamina 50 mg/kg, ambas administradas de forma intra-muscular na panturrilha dos animais. Após a anestesia foi feita tricotomia abdominal seguida da anti-sepsia abdominal. Através de uma incisão abdominal mediana de cerca de 5 cm de extensão obteve-se acesso à cavidade abdominal. Foram realizadas duas secções totais do cólon (colotomia), com preservação da arcada vascular, uma no segmento proximal do cólon, a 4,0 cm da válvula ileocecal e outra no segmento distal do cólon, 3,0 cm acima da reflexão peritoneal do reto (FIGURA 12).

As reconstruções foram realizadas por meio de anastomoses término-terminais em plano único total, com sutura interrompida utilizando 8 pontos de fio monofilamentar sintético, inabsorvível da marca Ethicon® 6-0.

O fechamento da parede foi realizado com sutura contínua com monofilamentar sintético, inabsorvível da marca Ethicon® 4-0 em dois planos: músculo-aponeurótico e pele.

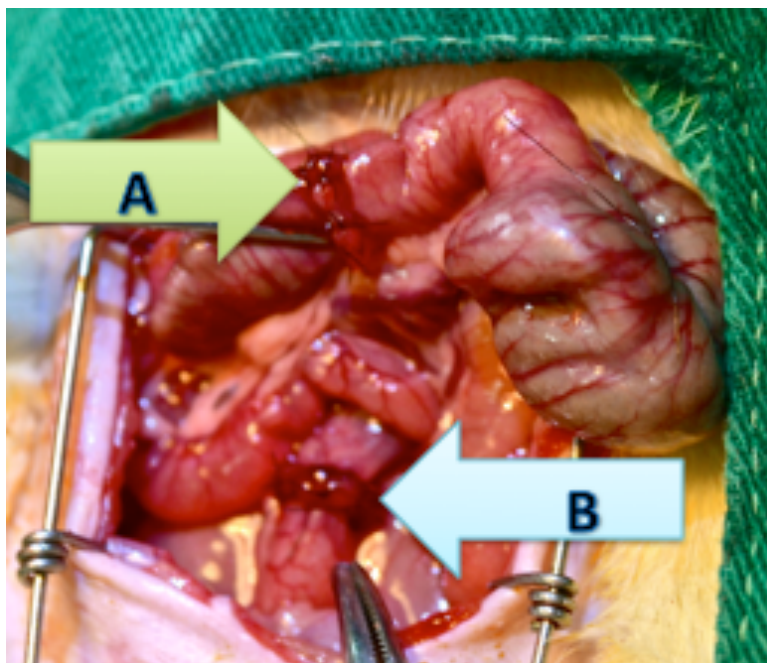


FIGURA 12 – ANASTOMOSES COLÔNICAS
A – Anastomose Proximal; B – Anastomose distal
FONTE: O AUTOR (2014).

4.4.3 Pós-operatório

Após a recuperação anestésica cada animal foi reconduzido à caixa, onde, após uma hora de pós-operatório, recebeu água e ração *ad libitum* e sob as mesmas condições já citadas de temperatura, iluminação e umidade permaneceram até o momento do óbito.

Os ratos foram pesados e inspecionados diariamente no período da manhã procedendo-se à avaliação da ferida quanto à presença de complicações (infecção de ferida cirúrgica) e óbito, de acordo com o grupo.

4.5 QUIMIOTERAPIA

A droga utilizada foi o paclitaxel na dose de 3,5 mg/Kg em injeção intraperitoneal diluída em solução salina isotônica em concentração de 0,35 mg/ml.

A administração foi feita com técnicas de anti-sepsia no quadrante inferior esquerdo do abdome do animal imediatamente após o fechamento da cavidade.

4.6 MORTE DOS ANIMAIS

Os animais foram mortos com dose letal da associação de xilasina e ketamina no quinto dia de pós-operatório. Após isto foi feita a celiotomia mediana com acesso à cavidade abdominal.

Após inspeção da cavidade abdominal retiraram-se os segmentos intestinais proximais (com cerca de 2,0 cm de extensão) e distais (com 4 cm de comprimento), ambos contendo a anastomose na porção média (FIGURA 13).

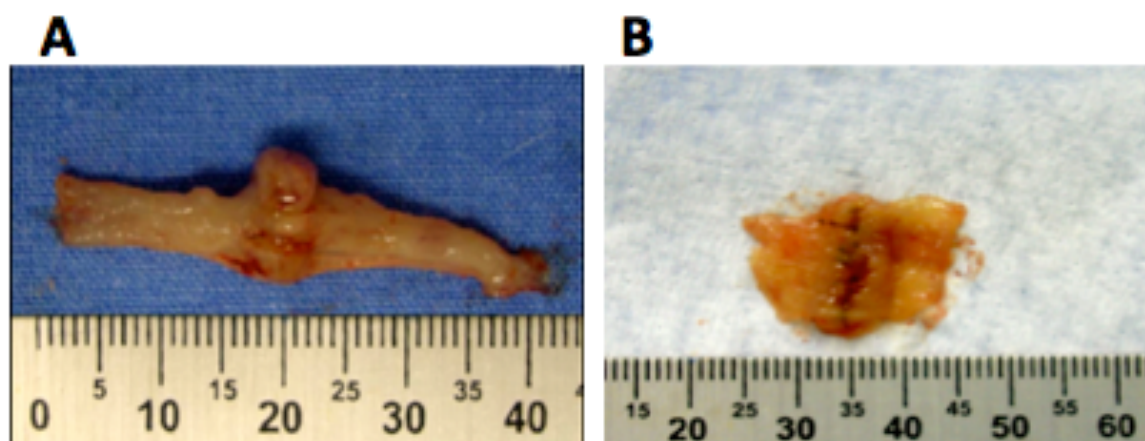


FIGURA 13 – CORPOS DE PROVA (CP)

A – Segmento intestinal distal (CPD) e B – Segmento intestinal proximal (CPP)

FONTE: OKAWA (2009). Modificado pelo autor.

A anastomose do segmento colônico distal (CPD – corpo de prova distal) foi colocada em recipiente com soro fisiológico para ser utilizada como corpo de prova para o teste de tração (FIGURA 13-A).

A anastomose do segmento colônico proximal (CPP – corpo de prova proximal) foi seccionada longitudinalmente na borda anti-mesentérica e estendida em um papel filtro e armazenada em frasco com formol tamponado a 10% para estudo anátomo-patológico e imunoistoquímico (FIGURA 13-B).

4.7 DADOS AVALIADOS

4.7.1 Peso do animal

Os animais foram pesados diariamente no mesmo horário (7:00) durante todo o processo experimental e os dados expressos em gramas (g). Para aferição peso dos animais foi utilizada balança eletrônica marca Filizola®, modelo BP3 aferida pelo INMETRO.

4.7.2 Evolução clínica

Os animais foram acompanhados diariamente e os que evoluíram a óbito antes do quinto dia foram submetidos a necrópsia para avaliação abdominal e definição se a *causa mortis* tinha relação com complicações pós-operatória, presença de fístula ou peritonite.

4.7.3 Achados intra-abdominais pós-morte

Após a morte dos animais, os mesmos foram submetidos a celiotomia (FIGURA 14) e foram observados os seguintes itens: presença de infecção de sítio cirúrgico, aderências e complicações anastomóticas (deiscência ou estenose).



FIGURA 14 – EXEMPLO DE CELIOTOMIA APÓS A MORTE DOS ANIMAIS
FONTE: O AUTOR (2014).

4.7.3.1 Infecção de sítio cirúrgico

Foi avaliada a presença de infecção em sítio cirúrgico, considerada como presença de secreção na ferida abdominal.

4.7.3.2 Aderências

As aderências intestinais (FIGURA 15) foram quantificadas segundo o índice de Knighthly (KNIGHTLY; AGOSTINO; CLIFFTON 1962):

Grau 0 – ausência de aderências.

Grau 1 – aderência única, fina e facilmente separável.

Grau 2 – presença de aderências em pequena extensão, fracas e que se rompem com pequena tração.

Grau 3 – presença de aderências viscerais extensas que se estendem até à parede.

Grau 4 – numerosas, extensas e densas aderências que envolvem o mesentério, intestino, omento e parede abdominal

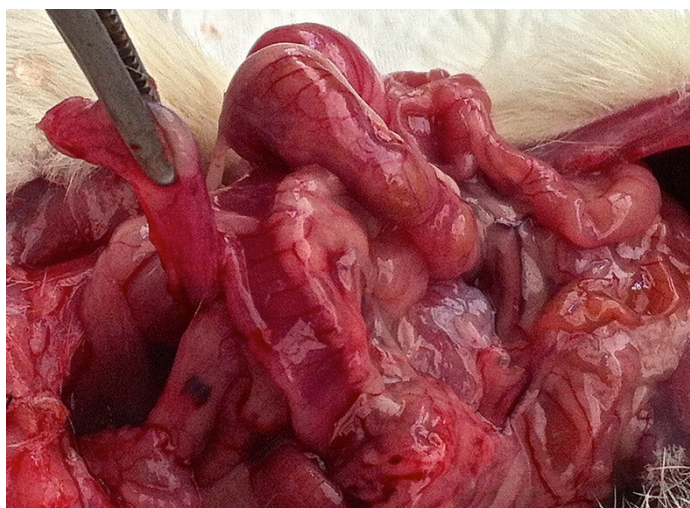


FIGURA 15 – EXEMPLO DE ADERÊNCIAS INTESTINAIS
FONTE: O AUTOR (2014).

4.7.3.3 Complicações anastomóticas

As complicações na anastomose avaliadas foram a deiscência e a estenose.

A deiscência da anastomose (fístula) foi considerada quando houve presença de secreção intestinal no interior da cavidade peritoneal ou quando houve abscesso peri-anastomótico (FIGURA 16).

A estenose da anastomose foi definida como um estreitamento em que a razão da largura da alça intestinal proximal e distal à anastomose for ≥ 2 .

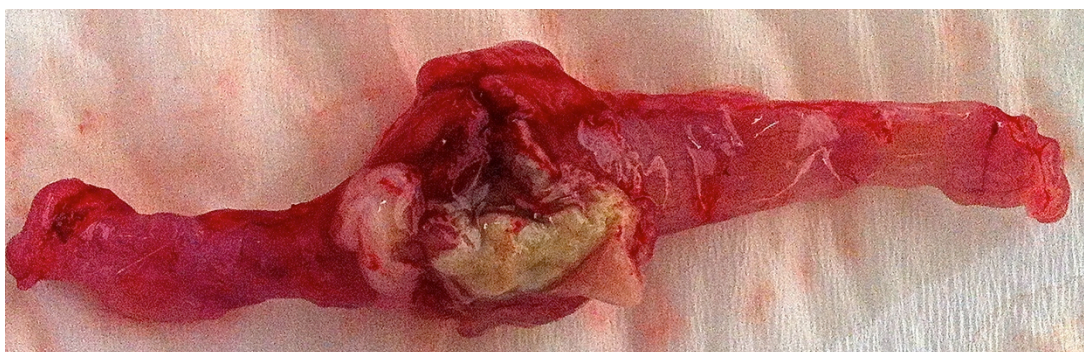


FIGURA 16 – EXEMPLO DE ABSCESSO PERI-ANASTOMÓTICO
FONTE: O AUTOR (2014).

4.7.4 Força tênsil

O corpo de prova distal (CPD) foi submetido ao teste de tração para avaliar a força tênsil. Para avaliação da força tênsil da anastomose foi utilizada máquina de ensaio mecânico computadorizada, da marca EMIC[®] (FIGURA 17), modelo DL 1000 (EMIC, São José dos Pinhais – PR) do COMCAP - UEM.



FIGURA 17 – TENSÍOMETRO EMIC[®], DL 1000, (EMIC SÃO JOSÉ DOS PINHAIS – PR
FONTE: O AUTOR (2014).

A fixação do corpo de prova foi feita, individual e manualmente, ao equipamento com presilha de pressão ajustável, de forma a conter a anastomose em sua porção média, equidistante das extremidades.

A tração ocorreu com velocidade de 50 mm/minuto (FIGURA 18). Foi utilizada uma célula de carga de 1 Kg com sensibilidade de 50 gramas, para um limite de força de 4500 gf, até o colapso de 100% com ruptura do diâmetro total da anastomose do corpo de prova distal (CPD). A margem de erro estimada foi de 0,5%.

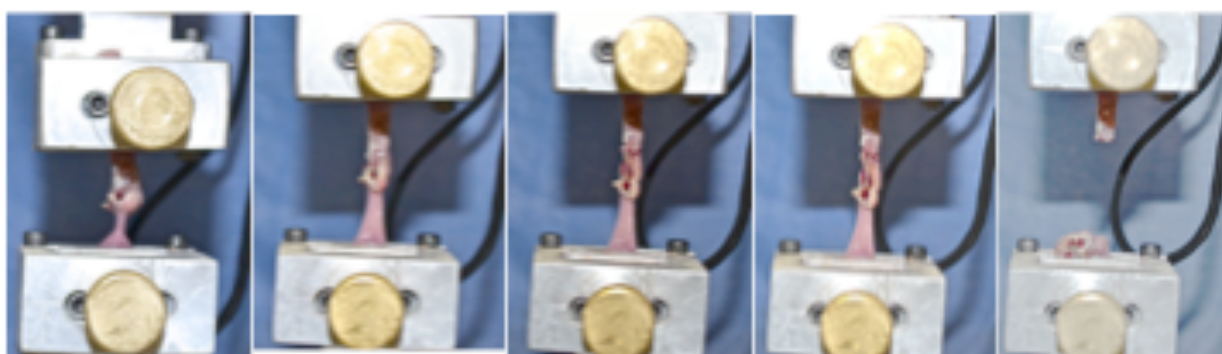


FIGURA 18 – SEQUÊNCIA DE TRAÇÃO DO CORPO DE PROVA DISTAL (CPD) ATÉ SUA RUPTURA COMPLETA
FONTE: O AUTOR (2014).

Todos os corpos de prova distais (CPDs), foram submetidos ao teste em intervalo de tempo inferior a duas horas após sua ressecção. A aquisição dos resultados foi feita utilizando software TestScript®, versão 3.04, acoplado à máquina de ensaio mecânica, permitindo a obtenção dos dados avaliados.

As variáveis avaliadas foram: força máxima de tração – FMT (FIGURA 19-A) em N (Newtons) e força de ruptura completa – FRC (FIGURA 19-B) em N e a Tensão Máxima (TM) em N/cm^2 .

A FMT foi definida como a força máxima suportada pela anastomose imediatamente antes do início da ruptura, a FRC foi considerada a força necessária para romper completamente a anastomose. A tensão máxima (TM), resultante do cálculo da força pela área, foi fornecida pelo software.

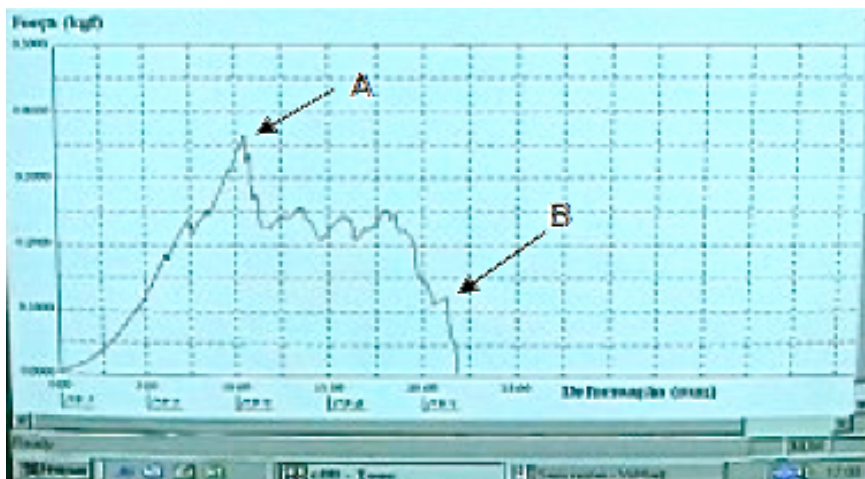


FIGURA 19 - GRÁFICO DO ESTUDO DE TRAÇÃO NOS CORPOS DE PROVA
 A – Força máxima de tração (FMT) e B – Força de ruptura completa (FRC)
 FONTE: O AUTOR (2014).

4.7.5 Avaliação anátomo-patológica

O fragmento proximal do cólon (CPP) de cada animal foi aberto em sentido longitudinal, na borda antimesentérica, dissecado para a remoção das aderências, sem comprometer a integridade da anastomose, fixado em formalina tamponada a 10% e encaminhado para o laboratório de histotécnica para o processamento histológico, incluindo desidratação, diafanização e emblocamento em parafina histológica. Após microtomia a 6 μ m de espessura, os cortes histológicos foram submetidos à coloração pelas técnicas de hematoxilina-eosina (HE), picro-sirius red (PSR) e avaliação imunoistoquímica.

4.7.5.1 Hematoxilina-eosina

A técnica de hematoxilina-eosina (HE) foi utilizada para avaliar o grau de intensidade do infiltrado inflamatório (atividade celular), do edema intersticial, da congestão vascular, do tecido de granulação e da fibrose (FIGURA 20).

Os dados foram classificados em acentuado, moderado, discreto e ausente, de acordo com a intensidade em que foram encontrados, e transformados em variáveis quantitativas através da atribuição de índice aos achados histológicos, da seguinte maneira: ausente, índice 0; discreto, índice 1; moderado, índice 2 e acentuado, índice 3 (QUADRO 1).

Cada lâmina foi avaliada em campos de grande aumento tendo a anastomose na porção central, utilizando objetiva de 20x (aumento de 200 vezes).

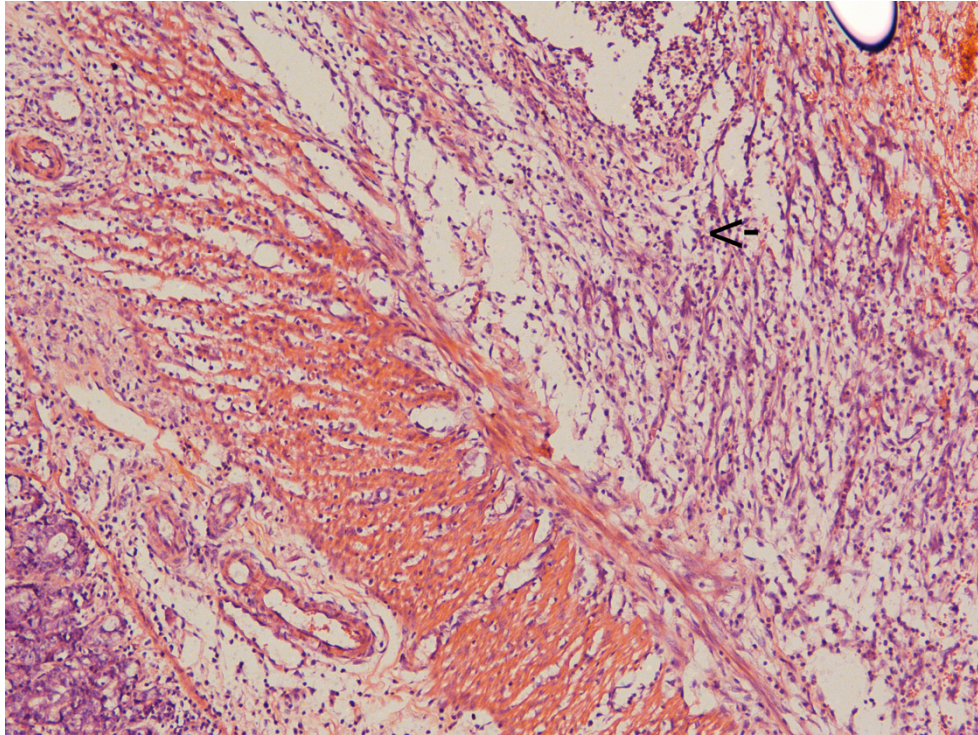


FIGURA 20 – EXEMPLO DE LÂMINA COM A COLORAÇÃO DE HEMATOXILINA-EOSINA DO LOCAL DA ANASTOMOSE - Seta – infiltrado inflamatório
FONTE: O AUTOR (2014).

ACHADOS HISTOLÓGICOS	INTENSIDADE			
	AUSENTE	DISCRETO	MODERADO	ACENTUADO
Infiltrado Inflamatório	0	1	2	3
Edema	0	1	2	3
Congestão	0	1	2	3
Tecido de Granulação	0	1	2	3
Fibrose	0	1	2	3

QUADRO 1 – INTENSIDADE DOS ACHADOS HISTOLÓGICOS PELA TÉCNICA DE HEMATOXILINA-EOSINA
FONTE: O AUTOR (2014).

4.7.5.2 *Picrosirius-red*

Os cortes histológicos foram submetidos à coloração de *picrosirius-red* F3BA para identificação das fibras colágenas maduras e imaturas por técnica de microscopia com luz polarizada e análise morfométrica computadorizada.

Cada lâmina foi confeccionada contendo quatro cortes histológicos seriados

do segmento colônico proximal (corpo de prova proximal – CPP) com distância de 6 μm entre cada corte. Cada corte foi avaliado e submetido a leitura por meio de microscópio óptico da marca *Nikon® Eclipse 80i* (Nikon, Tóquio, Japão), em aumento de 200 vezes, utilizando-se fonte de luz polarizada *C-SP simple polarizer*. Foram analisados dois campos, proximal e distal à linha anastomótica, contendo toda a espessura do segmento da alça colônica (FIGURA 21). As imagens foram capturadas por câmera *Nikon DS-F11C cooled digital®* (Nikon, Tóquio, Japão), transmitidas através do sistema *D-DA simple analyzer*, ao monitor colorido LCD *G205HV®*, congeladas e digitalizadas por meio de computador *Intel Pentium Processor® E 5700 LGA775*. Foi realizada a análise das imagens por meio de aplicativo *Image Pro-plus®* versão 4.5 para *Windows* em computador da linha *Pentium®III 733 Mhz*. A calibração do sistema foi baseada na densidade óptica dos pontos de resolução (“pixels”) que formam as imagens, selecionando-se o valor limite de melhor resolução.

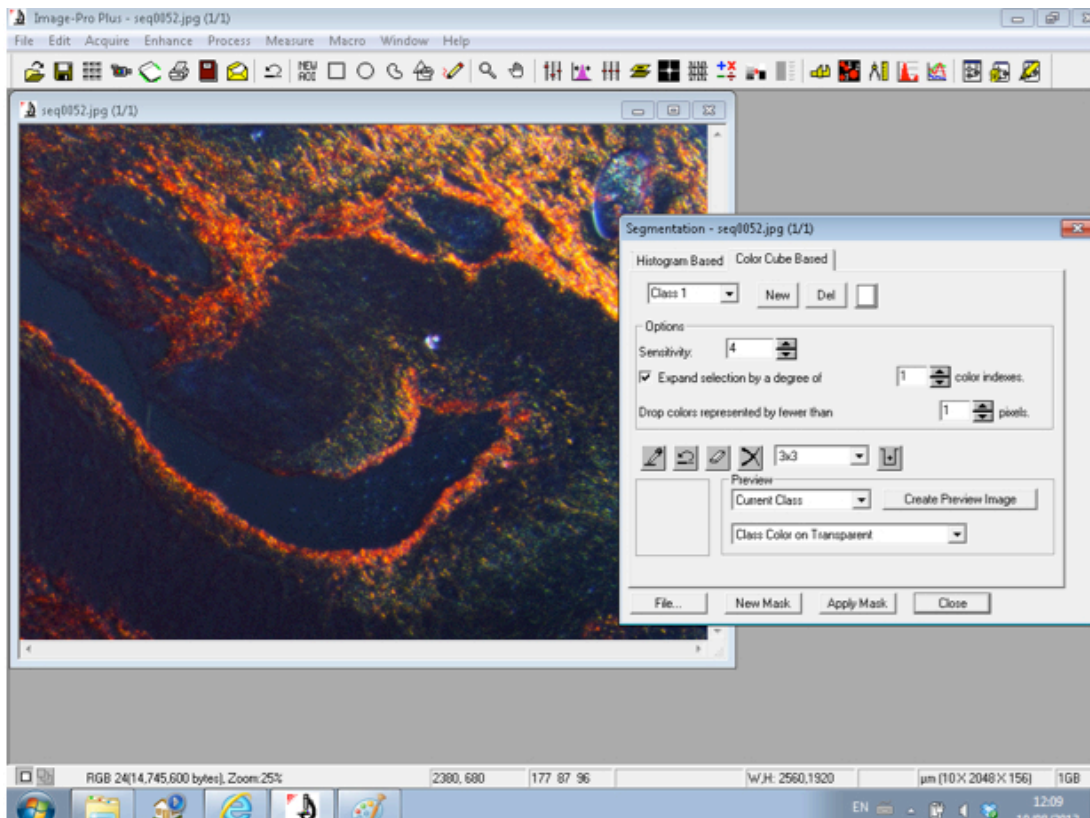


FIGURA 21 – EXEMPLO DE ACHADOS HISTOLÓGICOS DIGITALIZADOS PARA ANÁLISE DE DEPOSIÇÃO DE COLÁGENO. IMAGEM CAPTADA DIRETAMENTE DA MICROSCOPIA PELA CÂMERA SONY E CAPTURADA DA TELA DO COMPUTADOR
 FONTE: O AUTOR (2014).

No sistema RGB (“Red, Green, Blue”) foram considerados tons de vermelho, amarelo e laranja como colágeno tipo I (FIGURA 22) e tons de verde como colágeno tipo III (FIGURA 23). Todas as lâminas foram avaliadas sob as mesmas condições de regulagem, dentro dos parâmetros exigidos pelo referido aplicativo.

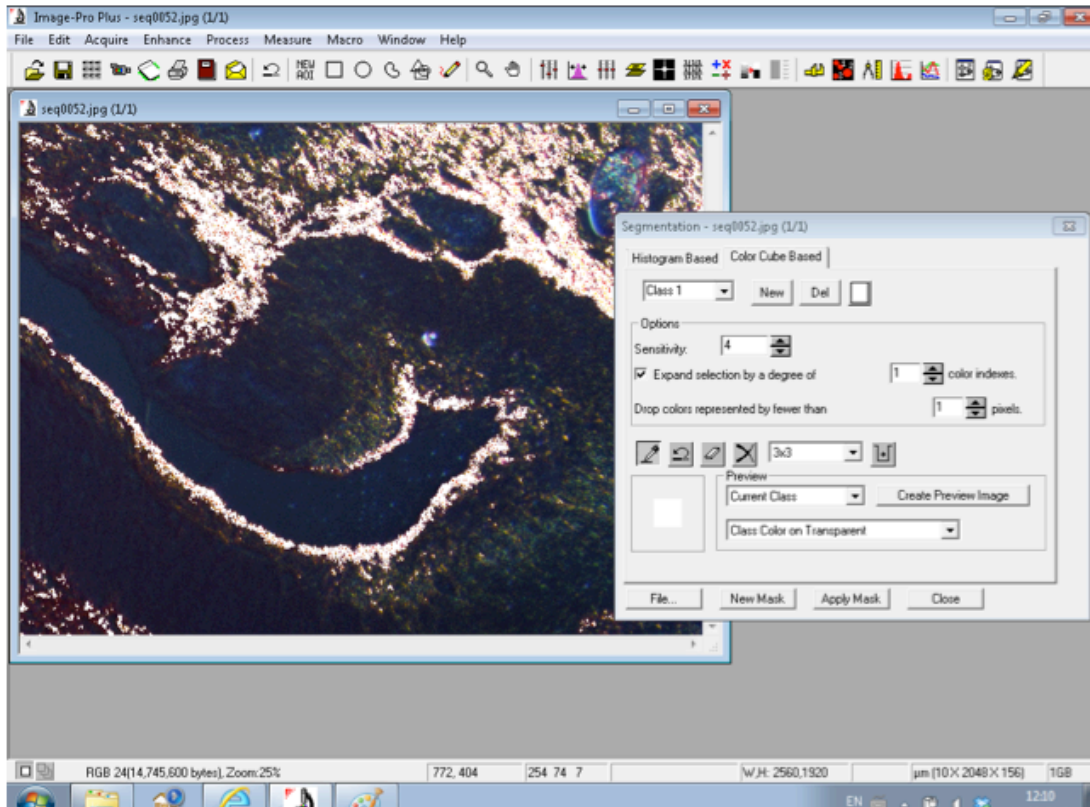


FIGURA 22 – EXEMPLO DE ACHADOS HISTOLÓGICOS DIGITALIZADOS PARA ANÁLISE DE DEPOSIÇÃO DE COLÁGENO. IMAGEM CAPTADA DIRETAMENTE DA MICROSCOPIA PELA CÂMERA SONY E CAPTURADA DA TELA DO COMPUTADOR. Demarcação do colágeno tipo I
FONTE: O AUTOR (2014).

Nos cortes histológicos analisados determinou-se o campo microscópico sobre a linha de sutura da anastomose e foram obtidas medidas de duas áreas distintas (proximal e distal). Em cada uma delas calculou-se o percentual da área ocupada pelas fibras que continham colágeno dos tipos I e III, em relação à área total examinada. A partir da medida da porcentagem de fibras colágenas foi calculado o índice de maturação de colágeno (IMaC), definido como a razão entre essas porcentagens (QUADRO 2). Valores de IMaC maiores do que 1 (um) indicam que a porcentagem de colágeno tipo I é maior do que a porcentagem de colágeno do tipo III. Como foram avaliados quatro cortes histológicos de cada anastomose, foi estabelecida a média aritmética destes valores, sendo denominado IMaC médio

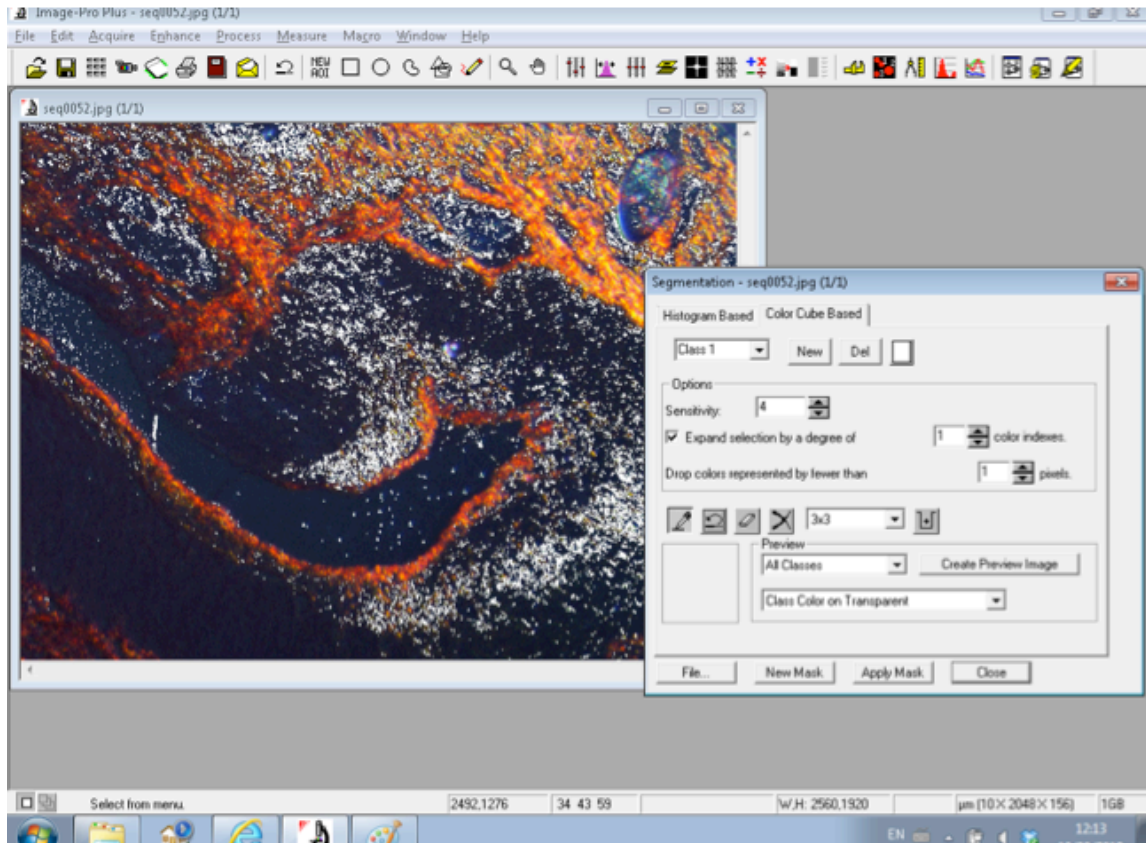


FIGURA 23 – EXEMPLO DE ACHADOS HISTOLÓGICOS DIGITALIZADOS PARA ANÁLISE DE DEPOSIÇÃO DE COLÁGENO. IMAGEM CAPTADA DIRETAMENTE DA MICROSCOPIA PELA CÂMERA SONY E CAPTURADA DA TELA DO COMPUTADOR. Demarcação do colágeno tipo III
 FONTE: O AUTOR (2014).

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

QUADRO 2 - ÍNDICE DE MATURAÇÃO DO COLÁGENO
 (IMaC) IMaC = Índice de maturação do colágeno; % = Porcentagem.
 FONTE: TRUBIAN (2008).

4.7.6 Avaliação imunoistoquímica

Para o estudo imunoistoquímico utilizou-se a técnica descrita por Hsu (1981). Os cortes foram à desparafinização e hidratação, sendo então imersos em tampão de ácido cítrico pH 6,0 e submetidos a recuperação antigênica pelo calor úmido em panela de pressão (HIER); seguido por lavagem com água destilada e bloqueio da peroxidase endógena em peróxido de hidrogênio a 3%.

Os anticorpos aplicados foram CD 31 (*Monoclonal, código JC70, Cell Marque, Moleenstraat, NL*), Calponina (*Monoclonal, código CALP, Cell Marque, Moleenstraat, NL*) e Ki-67 (*Monoclonal, código SP6, Cell Marque, Moleenstraat, NL*), em lâminas separadas, incubando-as em câmara úmida à temperatura de 37°C por 30 minutos e posteriormente a 4°C por período de 12 horas. A utilização destes marcadores foi feita objetivando a avaliação do número de vasos (neoangiogênese), do número de miofibroblastos e do número de células em fase de replicação celular (fora de G0), respectivamente, presentes na área do processo de cicatrização.

A recuperação antigênica foi feita expondo os materiais a calor e pressão. A revelação dos casos foi feita pelo cromógeno marrom *Diaminobenzidine* (DAB), sendo a técnica de detecção feita por polímero-HRP (livre de Biotina). Controles positivos e negativos foram utilizados para validar as reações.

As lâminas foram analisadas no Microscópio *Nikon Eclipse 50i* (Nikon, Tóquio, Japão). Para a coleta das imagens das lâminas analisadas utilizou-se do sistema de captura de imagens de marca OPT 5000 *Power Opticam*®, de 5.0 *megapixels*, conectado a computador da linha HP i3 *All-in-one*®, com utilização de *software* de análise de imagens *VMS 3.5 Measuring Software HPower*®.

Foi feita análise quantitativa do número de vasos, de fibroblastos e células replicantes na área da anastomose, em uma extensão de 10 mm proximal e 10 mm distal a esta, em quatro campos distintos escolhidos aleatoriamente, conforme descrito abaixo.

4.7.6.1 Número de vasos sanguíneos

A avaliação do número de vasos sanguíneos (FIGURA 24) foi efetuada contando-se o número de estruturas circulares com núcleos corados positivamente pelo anticorpo monoclonal CD31 (corados em marrom), que revela as células endoteliais da camada íntima dos vasos. A contagem foi feita na área da anastomose, em uma extensão de 10 mm proximal e 10 mm distal a esta, em aumento de 200 vezes, em quatro campos distintos, escolhidos aleatoriamente, expressa em médias aritméticas.

Para a coleta das imagens das lâminas analisadas utilizou-se o sistema de Captura de imagens de marca OPT 5000 *Power Opticam*®, de 5.0 *megapixels*,

conectado a computador da linha HP i3 *All-in-one*®, com utilização de *software* de análise de imagens VMS 3.5 *Measuring Software HPower*®.

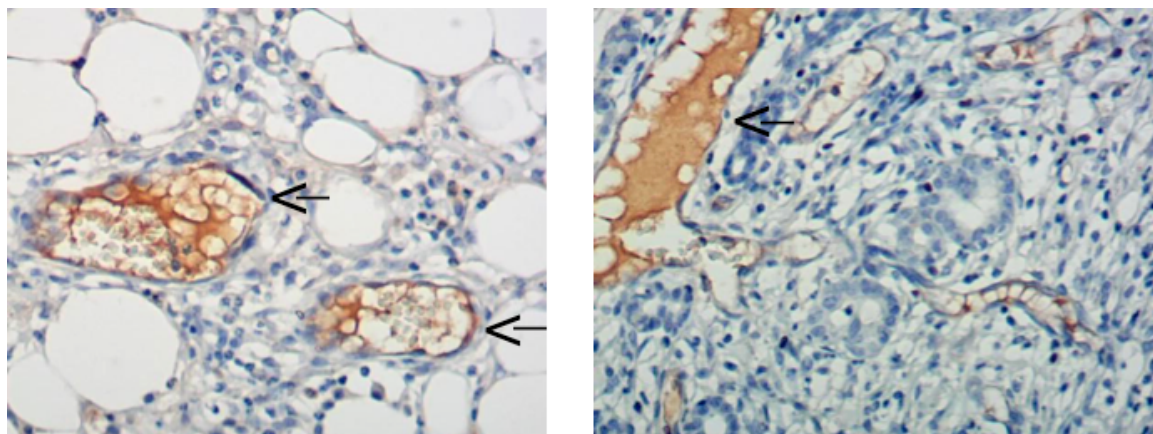


FIGURA 24 – EXEMPLOS DE LÂMINA CORADA COM MARCADOR CD 31 CORANDO CÉLULAS ENDOTELIAIS, AUMENTO DE 200 VEZES (SETAS)
FONTE: O AUTOR (2014).

4.7.6.2 Número de miofibroblastos

A avaliação do número de miofibroblastos (FIGURA 25) foi realizada pela contagem das células coradas positivamente pela coloração imunoistoquímica com anticorpo monoclonal Calponina em campo de grande aumento (objetiva de 40X). A contagem foi feita na área da anastomose, em uma extensão de 10 mm proximal e 10 mm distal a esta, em aumento de 400 vezes, em quatro campos distintos, escolhidos aleatoriamente, expressa em médias aritméticas.

Para a coleta das imagens das lâminas analisadas utilizou-se o sistema de Captura de imagens de marca OPT 5000 *Power Opticam*®, de 5.0 *megapixels*, conectado a computador da linha HP i3 *All-in-one*®, com utilização de *software* de análise de imagens VMS 3.5 *Measuring Software HPower*®.

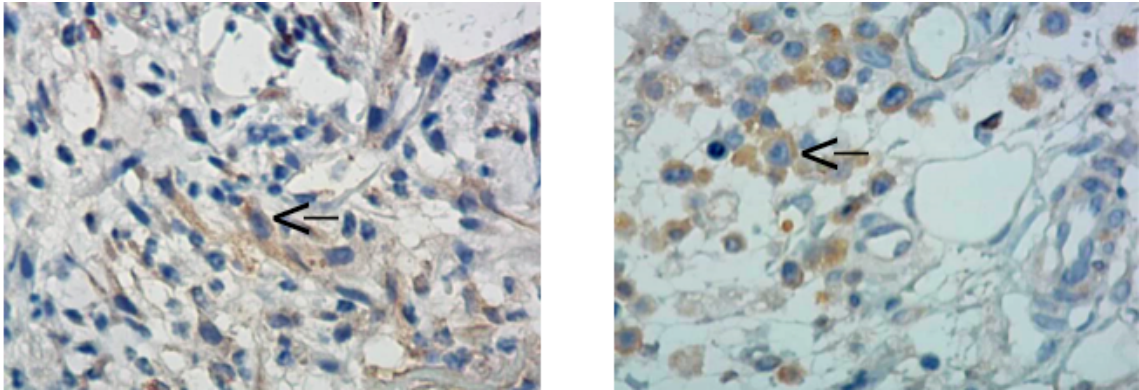


FIGURA 25 – EXEMPLOS DE LÂMINA CORADA COM MARCADOR CALPONINA CORANDO MIOFIBROBLASTOS, AUMENTO DE 400 VEZES (SETAS)
 FONTE: O AUTOR (2014).

4.7.6.3 Número de células em proliferação

A avaliação do número de células em proliferação (fases ativas do ciclo celular, isto é, G1, S, G2, e mitose) foi realizada pela contagem das células com núcleos corados positivamente pela coloração imunoistoquímica com anticorpo monoclonal Ki-67 (FIGURA 26), em campo de grande aumento (objetiva de 40X). A contagem foi feita na área da anastomose, em uma extensão de 10 mm proximal e 10 mm distal a esta, em aumento de 400 vezes, em quatro campos distintos, escolhidos aleatoriamente, expressa em médias aritméticas.

Para a coleta das imagens das lâminas analisadas utilizou-se o sistema de Captura de imagens de marca OPT 5000 *Power Opticam*®, de 5.0 *megapixels*, conectado a computador da linha HP i3 *All-in-one*®, com utilização de *software* de análise de imagens VMS 3.5 *Measuring Software HPower*®.

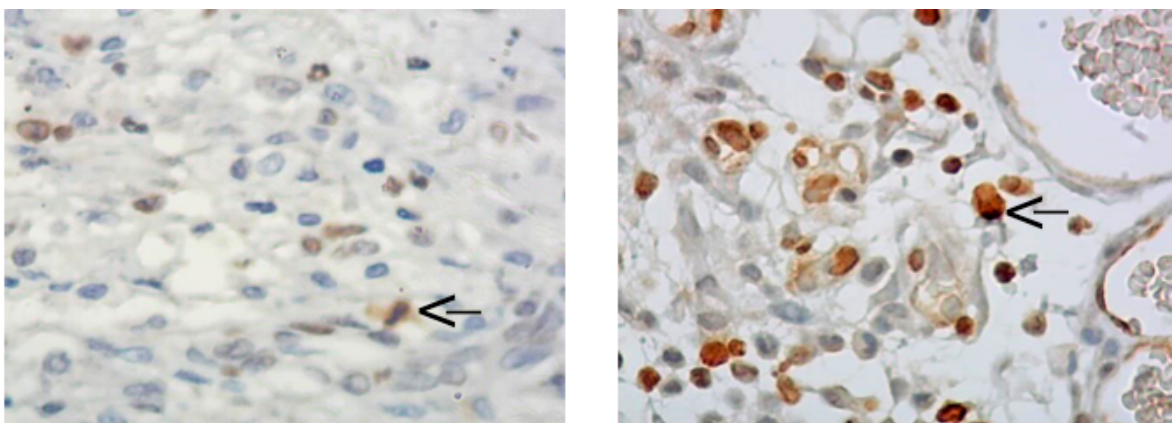


FIGURA 26 – EXEMPLOS DE LÂMINA CORADA COM MARCADOR KI-67 CORANDO CÉLULAS EM FASE ATIVA DO CICLO CELULAR, AUMENTO DE 400 VEZES (SETAS)
 FONTE: O AUTOR (2014).

4.8 ANÁLISE ESTATÍSTICA

A análise estatística foi realizada de acordo com a natureza dos dados obtidos, sendo estabelecidas as médias e o erro padrão das médias. O nível de significância adotado foi de $p < 0,05$.

Para as variáveis quantitativas com distribuição normal (Gaussiana) foram utilizados testes paramétricos. Para comparação entre todos os grupos utilizou-se a análise de variância de médias (ANOVA) e para análise dos grupos dois a dois foi utilizado o teste t de *Student*.

Para as variáveis quantitativas sem distribuição normal (Gaussiana) utilizou-se a análise não paramétrica. Para comparação entre todos os grupos utilizou-se o teste de Kruskal-Wallis e para análise dos grupos dois a dois foi utilizado o teste de Mann-Whitney (teste de Wilcoxon para grupos independentes).

Os dados qualitativos que avaliaram intensidade, como a presença de aderências aferidos pelo índice de Knighthly e os dados da avaliação anátomo-patológica pela coloração de hematoxilina-eosina (HE), foram convertidos em valores quantitativos e também submetidos a análise conforme distribuição normal ou não, descritos acima.

As variáveis dicotômicas como evolução a óbito, presença ou não de infecção de ferida cirúrgica e de complicações anastomóticas (deiscência ou estenose) foram avaliadas pelo teste de Chi quadrado e pelo teste de Cochran.

Os softwares utilizados para análise estatística foram STATDISK 11.1.0 e o BioEstat 5.0.

RESULTADOS

5 RESULTADOS

5.1 EVOLUÇÃO

Dos 160 animais que iniciaram o experimento, 117 sobreviveram até o final, sendo a taxa de mortalidade global de 26,8%. Dos 43 ratos que evoluíram a óbito antes do dia da eutanásia, um animal do grupo DAP evoluiu a óbito durante o processo de desnutrição, todos os demais óbitos ocorreram no pós-operatório (antes do quinto dia) por peritonite decorrente de complicações anastomóticas.

O número de óbitos (TABELA 3) foi maior nos grupos que receberam paclitaxel quando comparados aos grupos que receberam salina ($p=0,03$).

TABELA 3 – EVOLUÇÃO A ÓBITO DOS RATOS

	ÓBITOS	ÓBITOS	p
SALINA vs PACLITAXEL			
NAS (n=20)	7		p=0,03
DAS (n=20)	2		
NOS (n=20)	2	15	
DOS (n=20)	4		
<hr/>			
NAP (n=20)	9		
DAP (n=20)	4		
NOP (n=20)	6	28	
DOP (n=20)	9		
<hr/>			
TOTAL	43	43	

NOTA: NAS – ratos nutridos, azeite-salina; NOS – ratos nutridos, ômega-3-salina; NAP – ratos nutridos, azeite-paclitaxel; NOP – ratos nutridos, ômega-3-paclitaxel; DAS – ratos desnutridos, azeite-salina; DOS – ratos desnutridos, ômega-3-salina; DAP – ratos desnutridos, azeite-paclitaxel; DOP – ratos desnutridos, ômega-3-paclitaxel

FONTE: O AUTOR (2014).

5.2 PESO DO ANIMAL

O peso médio geral inicial dos animais (D1) foi de $294,8 \pm 1,67$ g. A evolução do peso dos animais está apresentada na TABELA 4 e no GRÁFICO 1.

TABELA 4 – PESO DOS ANIMAIS (EM GRAMAS) POR GRUPOS (MÉDIA ± ERRO PADRÃO)

	D1 √	D7 \$	D14 #	DCIR &	DEUT*
NAS	298,7 ± 4,5	322,2 ± 5	348,3 ± 5,5	349,7 ± 6,4	308,7 ± 8,8
DAS	291,3 ± 4,7	264,1 ± 3,8	250,4 ± 3,8	236,5 ± 4,2	220,9 ± 5,4
NOS	292,0 ± 4,9	313,0 ± 5,6	339 ± 6,5	344 ± 7,2	316,0 ± 3,8
DOS	301,6 ± 5,3	275,0 ± 6,8	260,0 ± 3,9	253,8 ± 4,1	234,6 ± 6,4
NAP	290,8 ± 4,7	315,6 ± 5,1	340,1 ± 5,7	344,6 ± 6,1	307,1 ± 9,0
DAP	294,9 ± 2,4	265,9 ± 2,2	257,1 ± 2,0	246,3 ± 4,1	227,9 ± 3,8
NOP	292,4 ± 4,9	319,6 ± 4,7	344,4 ± 5,1	357,0 ± 7,0	323,1 ± 5,4
DOP	296,9 ± 3,9	267,5 ± 3,7	256,7 ± 3,7	246,6 ± 6,0	237,5 ± 7,9

NOTA: D – dias do experimento: D1 – dia 1, D7 – dia 7, D14 – dia 14, DCIR – dia do procedimento cirúrgico e DEUT: dia da morte dos ratos (eutanásia). NAS – ratos nutridos, azeite-salina; NOS – ratos nutridos, ômega-3-salina; NAP – ratos nutridos, azeite-paclitaxel; NOP – ratos nutridos, ômega-3-paclitaxel; DAS – ratos desnutridos, azeite-salina; DOS – ratos desnutridos, ômega-3-salina; DAP – ratos desnutridos, azeite-paclitaxel; DOP – ratos desnutridos, ômega-3-paclitaxel. √ não houve diferença significativa entre os grupos ($p=0,8037$); \$ médias dos pesos dos grupos desnutridos menor que as médias dos pesos dos grupos nutridos ($p<0,05$); # médias dos pesos dos grupos desnutridos menor que as médias dos pesos dos grupos nutridos ($p<0,05$); & médias dos pesos dos grupos desnutridos menor que as médias dos pesos dos grupos nutridos ($p<0,05$); * médias dos pesos dos grupos desnutridos menor que as médias dos pesos dos grupos nutridos ($p<0,05$).

FONTE: O AUTOR (2014).

Não houve diferença entre as médias dos pesos entre os grupos (TABELA 4 e GRÁFICO 2) no primeiro dia (D1) do experimento ($p=0,8037$).

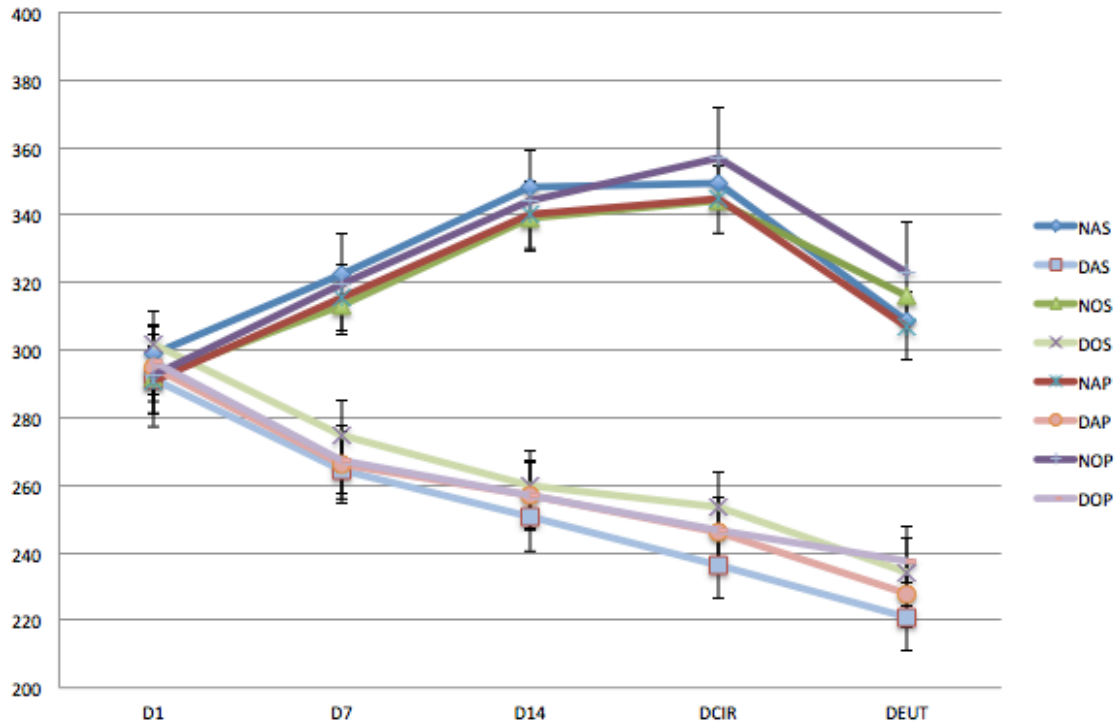


GRÁFICO 1 - EVOLUÇÃO DE PESO DOS ANIMAIS

NOTA: Eixo X – dias do experimento: D1 – dia 1, D7 – dia 7, D14 – dia 14, DCIR – dia do procedimento cirúrgico e DEUT: dia da morte dos ratos (eutanásia).; eixo Y – peso em gramas (g). NAS – ratos nutridos, azeite-salina; NOS – ratos nutridos, ômega-3-salina; NAP – ratos nutridos, azeite-paclitaxel; NOP – ratos nutridos, ômega-3-paclitaxel; DAS – ratos desnutridos, azeite-salina; DOS – ratos desnutridos, ômega-3-salina; DAP – ratos desnutridos, azeite-paclitaxel; DOP – ratos desnutridos, ômega-3-paclitaxel.

FONTE: O AUTOR (2014).

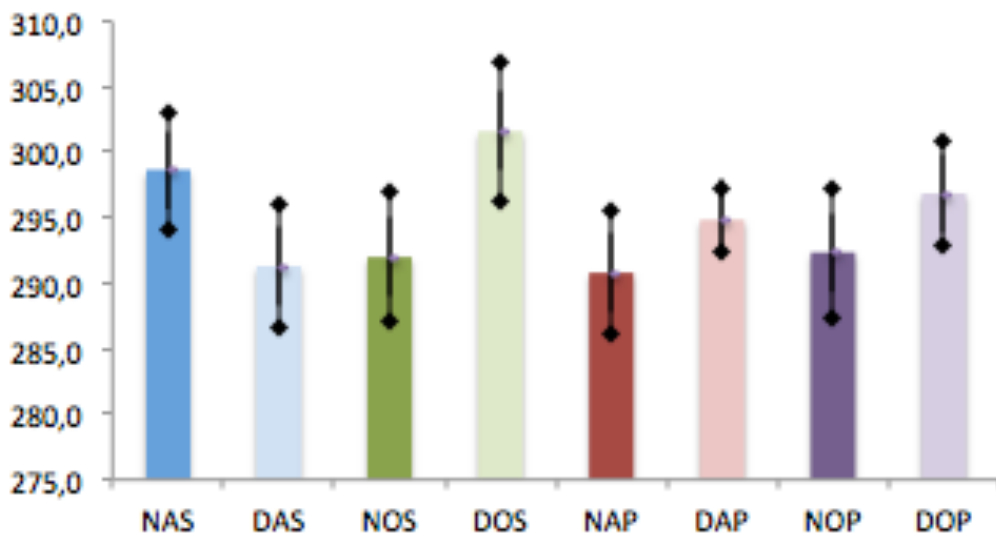


GRÁFICO 2 - MÉDIAS DOS PESOS NOS GRUPOS NO DIA 1

NOTA: Eixo y – peso em gramas; eixo x – grupos: NAS – ratos nutridos, azeite-salina; NOS – ratos nutridos, ômega-3-salina; NAP – ratos nutridos, azeite-paclitaxel; NOP – ratos nutridos, ômega-3-paclitaxel; DAS – ratos desnutridos, azeite-salina; DOS – ratos desnutridos, ômega-3-salina; DAP – ratos desnutridos, azeite-paclitaxel; DOP – ratos desnutridos, ômega-3-paclitaxel. Não houve diferença significativa ($p=0,8037$).

FONTE: O AUTOR (2014).

Os animais dos grupos nutridos tiveram um ganho médio de peso de 23,1% entre D1 e D28. Os animais dos grupos desnutridos apresentaram uma perda média de peso de 16,6% entre D1 e D28. Entre o dia da cirurgia e o dia da eutanásia houve uma perda ponderal média de 18% nos grupos nutridos e de 10% nos grupos desnutridos (GRÁFICO 1).

A perda ponderal nos grupos submetidos ao processo de desnutrição foi significativa ($p < 0,05$) em relação aos grupos nutridos controles no dia 7 (TABELA 4), dia 14 (TABELA 4) e no dia da cirurgia (TABELA 4 e GRÁFICO 3).

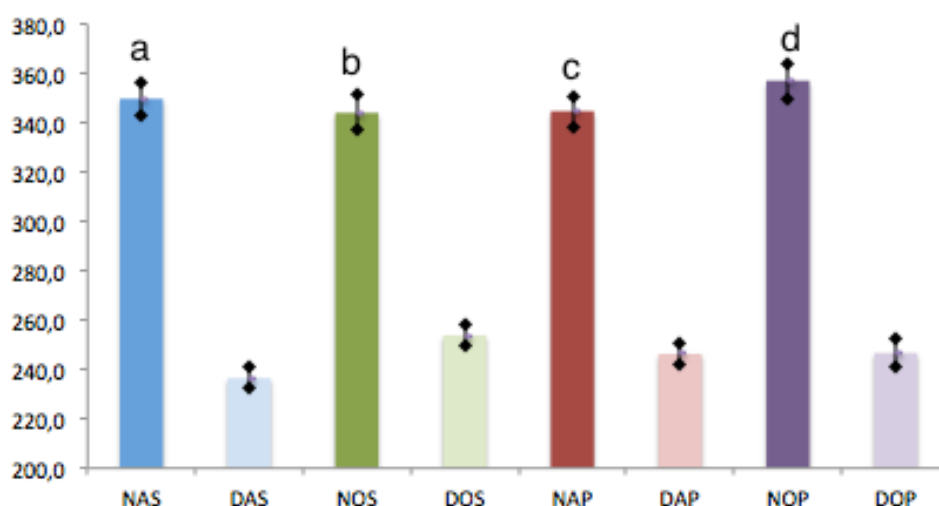


GRÁFICO 3 - MÉDIAS DOS PESOS NOS GRUPOS NO DIA DA CIRURGIA

NOTA: Eixo y – peso em gramas; eixo x – grupos: NAS – ratos nutridos, azeite-salina; NOS – ratos nutridos, ômega-3-salina; NAP – ratos nutridos, azeite-paclitaxel; NOP – ratos nutridos, ômega-3-paclitaxel; DAS – ratos desnutridos, azeite-salina; DOS – ratos desnutridos, ômega-3-salina; DAP – ratos desnutridos, azeite-paclitaxel; DOP – ratos desnutridos, ômega-3-paclitaxel. a – média de peso do grupo DAS menor que a média de peso do grupo NAS ($p < 0,05$); b – média de peso do grupo DOS menor a que média de peso do grupo NOS ($p < 0,05$); c – média de peso do grupo DAP menor que a média de peso do grupo NAP ($p < 0,05$); d – média de peso do grupo DOP menor que a média de peso do grupo NOP ($p < 0,05$)

FONTE: O AUTOR (2014).

No dia da cirurgia (GRÁFICO 4), a média de peso do grupo DAS ($236,5 \pm 4,2g$) foi menor ($p < 0,05$) que a média de peso do grupo DOS ($253,8 \pm 4,1g$).

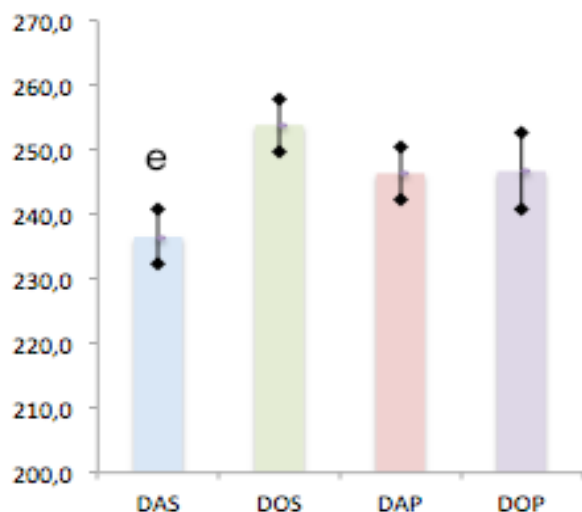


GRÁFICO 4 - MÉDIAS DOS PESO NOS GRUPOS DESNUTRIDOS NO DIA DA CIRURGIA

NOTA: Eixo y – peso em gramas; eixo x – grupos: DAS – ratos desnutridos, azeite-salina; DOS – ratos desnutridos, ômega-3-salina; DAP – ratos desnutridos, azeite-paclitaxel; DOP – ratos desnutridos, ômega-3-paclitaxel; e – média de peso do grupo DAS é menor que a média de peso do grupo DOS ($p < 0,05$)

FONTE: O AUTOR (2014).

5.3 ACHADOS INTRA-ABDOMINAIS PÓS-MORTE

Os achados intra-abdominais pós-morte avaliados foram infecção de sítio cirúrgico, deiscência de anastomose, estenose de anastomose e intensidade das aderências (TABELAS 5 e 6).

TABELA 5 – ACHADOS INTRA-ABDOMINAIS APÓS A MORTE DOS ANIMAIS

	ISC	ISC	DA	DA	EA	EA *
		N vs D		N vs D		N vs D
NAS (n=13)	1		6		4	
NOS (n=18)	4	9	8	26	4	14
NAP (n=11)	3		5		3	
NOP (n=14)	1		7		3	
DAS (n=18)	2		11		7	
DOS (n=16)	3	16	11	34	8	31
DAP (n=16)	6		8		9	
DOP (n=11)	5		4		7	

NOTA: ISC – infecção de sítio cirúrgico; DA – deiscência de anastomose; EA – estenose de anastomose. NAS – ratos nutridos, azeite-salina; NOS – ratos nutridos, ômega-3-salina; NAP – ratos nutridos, azeite-paclitaxel; NOP – ratos nutridos, ômega-3-paclitaxel; DAS – ratos desnutridos, azeite-salina; DOS – ratos desnutridos, ômega-3-salina; DAP – ratos desnutridos, azeite-paclitaxel; DOP – ratos desnutridos, ômega-3-paclitaxel. N – nutridos, D – desnutridos. * Incidência de estenose de anastomose maior no grupo de animais desnutridos em relação aos nutridos ($p = 0,007$)

FONTE: O AUTOR (2014).

5.3.1 Infecção de sítio cirúrgico

A infecção de sítio cirúrgico está apresentada na TABELA 5. Não houve diferença na incidência de infecção de ferida cirúrgica entre os grupos ($p=0,18$).

5.3.2. Complicações anastomóticas

5.3.2.1 Deiscência de anastomose

A deiscência da anastomose está apresentada na TABELA 5. Não houve diferença na incidência de deiscência de anastomose ($p=0,31$) entre os grupos.

5.3.2.2 Estenose de anastomose

A estenose da anastomose está apresentada na TABELA 5. A incidência de estenose de anastomose foi maior no grupo de animais desnutridos em relação aos nutridos ($p=0,007$).

TABELA 6 – INTENSIDADE DAS ADERÊNCIAS POR GRUPOS

	ÍNDICE DE ADERÊNCIA (KNIGHTLY) - MÉDIA \pm EP	p
NAS (n=13)	2,38 \pm 0,24	$p=0,95$
DAS (n=18)	2,16 \pm 0,16	
NOS (n=18)	2,16 \pm 0,14	
DOS (n=16)	2,18 \pm 0,13	
NAP (n=11)	2,27 \pm 0,14	
DAP (n=16)	2,06 \pm 0,11	
NOP (n=14)	2,21 \pm 0,11	
DOP (n=11)	2,09 \pm 0,28	

NOTA: NAS – ratos nutridos, azeite-salina; NOS – ratos nutridos, ômega-3-salina; NAP – ratos nutridos, azeite-paclitaxel; NOP – ratos nutridos, ômega-3-paclitaxel; DAS – ratos desnutridos, azeite-salina; DOS – ratos desnutridos, ômega-3-salina; DAP – ratos desnutridos, azeite-paclitaxel; DOP – ratos desnutridos, ômega-3-paclitaxel. EP – erro padrão

FONTE: O AUTOR (2014).

5.3.3 Aderências

A média da intensidade das aderências foram graduadas de acordo com o índice de Knighthly (KNIGHTLY; AGOSTINO; CLIFFTON, 1962) e está apresentada na TABELA 6. Não houve diferença significativa entre os grupos ($p=0,95$).

5.4 FORÇA TÊNซิล

A força máxima de tração (FMT), medida em Newtons, está apresentada na TABELA 7 e GRÁFICO 5. Não houve diferença entre os grupos ($p=0,3638$).

A força de ruptura completa (FRC), medida em Newtons, está apresentada na TABELA 7 e GRÁFICO 6. A força de ruptura completa foi maior no grupo NAP em relação ao grupo DAP ($1,2821\pm0,174$ vs $0,7775\pm0,077$; $p<0,05$).

Não houve diferença entre os grupos ($p=0,2119$) em relação a tensão máxima (TABELA 7 e GRÁFICO 7)

TABELA 7 – FORÇA MÁXIMA DE TRAÇÃO (FMT), FORÇA DE RUPTURA COMPLETA (FRC) E TENSÃO MÁXIMA (TM) NOS GRUPOS, MEDIDAS EM NEWTONS (N)

	FMT (M±EP)	*	FRC (M±EP)	\$	TM (M±EP)	#
NAS (n=13)	1,9543±0,281		1,5014±0,219		0,0258±0,004	
DAS (n=18)	1,3299±0,185		1,0476±0,136		0,0179±0,003	
NOS (n=18)	1,6909±0,185		1,3982±0,150		0,0227±0,003	
DOS (n=16)	1,3321±0,156		1,1882±0,151		0,0168±0,003	
NAP (n=11)	1,3517±0,196		1,2821±0,174	a	0,0172±0,003	
DAP (n=16)	1,2488±0,212		0,7775±0,077		0,0159±0,003	
NOP (n=14)	1,3636±0,170		1,1583±0,143		0,0174±0,002	
DOP (n=11)	1,4724±0,216		0,9869±0,131		0,0189±0,004	

NOTA: NAS – ratos nutridos, azeite-salina; NOS – ratos nutridos, ômega-3-salina; NAP – ratos nutridos, azeite-paclitaxel; NOP – ratos nutridos, ômega-3-paclitaxel; DAS – ratos desnutridos, azeite-salina; DOS – ratos desnutridos, ômega-3-salina; DAP – ratos desnutridos, azeite-paclitaxel; DOP – ratos desnutridos, ômega-3-paclitaxel; FMT - força máxima de tração; FRC - força de ruptura completa; TM - tensão máxima; M- média; EP – erro padrão. * Não houve diferença entre os grupos ($p=0,3638$) em relação a forma máxima de tração (FMT); \$ houve diferença significativa na força de ruptura completa (FRC) entre os grupos ($p<0,05$); a – força de ruptura completa foi maior no grupo NAP em relação ao grupo DAP ($p<0,05$); # não houve diferença entre os grupos ($p=0,2119$) em relação a tensão máxima (TM).

FONTE: O AUTOR (2014).

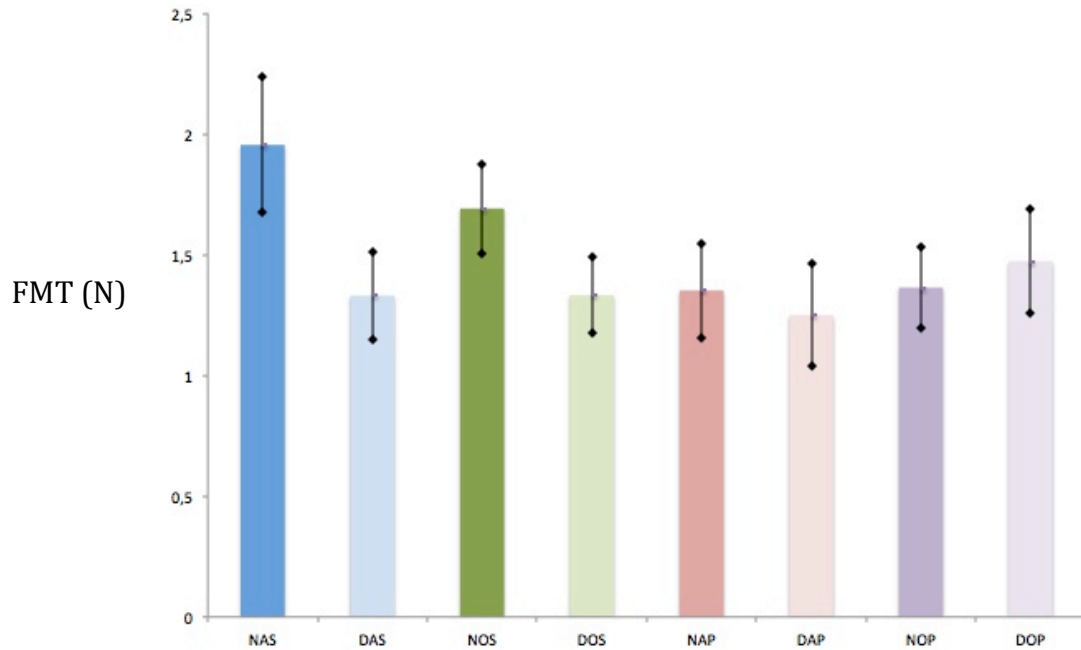


GRÁFICO 5 - FORÇA MÁXIMA DE TRAÇÃO (FMT) NOS GRUPOS

NOTA: Eixo y – força, em Newtons; eixo x – grupos; FMT – força máxima de tração; NAS – ratos nutridos, azeite-salina; NOS – ratos nutridos, ômega-3-salina; NAP – ratos nutridos, azeite-paclitaxel; NOP – ratos nutridos, ômega-3-paclitaxel; DAS – ratos desnutridos, azeite-salina; DOS – ratos desnutridos, ômega-3-salina; DAP – ratos desnutridos, azeite-paclitaxel; DOP – ratos desnutridos, ômega-3-paclitaxel. Não houve diferença entre os grupos ($p=0,3638$).

FONTE: O AUTOR (2014).

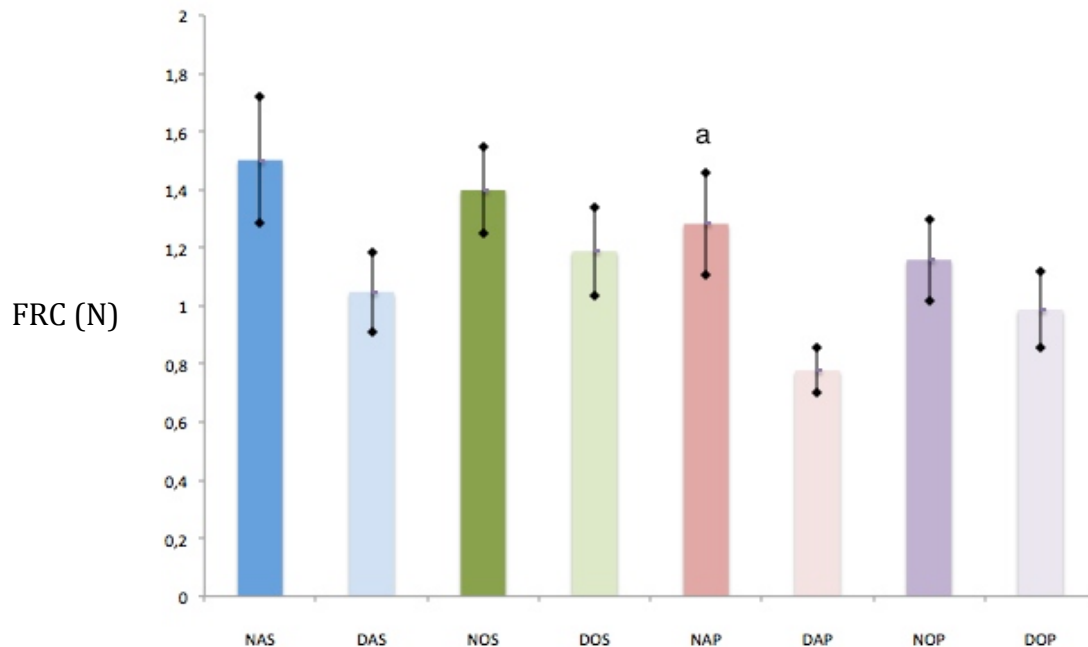


GRÁFICO 6 - FORÇA DE RUPTURA COMPLETA (FRC) NOS GRUPOS

NOTA: Eixo y – força, em Newtons; eixo x – grupos; FRC – força de ruptura completa; NAS – ratos nutridos, azeite-salina; NOS – ratos nutridos, ômega-3-salina; NAP – ratos nutridos, azeite-paclitaxel; NOP – ratos nutridos, ômega-3-paclitaxel; DAS – ratos desnutridos, azeite-salina; DOS – ratos desnutridos, ômega-3-salina; DAP – ratos desnutridos, azeite-paclitaxel; DOP – ratos desnutridos, ômega-3-paclitaxel; a – força de ruptura completa foi maior no grupo NAP em relação ao grupo DAP ($p<0,05$).

FONTE: O AUTOR (2014).

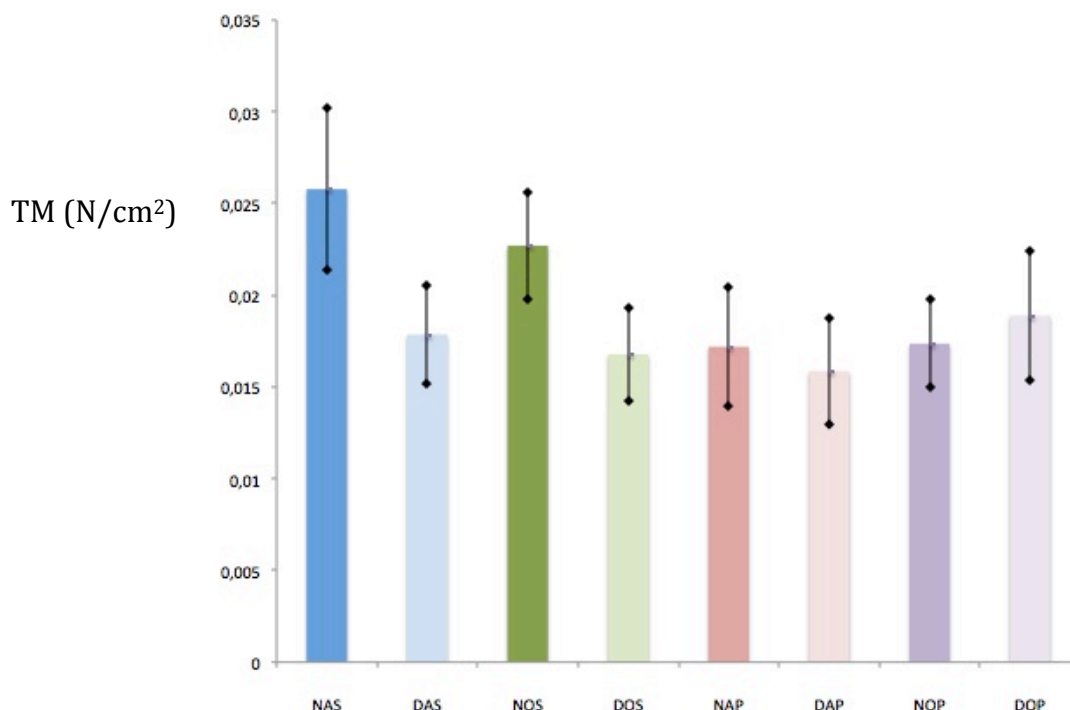


GRÁFICO 7 - TENSÃO MÁXIMA (TM) NOS GRUPOS

NOTA: Eixo y – tensão, em Newtons por cm^2 ; eixo x – grupos; TM – tensão máxima; NAS – ratos nutridos, azeite-salina; NOS – ratos nutridos, ômega-3-salina; NAP – ratos nutridos, azeite-paclitaxel; NOP – ratos nutridos, ômega-3-paclitaxel; DAS – ratos desnutridos, azeite-salina; DOS – ratos desnutridos, ômega-3-salina; DAP – ratos desnutridos, azeite-paclitaxel; DOP – ratos desnutridos, ômega-3-paclitaxel. Não houve diferença entre os grupos ($p=0,2119$).

FONTE: O AUTOR (2014).

5.5 AVALIAÇÃO ANÁTOMO-PATOLÓGICA

5.5.1 Avaliação por hematoxilina-eosina (HE)

Os dados de intensidade do infiltrado inflamatório, do edema, da congestão, do tecido de granulação e da fibrose estão apresentados na TABELA 8.

A média da intensidade do infiltrado inflamatório (atividade celular) foi menor no grupo DAS em relação ao grupo DOS ($1,61 \pm 0,78$ vs $2,50 \pm 0,63$; $p < 0,05$), como apresentado no GRÁFICO 8.

A média da intensidade do edema está apresentada no GRÁFICO 9. Não houve diferença entre os grupos ($p=0,2421$).

TABELA 8 – ÍNDICE DE INTENSIDADE DOS ACHADOS HISTOLÓGICOS PELA TÉCNICA DE HEMATOXILINA-EOSINA. (MÉDIA±ERRO PADRÃO)

	INFILT INFLA *	EDEMA §	CONG VASC #	TEC GRAN &	FIBROSE ∇
NAS (n=13)	1,92±0,28	2,00±0,23	1,15±0,23	1,23±0,24	0,31±0,21
DAS (n=18)	1,61±0,18	1,56±0,15	1,11±0,14	1,67±0,2	0,67±0,14
NOS (n=18)	2,22±0,17	1,83±0,2	1,33±0,18	1,06±0,22	0,39±0,16
DOS (n=16)	2,50±0,16	1,81±0,21	1,56±0,22	1,31±0,27	0,56±0,2
NAP (n=11)	1,82±0,18	1,27±0,14	0,91±0,29	1,55±0,34	0,55±0,21
DAP (n=16)	1,83±0,21	1,33±0,18	1,17±0,52	1,50±0,27	0,33±0,24
NOP (n=14)	2,07±0,22	1,93±0,2	1,21±0,24	1,36±0,25	0,29±0,13
DOP (n=11)	1,64±0,24	1,91±0,25	1,45±0,34	0,91±0,21	0,18±0,12

NOTA: NAS – ratos nutridos, azeite-salina; NOS – ratos nutridos, ômega-3-salina; NAP – ratos nutridos, azeite-paclitaxel; NOP – ratos nutridos, ômega-3-paclitaxel; DAS – ratos desnutridos, azeite-salina; DOS – ratos desnutridos, ômega-3-salina; DAP – ratos desnutridos, azeite-paclitaxel; DOP – ratos desnutridos, ômega-3-paclitaxel; Infil Inflam – infiltrado inflamatório (atividade celular); Cong Vasc – congestão vascular; Tec Gran – tecido de granulação; * houve diferença significativa entre os grupos com $p < 0,05$; § não houve diferença significativa ($p = 0,2421$); # não houve diferença significativa ($p = 0,7165$); & não houve diferença significativa ($p = 0,3908$); ∇ não houve diferença significativa ($p = 0,5579$).

FONTE: O AUTOR (2014).

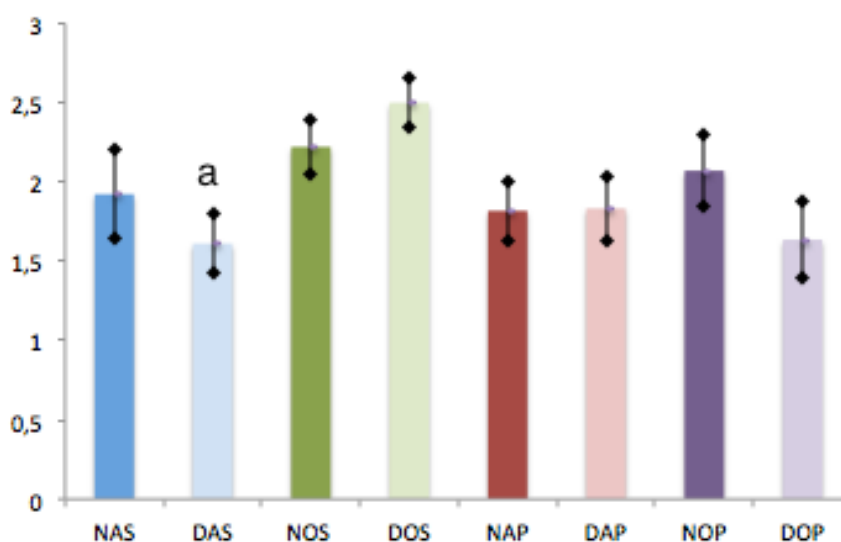


GRÁFICO 8 - INTENSIDADE DO INFILTRADO INFLAMATÓRIO (ATIVIDADE CELULAR) PELA COLORAÇÃO DE HE

NOTA: Eixo y – índice de intensidade do infiltrado inflamatório, eixo x – grupos. HE – hematoxilina-eosina. NOS – ratos nutridos, ômega-3-salina; NAP – ratos nutridos, azeite-paclitaxel; NOP – ratos nutridos, ômega-3-paclitaxel; DAS – ratos desnutridos, azeite-salina; DOS – ratos desnutridos, ômega-3-salina; DAP – ratos desnutridos, azeite-paclitaxel; DOP – ratos desnutridos, ômega-3-paclitaxel; a – intensidade do infiltrado inflamatório (atividade celular) do grupo DAS menor em relação ao grupo DOS ($p < 0,05$).

FONTE: O AUTOR (2014).

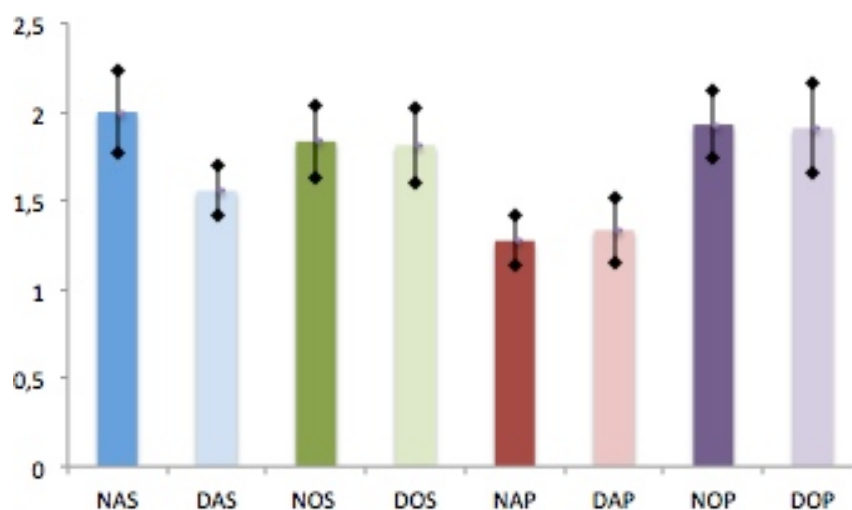


GRÁFICO 9 - INTENSIDADE DO EDEMA PELA COLORAÇÃO DE HE

NOTA: Eixo y – índice de intensidade do edema, eixo x – grupos. HE – hematoxilina-eosina. NOS – ratos nutridos, ômega-3-salina; NAP – ratos nutridos, azeite-paclitaxel; NOP – ratos nutridos, ômega-3-paclitaxel; DAS – ratos desnutridos, azeite-salina; DOS – ratos desnutridos, ômega-3-salina; DAP – ratos desnutridos, azeite-paclitaxel; DOP – ratos desnutridos, ômega-3-paclitaxel. Não houve diferença significativa ($p=0,2421$).

FONTE: O AUTOR (2014).

Não houve diferença entre os grupos ($p=0,7165$) em relação à média da intensidade da congestão vascular (GRÁFICO 10).

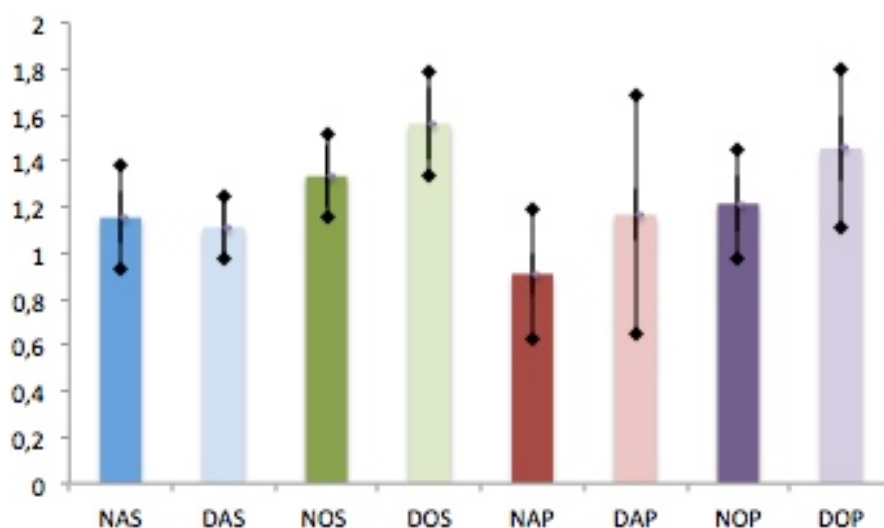


GRÁFICO 10 - INTENSIDADE DA CONGESTÃO VASCULAR PELA COLORAÇÃO DE HE

NOTA: Eixo y – índice de intensidade da congestão, eixo x – grupos. HE – hematoxilina-eosina. NOS – ratos nutridos, ômega-3-salina; NAP – ratos nutridos, azeite-paclitaxel; NOP – ratos nutridos, ômega-3-paclitaxel; DAS – ratos desnutridos, azeite-salina; DOS – ratos desnutridos, ômega-3-salina; DAP – ratos desnutridos, azeite-paclitaxel; DOP – ratos desnutridos, ômega-3-paclitaxel. Não houve diferença significativa ($p=0,7165$).

FONTE: O AUTOR (2014).

Em relação à média da intensidade do tecido de granulação (GRÁFICO 11), também não houve diferença entre os grupos ($p=0,3908$).

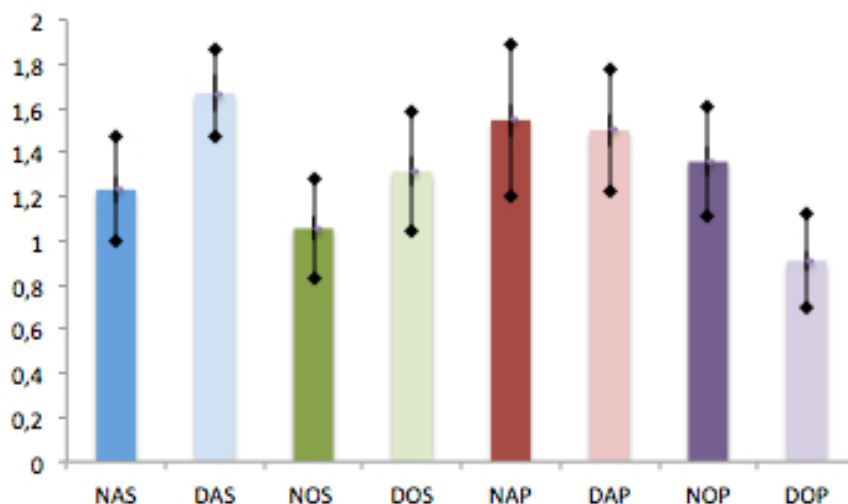


GRÁFICO 11 - INTENSIDADE DO TECIDO DE GRANULAÇÃO PELA COLORAÇÃO DE HE

NOTA: Eixo y – índice de intensidade do tecido de granulação, eixo x – grupos. HE – hematoxilina-eosina. NOS – ratos nutridos, ômega-3-salina; NAP – ratos nutridos, azeite-paclitaxel; NOP – ratos nutridos, ômega-3-paclitaxel; DAS – ratos desnutridos, azeite-salina; DOS – ratos desnutridos, ômega-3-salina; DAP – ratos desnutridos, azeite-paclitaxel; DOP – ratos desnutridos, ômega-3-paclitaxel. Não houve diferença significativa ($p=0,3908$).

FONTE: O AUTOR (2014).

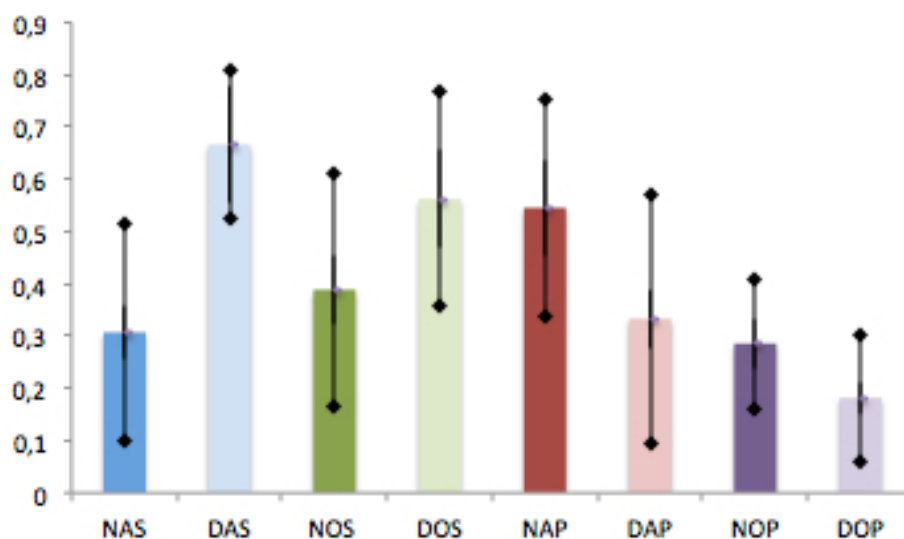


GRÁFICO 12 - INTENSIDADE DA FIBROSE PELA COLORAÇÃO DE HE

NOTA: Eixo y – índice de intensidade da fibrose, eixo x – grupos. HE – hematoxilina-eosina. NOS – ratos nutridos, ômega-3-salina; NAP – ratos nutridos, azeite-paclitaxel; NOP – ratos nutridos, ômega-3-paclitaxel; DAS – ratos desnutridos, azeite-salina; DOS – ratos desnutridos, ômega-3-salina; DAP – ratos desnutridos, azeite-paclitaxel; DOP – ratos desnutridos, ômega-3-paclitaxel. Não houve diferença significativa ($p=0,5579$).

FONTE: O AUTOR (2014).

A média da intensidade da fibrose está apresentada no GRÁFICO 12. Não houve diferença entre os grupos ($p=0,5579$).

5.5.2 Avaliação por micro-sirius (PS)

A intensidade do colágeno produzido no local da anastomose, avaliado pela coloração de micro-sirius e mensurado pelo índice de maturação do colágeno (IMaC) por grupos está apresentada na TABELA 9 e no GRÁFICO 13. O grupo NAS teve IMaC médio maior que o grupo DAS ($1,45\pm 0,4$ vs $0,35\pm 0,08$, $p<0,05$). O grupo NOS teve IMaC médio menor que o grupo DOS ($2,08\pm 0,35$ vs $2,82\pm 0,33$, $p<0,05$). O grupo DAS teve IMaC médio menor que o grupo DOS ($0,35\pm 0,08$ vs $2,82\pm 0,33$, $p<0,05$) e que o grupo DAP ($0,35\pm 0,08$ vs $1,58\pm 0,15$, $p<0,05$).

TABELA 9 - ÍNDICE DE MATURAÇÃO DO COLÁGENO (IMaC) MÉDIO POR GRUPOS

	IMaC (M \pm EP)	p<0,05
NAS (n=13)	1,45 \pm 0,4	a
DAS (n=18)	0,35 \pm 0,08	c
NOS (n=18)	2,08 \pm 0,35	b
DOS (n=16)	2,82 \pm 0,33	
NAP (n=11)	2,12 \pm 0,61	
DAP (n=16)	1,58 \pm 0,15	d
NOP (n=14)	1,50 \pm 0,29	
DOP (n=11)	1,58 \pm 0,27	

NOTA: M – média; EP – erro padrão; NAS – ratos nutridos, azeite-salina; NOS – ratos nutridos, ômega-3-salina; NAP – ratos nutridos, azeite-paclitaxel; NOP – ratos nutridos, ômega-3-paclitaxel; DAS – ratos desnutridos, azeite-salina; DOS – ratos desnutridos, ômega-3-salina; DAP – ratos desnutridos, azeite-paclitaxel; DOP – ratos desnutridos, ômega-3-paclitaxel; a – NAS teve IMaC médio maior que o grupo DAS ($p<0,05$); b – NOS teve IMaC médio menor que o grupo DOS ($p<0,05$); c – DAS teve IMaC médio menor que o grupo DOS ($p<0,05$); d – DAS teve IMaC médio menor que o grupo DAP ($p<0,05$).

FONTE: O AUTOR (2014).

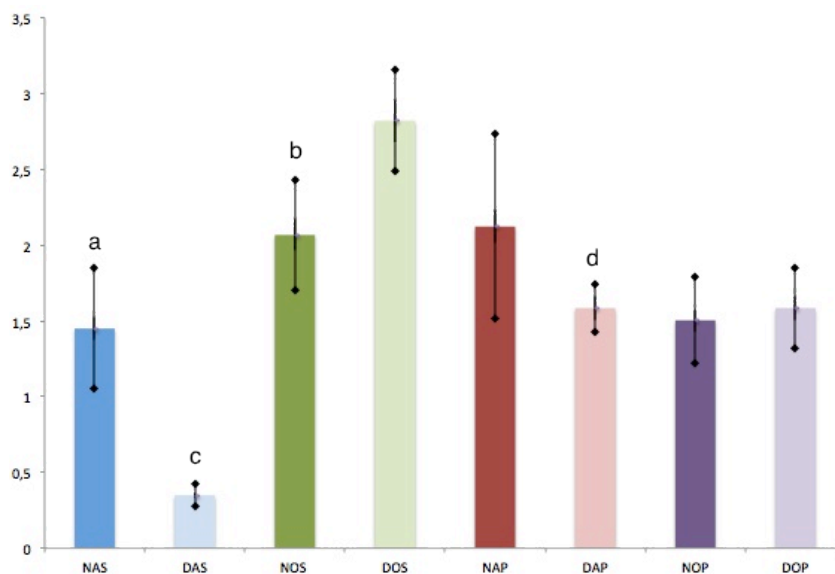


GRÁFICO 13 - ÍNDICE DE MATURAÇÃO (IMSC) MÉDIO DO COLÁGENO

NOTA: Eixo y – índice de maturação do colágeno (IMaC) médio, eixo x – grupos. NAS – ratos nutridos, azeite-salina; NOS – ratos nutridos, ômega-3-salina; NAP – ratos nutridos, azeite-paclitaxel; NOP – ratos nutridos, ômega-3-paclitaxel; DAS – ratos desnutridos, azeite-salina; DOS – ratos desnutridos, ômega-3-salina; DAP – ratos desnutridos, azeite-paclitaxel; DOP – ratos desnutridos, ômega-3-paclitaxel a – NAS teve IMaC médio maior que o grupo DAS ($p < 0,05$); b – NOS teve IMaC médio menor que o grupo DOS ($p < 0,05$); c – DAS teve IMaC médio menor que o grupo DOS ($p < 0,05$); d – DAS teve IMaC médio menor que o grupo DAP ($p < 0,05$).

FONTE: O AUTOR (2014).

5.6 AVALIAÇÃO IMUNOISTOQUÍMICA

Os achados imunoistoquímicos, média do número de vasos sanguíneos, média do número de miofibroblastos e média do número de células em proliferação estão apresentados na TABELA 10.

5.6.1 Número de vasos sanguíneos (CD 31)

A média do número de vasos sanguíneos, avaliado pelos marcador CD 31, está apresentado na TABELA 10 e no GRÁFICO 14.

TABELA 10 – ACHADOS IMUNOISTOQUÍMICOS PELOS MARCADORES CD 31, CALPONINA E KI67

	VASOS		MIOFIBRO-		CÉLULAS EM	
	SANGUÍNEOS	p<0,05	BLASTOS	p<0,05	ATIVIDADE	
	(CD 31)		(CALPONINA)		(Ki67)	
	(M±EP)		(M±EP)		(M±EP)	
NAS	13,08±1,1		18,15±2,38		28,50±5,06	
DAS	12,64±1,7	a	13,36±1,2		25,04±2,46	
NOS	9,74±1,21		18,53±0,75	c	25,28±1,91	
DOS	9,80±0,74		12,45±1,02		24,70±2,9	
NAP	6,11±0,59		18,68±2,78		32,75±6,52	
DAP	6,45±0,28	b	13,72±1,58		25,33±1,91	
NOP	8,29±0,88		15,16±1,86		15,93±2,06	
DOP	8,91±0,88		11,57±1,47		23,23±2,1	

NOTA: M – média; EP – erro padrão; NAS – ratos nutridos, azeite-salina; NOS – ratos nutridos, ômega-3-salina; NAP – ratos nutridos, azeite-paclitaxel; NOP – ratos nutridos, ômega-3-paclitaxel; DAS – ratos desnutridos, azeite-salina; DOS – ratos desnutridos, ômega-3-salina; DAP – ratos desnutridos, azeite-paclitaxel; DOP – ratos desnutridos, ômega-3-paclitaxel; a – média do número de vasos sanguíneos do grupo DAS maior que número de vasos do grupo DAP ($p<0,05$); b – média do número de vasos sanguíneos do grupo DAP menor do que número de vasos do grupo DOP ($p<0,05$); c – média do número de miofibroblastos do grupo NOS maior do que número de miofibroblastos do grupo DOS ($p<0,05$).

FONTE: O AUTOR (2014).

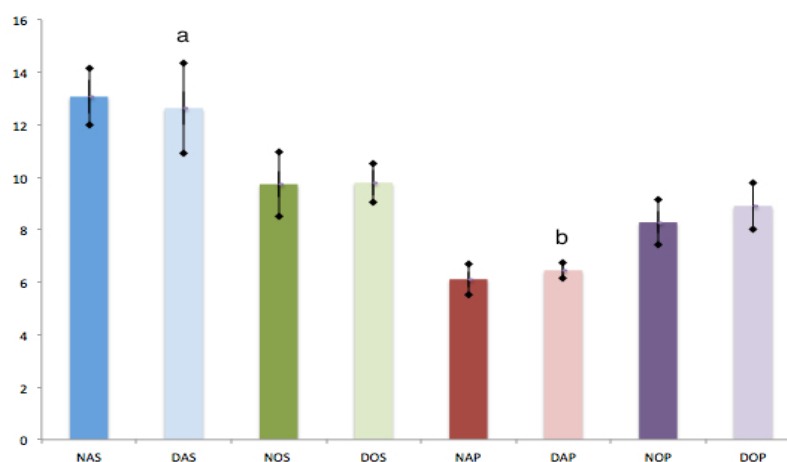


GRÁFICO 14 - MÉDIAS DO NÚMERO DE VASOS SANGUÍNEOS PELO MARCADOR CD 31

NOTA: Eixo y – número de vasos, eixo x – grupos. NAS – ratos nutridos, azeite-salina; NOS – ratos nutridos, ômega-3-salina; NAP – ratos nutridos, azeite-paclitaxel; NOP – ratos nutridos, ômega-3-paclitaxel; DAS – ratos desnutridos, azeite-salina; DOS – ratos desnutridos, ômega-3-salina; DAP – ratos desnutridos, azeite-paclitaxel; DOP – ratos desnutridos, ômega-3-paclitaxel; a – média do número de vasos do grupo DAS maior que número de vasos do grupo DAP ($p<0,05$); b – média do número de vasos do grupo DAP menor do que número de vasos do grupo DOP ($p<0,05$).

FONTE: O AUTOR (2014).

A contagem média do número de vasos sanguíneos foi maior no grupo DAS em relação ao grupo DAP ($12,64 \pm 1,7$ vs $6,45 \pm 0,28$; $p < 0,05$) e menor no grupo DAP em relação ao grupo DOP ($6,45 \pm 0,28$ vs $8,91 \pm 0,88$; $p < 0,05$), como apresentado no GRÁFICO 14.

5.6.2 Número de miofibroblastos (Calponina)

A média do número de miofibroblastos (TABELA 10 e GRÁFICO 15) foi maior no grupo NOS em relação ao grupo DOS ($18,53 \pm 0,75$ vs $12,45 \pm 1,02$; $p < 0,05$).

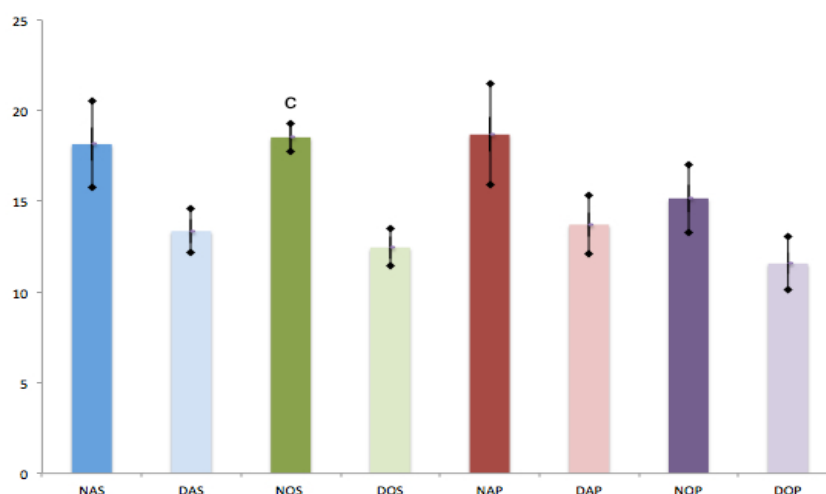


GRÁFICO 15 - MÉDIAS DO NÚMERO DE MIOFIBROBLASTOS (CALPONINA)

NOTA: Eixo x – número de miofibroblastos, eixo y – grupos. NAS – ratos nutridos, azeite-salina; NOS – ratos nutridos, ômega-3-salina; NAP – ratos nutridos, azeite-paclitaxel; NOP – ratos nutridos, ômega-3-paclitaxel; DAS – ratos desnutridos, azeite-salina; DOS – ratos desnutridos, ômega-3-salina; DAP – ratos desnutridos, azeite-paclitaxel; DOP – ratos desnutridos, ômega-3-paclitaxel; c – média do número de miofibroblastos do grupo NOS maior do que número de miofibroblastos do grupo DOS ($p < 0,05$).

FONTE: O AUTOR (2014).

5.6.3 Número de células em proliferação (KI67)

A média do número de células em proliferação (TABELA 10 e GRÁFICO 16) não apresentou diferença entre os grupos ($p = 0,0934$).

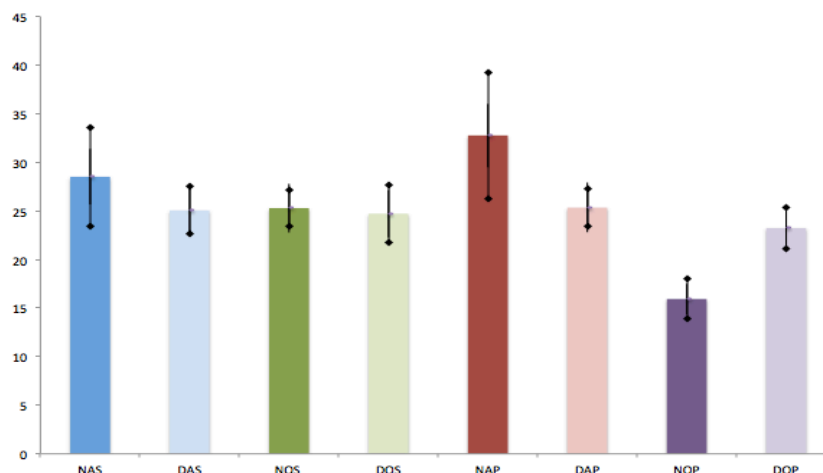


GRÁFICO 16 - MÉDIAS DO NÚMERO DE CÉLULAS EM PROLIFERAÇÃO (KI67)

NOTA: Eixo x – número de células em proliferação, eixo y – grupos. NAS – ratos nutridos, azeite-salina; NOS – ratos nutridos, ômega-3-salina; NAP – ratos nutridos, azeite-paclitaxel; NOP – ratos nutridos, ômega-3-paclitaxel; DAS – ratos desnutridos, azeite-salina; DOS – ratos desnutridos, ômega-3-salina; DAP – ratos desnutridos, azeite-paclitaxel; DOP – ratos desnutridos, ômega-3-paclitaxel.

FONTE: O AUTOR (2014).

5.7 RESUMO DOS ACHADOS

O resumo dos achados das variáveis com diferença estatística entre os subgrupos salina e paclitaxel estão apresentados no QUADRO 3 e entre os subgrupos nutridos e desnutridos estão apresentados no QUADRO 4.

ACHADOS	SALINA				PACLITAXEL			
	NAS	DAS	NOS	DOS	NAP	DAP	NOP	DOP
ÓBITOS	↓				↑			

QUADRO 3 – RESUMO DOS ÓBITOS

NAS – ratos nutridos, azeite-salina; NOS – ratos nutridos, ômega-3-salina; NAP – ratos nutridos, azeite-paclitaxel; NOP – ratos nutridos, ômega-3-paclitaxel; DAS – ratos desnutridos, azeite-salina; DOS – ratos desnutridos, ômega-3-salina; DAP – ratos desnutridos, azeite-paclitaxel; DOP – ratos desnutridos, ômega-3-paclitaxel. ↑ - aumento, ↓ - redução. As setas significam diferença com $p < 0,05$.

FONTE: O AUTOR (2014).

ACHADOS	NUTRIDOS				DESNUTRIDOS			
	NAS	NOS	NAP	NOP	DAS	DOS	DAP	DOP
ESTENOSE DE ANASTOMOSE	↓				↑			

QUADRO 4 – RESUMO DA ESTENOSE DA ANASTOMOSE

NAS – ratos nutridos, azeite-salina; NOS – ratos nutridos, ômega-3-salina; NAP – ratos nutridos, azeite-paclitaxel; NOP – ratos nutridos, ômega-3-paclitaxel; DAS – ratos desnutridos, azeite-salina; DOS – ratos desnutridos, ômega-3-salina; DAP – ratos desnutridos, azeite-paclitaxel; DOP – ratos desnutridos, ômega-3-paclitaxel. ↑ - aumento, ↓ - redução. As setas significam diferença com $p < 0,05$.

FONTE: O AUTOR (2014).

O resumo dos achados das demais variáveis com diferença estatística entre os oito subgrupos encontram-se no QUADRO 5.

ACHADOS	NAS	DAS	NOS	DOS	NAP	DAP	NOP	DOP
PESO – D1	N	N	N	N	N	N	N	N
PESO – D7	↑	↓	↑	↓	↑	↓	↑	↓
PESO – D14	↑	↓	↑	↓	↑	↓	↑	↓
PESO – DCIR	↑	↓↓	↑	↓	↑	↓	↑	↓
PESO – DSAC	↑	↓	↑	↓	↑	↓	↑	↓
ISC	N	N	N	N	N	N	N	N
DA	N	N	N	N	N	N	N	N
ÍNDICE ADERÊNCIA	N	N	N	N	N	N	N	N
FMT	N	N	N	N	N	N	N	N
FRC	N	N	N	N	↑	↓	N	N
TM	N	N	N	N	N	N	N	N
INF. INFLAM.	N	↓	N	↑	N	N	N	N
EDEMA	N	N	N	N	N	N	N	N
CONGESTÃO	N	N	N	N	N	N	N	N
TEC. GRANULAÇÃO	N	N	N	N	N	N	N	N
FIBROSE	N	N	N	N	N	N	N	N
IMAC	↑	↓↓	N	↑	N	↑	N	N
CD 31	N	↑	N	N	↓	N	N	N
CALPONINA	N	N	↑	↓	N	N	N	N
KI67	N	N	N	N	N	N	N	N

QUADRO 5 – RESUMO DOS ACHADOS DAS VARIÁVEIS AVALIADAS

NAS – ratos nutridos, azeite-salina; NOS – ratos nutridos, ômega-3-salina; NAP – ratos nutridos, azeite-paclitaxel; NOP – ratos nutridos, ômega-3-paclitaxel; DAS – ratos desnutridos, azeite-salina; DOS – ratos desnutridos, ômega-3-salina; DAP – ratos desnutridos, azeite-paclitaxel; DOP – ratos desnutridos, ômega-3-paclitaxel. ↑ - aumento, ↓ - redução, N – não houve diferença na comparação. ISC – infecção de sítio cirúrgico, DA – deiscência de anastomose, EA – estenose de anastomose, FMT – força máxima de tração, FRC – força de ruptura completa, TM – tensão máxima, INF. INFLAM – infiltrado inflamatório, TEC. GRANULAÇÃO – tecido de granulação, IMAC – índice de maturação do colágeno. As setas significam diferença com $p < 0,05$.

FONTE: O AUTOR (2014).

6 DISCUSSÃO

6.1 EM RELAÇÃO AO MODELO EXPERIMENTAL

O rato foi escolhido por ser animal de pequeno porte, portanto de fácil manuseio, de grande resistência ao meio ambiente e criado em laboratório, podendo-se obter amostras homogêneas com relação à idade e peso. O fato de ser isogênico reduz a variabilidade individual e permite a replicação dos estudos em diferentes centros, possibilitando comparação adequada dos resultados. É animal de custo relativamente baixo, que não exige tratamento diferenciado e tem transporte facilitado, podendo-se estudar grande número deles, permitindo tamanho amostral adequado para análise. Possui regime de alimentação simples, o que permite a introdução de alterações dietéticas de fácil aceitação. Embora possa existir alguma dificuldade técnica para a confecção das anastomoses devido às dimensões dos órgãos intra-abdominais, após treinamento adequado, as anastomoses podem ser confeccionadas com relativa facilidade e agilidade (COSTA, 2003; GONÇALVES, 2005; TRUBIAN, 2008).

As anastomoses colônicas perdem 70% a 90% da força tênsil em relação ao tecido original durante os três primeiros dias do processo cicatricial, período em que há atividade mais acentuada da colagenase (HÖGSTRÖN *et al.*, 1985; CAMPOS; BRANCO; GROTH, 2007). Após este período ocorre ganho progressivo da força anastomótica concomitantemente ao aumento progressivo da síntese e deposição do colágeno na área da anastomose (JIBORN; AHONEN; ZEDERFELDT, 1980; TRUBIAN, 2008; OKAWA, 2009).

Assim o período mais adequado para avaliação da anastomose é entre o 4° e o 7° dia de pós-operatório, pois neste período já ocorreu a degradação do colágeno antigo e a síntese do novo colágeno está em ascensão e portanto intervenções que interfiram nesta síntese podem ser melhor observadas (JONSSON; JIBORN; ZEDERFERLDT, 1983).

A escolha do 5° dia de pós-operatório para o estudo da anastomose baseou-se nos estudos de Jiborn, Ahonen e Zederfeldt (1980), Hendricks e Mastboom (1990), Law e Ellis (1989), Vizzotto Jr. (2001), Soares (2001), Urdiales (2006), Ekmektzoglou *et al.* (2006), Trubian (2008) e Okawa (2009). Estes autores

concluíram que a maioria das complicações anastomóticas ocorrem até o sétimo dia de pós-operatório e que, após este período, a medida de força de ruptura e deposição de colágeno se assemelha ao grupo controle.

6.1.1 Em relação à escolha da dose do paclitaxel

A escolha da dose do paclitaxel de 3,5 mg/Kg e da via de administração baseou-se nos estudos de Yuceyar, Erturk e Temiz (2005) que utilizaram paclitaxel na dose de 2,5 mg/Kg e 3,5 mg/kg intraperitonealmente no pós-operatório de anastomose colônica de ratos e de Bozkurtoglu *et al.* (2005) que administraram paclitaxel na dose de 4,5 mg/Kg intraperitonealmente, tendo-se optado pela dose intermediária.

6.2 EM RELAÇÃO À SUPLEMENTAÇÃO NUTRICIONAL PRÉ-OPERATÓRIA

A suplementação nutricional pré-operatória, nos indivíduos com estado nutricional comprometido, é recomendada para reverter os efeitos que a desnutrição ocasiona sobre o processo de cicatrização no pós-operatório (WINDSOR *et al.*, 1998; MARTINDALE *et al.*, 2009; CAMPOS, 2013). O suporte nutricional perioperatório é geralmente recomendado para situações de desnutrição moderada ou grave e que haja possibilidade de esperar pelo menos 7 dias para a intervenção cirúrgica (KALFARENTZOS *et al.*, 1997; BRAGA *et al.*, 2002; KAVALUKAS; BARBUL, 2011; MARTINDALE; MCCLAVE; MCCARTHY, 2013). O processo de renutrição no pré-operatório em portadores de neoplasia intra-abdominal, como nos casos de câncer de ovário, no entanto nem sempre é possível, pois além da inapetência induzida pela doença (PALESTY; DUDRICK, 2003; EVANGELISTA; SANTOS, 2012) frequentemente há associação da doença com quadro sub-oclusivo intestinal por disseminação peritoneal da doença (BENEDET *et al.*, 2000; LAMEU; POZIOMYCK; MOREIRA, 2013).

Mesmo que a renutrição adequada nem sempre seja possível no pré-operatório, a suplementação com elementos nutricionais específicos com pequenos volumes pode ser uma alternativa para minimizar os efeitos deletérios da desnutrição pré-operatória. Principalmente se este substrato nutricional tiver um papel imunomodulador, possibilitando que o processo de cicatrização transcorra com

menores consequências da desnutrição. Nestes casos os ácidos graxos ômega-3 têm sido propostos como elementos nutricionais que possibilitam aporte calórico e uma modulação favorável do processo inflamatório e de cicatrização (CALDER, 2001b; WAITZBERG; TORRINHAS; JACINTO, 2006; TODD *et al.*, 2008; TORRINHAS; RODRIGUES; WAITZBERG, 2013).

6.2.1 Em relação ao ômega 3

A escolha do ômega-3 foi feita por se acreditar que os prostanóides de menor potencial inflamatório produzidos na vigência da sua ingestão, como a prostaglandina E₃ e leucotrieno B₅ (TODD *et al.*, 2008; TORRINHAS; RODRIGUES; WAITZBERG, 2013), levem a uma modulação favorável do processo inflamatório com melhoria na produção e na qualidade do colágeno no ambiente da anastomose colônica. Ekçi *et al.* em 2011, também observaram esta ação benéfica do ácido graxo ômega-3 na cicatrização das anastomoses colônicas em ratos.

A variabilidade da dose de ômega-3 via gavagem em modelos experimentais é grande. Calviello *et al.* (1999) publicaram artigo em que avaliaram a suplementação de ácidos graxos ômega-3 na mucosa intestinal de ratos e utilizaram dose de EPA purificado ou de DHA na ordem de 1g/kg de peso corporal. Por outro lado, Ekçi *et al.* em 2011, avaliaram a ação do ácido graxo ômega-3 na anastomose colônica em ratos utilizando ácido graxo ômega-3 na dose de 13 mg/Kg, via enteral por gavagem. Já Terano Salmon e Moncada (1984) avaliaram a influência da suplementação de EPA na produção dos leucotrienos em ratos utilizando suplementação de EPA na concentração de 240 mg/Kg/dia. Diante dessa variabilidade optamos por uma dose intermediária por meio de uma solução de ácidos graxos ômega 3 composta por EPA e DHA na proporção de 80:20 sendo administrada na dosagem de 100 mg/kg via gavagem orogástrica.

6.2.2 Em relação à escolha do ômega-9 como controle

A escolha do azeite de oliva como controle se deu por este ser rico em ácidos graxos ômega-9, considerados de “natureza neutra” do ponto de vista de sua ação sobre a atividade inflamatória (JĘDRZEJCZAK-CZECHOWICZ; KOWALSKI, 2011) quando comparados com os ácidos graxo ômega-6, que são considerados como

tendo ação pró-inflamatória, e com os ácidos graxos ômega-3, que são considerados como tendo ação anti-inflamatória (PUERTOLLANO *et al.*, 2010).

6.3 EM RELAÇÃO AO MODELO EXPERIMENTAL DE DESNUTRIÇÃO

Baseado no referencial da prática clínica, buscou-se um modelo experimental de desnutrição que se assemelhasse ao observado na realidade. Vários estudos experimentais foram realizados com o objetivo de avaliar a influência da desnutrição na cicatrização. O método de desnutrição e os parâmetros utilizados para sua avaliação, no entanto, não seguem o mesmo padrão, apresentando ampla variabilidade entre os estudos realizados. Na maioria dos experimentos utilizou-se de dietas hipoprotéicas ou isenta de proteínas para promover a desnutrição. Entretanto, não existe uniformidade nos métodos, sendo utilizadas dietas com quantidade variável de proteínas (0 a 6%) na sua composição (IRVIN; HUNT, 1974; WARD *et al.*, 1982; ZAIZEN *et al.*, 1990). O modelo de desnutrição utilizado neste experimento foi o *pair feeding*, ou alimentação pareada, que se baseia na restrição global protéico-calórica. Os animais desnutridos recebem 50% da ingestão alimentar de ração padrão consumida no dia anterior pelo grupo controle (ratos nutridos) alimentado *ad libitum*. Neste método mantém-se a concentração protéica habitual de 22%. A escolha da restrição alimentar de 50% da média ingerida pelo grupo controle objetivou simular a desnutrição encontrada em pacientes cirúrgicos, pois clinicamente é muito difícil encontrar casos puros de desnutrição apenas calórica ou apenas protéica, sendo que a maioria dos pacientes apresentam uma combinação de desnutrição protéico-energética. Felgines *et al.* (1999), Coelho-Lemos *et al.* (2004), Gonçalves (2009), Schimitz (2006) e Trubian (2008) também utilizaram este método de desnutrição. Este método de alimentação pareada possui vantagens sobre outros métodos, uma vez que não demanda dietas especializadas (com diminuição ou ausência de proteínas) e reproduz estados de deficiência de ingestão nutricional. Além disso, neste modelo o cálculo da ingestão alimentar do grupo controle foi mensurado diariamente. Desta forma, as possíveis variações temporais, ambientais e fisiológicas presentes no grupo controle eram transmitidas para o grupo de estudo.

O período de desnutrição proposto pelos trabalhos publicados é variável, sendo que alterações significativas da cicatrização foram observadas em estudos

experimentais em que o período de desnutrição foi cerca de 7 semanas, promovendo grau de desnutrição importante, com perda de peso acima de 1/3 do peso corporal normal (IRVIN *et al.*, 1978; ZAIZEN *et al.*, 1990). No presente estudo foi utilizado o período de desnutrição de 28 dias (4 semanas), com o intuito de promover grau moderado de desnutrição nos ratos (COELHO-LEMOS *et al.*, 2004; 2006; GONÇALVES, 2005; SCHMITZ, 2006; TRUBIAN, 2008).

6.4 EM RELAÇÃO À ESCOLHA DOS MÉTODOS DE AVALIAÇÃO

São diversos os métodos que podem ser utilizados para avaliação da cicatrização das anastomoses colônicas. Hendricks e Mastboom (1990) fizeram extensa revisão da literatura mostrando os diferentes métodos pelos quais a cicatrização das anastomoses colônicas podem ser avaliadas.

Os métodos mais comumente utilizados são o mecânico, o bioquímico e histológico. Estes métodos avaliam de forma indireta a correlação entre a síntese de colágeno e a recuperação da resistência tecidual no sítio da anastomose intestinal. (VIZZOTTO JR. *et al.*, 2003).

6.4.1 Parâmetros evolutivos

Os parâmetros evolutivos levam em conta a evolução pós-operatória do animal e os achados intra-abdominais após a morte. Indicam, geralmente, o sucesso ou insucesso da anastomose e direta ou indiretamente refletem a presença de deiscência da anastomose o que, em última análise, é o que se procura avaliar nos experimentos em que se estuda cicatrização de anastomoses colônicas (FUMAGALLI *et al.*, 1989; VIZZOTTO JR., 2001).

Os dados evolutivos mais comumente avaliados são: evolução pós-operatória (óbitos) e presença de infecção ou deiscência de ferida cirúrgica (SOARES, 2001; COSTA, 2003; URDIALES, 2006; TRUBIAN, 2008; OKAWA, 2009).

À exploração da cavidade, os dados mais freqüentemente avaliados são: quantificação de aderências intra-abdominais (KNIGHTLY; AGOSTINO; CLIFFTON, 1962; VIZZOTTO JR., 2001; SOARES, 2001; URDIALES, 2006) e complicações anastomóticas, tais como deiscência de anastomose, abscesso peri-anastomótico e

estenose (GRAF; WEIBER; GLIMENIUS 1992; KANELLOS *et al.*, 1996; KUZU *et al.*, 1998; VIZZOTTO JR., 2001; SOARES, 2001).

Outro parâmetro evolutivo de importante avaliação é o ganho ou perda de peso, pois a desnutrição tem como efeito direto a perda de peso, portanto este parâmetro é importante na avaliação do estado nutricional. Vários autores como Law e Ellis (1990), Graf *et al.* (1994), Trubian (2008) e Gonçalves *et al.* (2009) estudaram o efeito da desnutrição na cicatrização da anastomose colônica. Em todos estes trabalhos a aferição do peso foi utilizada como parâmetro do estado nutricional.

Diante do exposto, optou-se por avaliar, como parâmetros evolutivos, a incidência de óbitos, a evolução do peso, presença de infecção de sítio cirúrgico, deiscência e estenose da anastomose e a quantificação de aderências intra-abdominais

6.4.2 Parâmetros tensiométricos

A força de ruptura, também denominada de resistência à tração, é a força de tração necessária para romper determinado segmento de tecido. Este método, inicialmente descrito por Farhat (1958), foi aprimorado por Staley, Trippel e Treston (1961). Posteriormente foi desenvolvido dispositivo eletro-mecânico, como o descrito por Jonsson, Jiborn e Zederferldt (1983), para melhorar a precisão na aferição da força de ruptura. Este autor introduziu a utilização da força de tração para a avaliação da resistência das anastomoses em processo de cicatrização. Ikeuchi *et al.* (1999) desenvolveram método mecânico computadorizado de alta precisão para determinação da força de ruptura. Em seu trabalho utilizaram máquina de ensaio mecânico computadorizada para aferição de tensão e compararam a pressão de ruptura e a força de tração. Estes autores concluíram que há forte correlação entre estes dois métodos na avaliação da resistência das anastomoses. Propuseram então a força de resistência a tração como método eficaz para avaliação da resistência tênsil da anastomose.

Ekmektzoglou *et al.* (2006) também propuseram que a força de ruptura seria o método mais adequado para avaliar a resistência tênsil das anastomoses colônicas e portanto sua cicatrização.

Por ser a força de ruptura da anastomose colônica importante e consagrado método de avaliação da cicatrização das anastomoses colônicas, este parâmetro foi avaliado no presente trabalho.

6.4.3 Parâmetros histológicos

A microscopia ótica é um método de avaliação da evolução de processo de cicatrização das anastomoses intestinais utilizado com frequência nos estudos experimentais. Seu valor é, em geral, subestimado, pois este método permite avaliação de todos os passos do processo cicatricial. O inconveniente consta no fato deste método ser subjetivo. Porém, em mãos experientes que analisem de maneira imparcial é possível extrair dados passíveis de quantificação importantes para avaliação e comparação do processo de cicatrização (VIZZOTTO JR. *et al.*, 2003).

6.4.3.1 Histologia convencional – hematoxilina-eosina

O processo de reparação pode ser avaliado, através da técnica de coloração com hematoxilina-eosina (HE), por diferentes indicadores, tais como: exudato neutrofilico, edema intersticial, necrose de mucosa, necrose transmural, deposição de fibrina, congestão vascular, infiltrado monomorfonuclear e polimorfonuclear, atividade regenerativa da mucosa, proliferação fibroblástica, neoformação vascular, processo granulomatoso e fibrose intersticial (CAMPOS; BRANCO; GROTH, 2008).

Vizzotto Jr. (2001) e Soares (2001) também utilizaram o parâmetro histológico em seus trabalhos para avaliação do processo de cicatrização de anastomoses colônicas em ratos. Ambos estudaram os parâmetros expostos anteriormente classificando-os e quantificando-os, de acordo com sua presença e intensidade, em ausente, leve, moderado ou intenso.

Com base no exposto, procedeu-se à aferição da intensidade do infiltrado inflamatório (atividade celular), do edema intersticial, da congestão vascular, do tecido de granulação e da fibrose, pois estes elementos do processo inflamatório e de cicatrização são úteis para avaliação de substâncias ou intervenções que interfiram nele.

6.4.3.2 Densitometria do colágeno

A utilização do Sirius-red permite avaliar os diferentes tipos de colágeno, pois de acordo com os tipos, isto é de acordo com a maturidade das fibras colágenas, estas assumem colorações diferentes com este método. O colágeno tipo I, maduro, apresenta forte birrefringência e assume a coloração amarela, laranja ou vermelha, enquanto o colágeno tipo III, imaturo, possui aspecto de fibras finas e assume a coloração esverdeada (JUNQUEIRA; BIGNOLAS; BRENTANI, 1979).

Coelho-Lemos *et al.* (2004) propuseram o índice de maturação do colágeno (IMaC), que foi definido com a razão entre as percentagens de colágeno tipo I e tipo III, como meio de avaliação da relação entre colágeno maduro e imaturo. Este índice tem sido amplamente utilizado por ser efetivo e de fácil reprodutibilidade; valores acima de 1 indicam predomínio de colágeno tipo I, maduro, e valores abaixo de um indicam predomínio do colágeno tipo III, imaturo.

Diversos estudos, como os de Costa (2003) e Trubian (2008), também utilizaram a densitometria do colágeno como método para avaliação da cicatrização de anastomoses colônicas em ratos.

Portanto, sendo a síntese do colágeno maduro em relação ao colágeno imaturo o elemento chave no processo de cicatrização das anastomoses colônicas, avaliou-se a razão entre a área do colágeno maduro em relação ao colágeno imaturo, denominada de o índice de maturação do colágeno (IMaC).

6.4.4 Parâmetros imunoistoquímicos

As diferentes fases do processo inflamatório que se desenvolvem na região das anastomoses intestinais vêm sendo estudadas através de marcadores imunoistoquímicos das células presentes durante as diferentes etapas da cicatrização (TORRES *et al.*, 2000; WERNER *et al.*, 2005).

Vários têm sido os marcadores utilizados, na dependência da fase do processo de cicatrização e do tipo celular que se queira avaliar. Os principais marcadores utilizados são o CD 31 para avaliação de neoangiogênese, o Ki67, para avaliação de células em proliferação e a calponina, para avaliação da presença de miofibroblastos.

Em imunohistoquímica, CD31 é usado principalmente para demonstrar a presença de células endoteliais em secções histológicas teciduais. Isto permite avaliar o grau de angiogênese tecidual (JACKSON, 2003). Como o paclitaxel é uma droga antineoplásica com efeito anti-neoangiogênico, este marcador é crucial para avaliar o efeito desta droga no processo de cicatrização da anastomose colônica.

O processo inflamatório tem como importante característica a proliferação celular, portanto o antígeno Ki67, que é um marcador para células em fase ativa do ciclo celular, foi utilizado como elemento de avaliação das células em proliferação durante o processo de cicatrização.

A Calponina é uma proteína expressa no músculo liso, ligada à calmodulina e à actina. Como a principal característica do processo inflamatório é migração e a proliferação dos miofibroblastos e fibroblastos, o que caracteriza a fase de fibroplasia, a calponina torna-se importante marcador para a detecção dos miofibroblastos neste meio.

Portanto, no presente estudo foram avaliados o número de vasos sanguíneos pelo marcador CD 31, o número de células em proliferação pelo marcador Ki67 e o número de miofibroblastos pelo marcador calponina.

6.5 EM RELAÇÃO À ANÁLISE DOS RESULTADOS

6.5.1 Parâmetros evolutivos

6.5.1.1 Óbito

A incidência global de óbitos no presente estudo foi de 26,8%, congruente com outros estudos que utilizaram metodologias semelhantes. Trubian (2008), que avaliou desnutrição com indução de toxemia, teve 24,5% de óbitos.

A taxa de óbitos foi maior nos grupos que receberam paclitaxel em comparação com os grupos que receberam salina, a maioria decorrente de complicações anastomóticas pós-operatórias.

A ação imunossupressora das drogas quimioterápicas, como o paclitaxel, é um dos possíveis fatores associado à maior taxa de óbitos observados nos grupos que receberam esta droga (GRUENIGEN *et al.*, 2012; DU BOIS *et al.*, 2005).

Outra possível hipótese para esta maior taxa de óbito é porque tais drogas, por diferentes mecanismos de ação, atuam inibindo a proliferação celular. Como tal proliferação é fundamental no processo de cicatrização, elas exercem importante ação atenuadora no processo de fibroplasia (VIZZOTTO JR. *et al.*, 2003; SOARES, 2001; YUCEUAR; ERTURK; TEMIZ, 2005, BOZKURTOGLU *et al.*, 2005; KANELLOS *et al.*, 2008, 2011). A ação inibitória sobre a fibroplasia tem como consequência maior taxa de deiscência das anastomoses, ocasionando fístula anastomótica e peritonite fecal (VIZZOTTO JR. *et al.*, 2003), o que condiz com o que foi observado na necrópsia dos animais.

6.5.1.2 Achados intra-abdominais

A incidência de estenose de anastomose foi maior nos grupos de animais desnutridos em relação aos nutridos. Não se observou diferença ao se avaliar as demais intervenções, como o uso de paclitaxel e a suplementação com ômega-3. Não foi possível identificar justificativa objetiva para este achado. Especula-se que possam ter havido micro-discências no grupo de animais desnutridos cuja cicatrização, com a renutrição pós-operatória, possa ter evoluído com a formação de estenose anastomótica.

Os demais achados intra-abdominais avaliados, infecção de sítio cirúrgico, deiscência de anastomose e intensidade das aderências intra-abdominais, não apresentaram diferença significativa entre os grupos. Diversos estudos avaliaram tais parâmetros e também não observaram diferença (VIZZOTTO JR., 2001; SOARES, 2001; COSTA, 2003).

6.5.1.3 Peso

No presente trabalho, a média do peso inicial dos animais de todos os grupos foi homogênea. A indução de desnutrição protéico-energética, mediante restrição em 50% da dieta padrão, promoveu redução ponderal progressiva durante os 28 dias do *pair feeding*. Os animais dos grupos nutridos tiveram ganho médio de peso de 23,1% entre D1 e D28, enquanto animais dos grupos desnutridos apresentaram perda média de peso de 16,6% entre D1 e D28. A média de peso dos grupos desnutridos foi menor em relação aos grupos nutridos no final dos 28 dias,

mostrando a eficiência do processo de restrição alimentar para obtenção do modelo de desnutrição. Resultados semelhantes foram encontrados em trabalhos realizados por Trubian (2008) e Gonçalves *et al.* (2009).

Relativamente poucos trabalhos avaliaram o papel da suplementação dos ácidos graxos ômega-3 na recuperação pós anastomose do trato digestivo, sendo a maioria deles estudos clínicos. Ensaio clínico como os de Farreras *et al.* (2005), Torrinas (2012) e Aoyama *et al.* (2013) avaliaram a ação da suplementação de ácidos graxos ômega-3 em pacientes submetidos a anastomoses do trato digestivo, sendo que apenas neste último o peso, como indicador de recuperação nutricional, foi avaliado. Neste último trabalho a suplementação com ácidos graxos ômega-3 teve importante papel na recuperação nutricional e no ganho de peso no pós-operatório de pacientes submetidos a anastomoses gastro-entéricas por câncer de estômago.

Observou-se ainda, no presente trabalho, que, no dia da cirurgia, após uma semana de administração de azeite de oliva ou de ácido graxo ômega-3, a média de peso do grupo desnutrido-ômega-3-salina (DOS) foi maior que a do grupo desnutrido-azeite-salina (DAS). Este achado, condizente com a literatura (AYOAMA *et al.*, 2013), sugere que a suplementação com ômega-3, além de modular favoravelmente o processo de cicatrização da anastomose, contribui também como importante fator de aporte nutricional energético na recuperação do estado de desnutrição.

6.5.2 Parâmetros tensiométricos

Das três forças de resistência à tração mensuradas, a força máxima de tração (FMT) e a tensão máxima (TM) não apresentaram diferenças entre os grupos. Em relação à força de ruptura completa (FRC), no grupo desnutrido-azeite-paclitaxel (DAP) ela foi menor quando comparada ao grupo nutrido-azeite-paclitaxel (NAP). A desnutrição associada ao paclitaxel teve papel prejudicial sobre a resistência tênsil da anastomose. Neste sentido, vários estudos experimentais que avaliaram a ação da desnutrição (TRUBIAN, 2008; GONÇALVES *et al.*, 2009) e do uso de quimioterápicos (SOARES, 2001; VIZZOTTO JR. *et al.*, 2003) sobre a força de ruptura de anastomoses colônicas em ratos também observaram redução

significativa da mesma por ação deletéria de tais drogas sobre o processo de cicatrização.

A indução de desnutrição protéico-calórica interfere sistemicamente na síntese protéica. Possivelmente este efeito também ocorra no sítio anastomótico, prejudicando a síntese do colágeno. Como a síntese do colágeno na anastomose é um dos principais fatores de recuperação da força de resistência à tração (DOILLON *et al.*, 1985; TRUBIAN, 2008), perturbações nesta síntese possivelmente se associem com redução na força de resistência à tração. Este mecanismo possivelmente explique o achado da redução da força de ruptura completa (FRC) no grupo desnutrido-azeite-paclitaxel (DAP) em relação ao grupo nutrido-azeite-paclitaxel (NAP). Corrobora com esta idéia o achado de que o índice de maturação do colágeno (razão entre colágeno maduro e imaturo) também seja menor, embora não de forma significativa, no grupo desnutrido-azeite-paclitaxel (DAP) quando comparada ao grupo nutrido-azeite-paclitaxel (NAP).

A ação dos quimioterápicos sobre a proliferação celular atenua o processo de fibroplasia (SOARES, 2001; VIZZOTTO JR. *et al.*, 2003; YUCEUAR; ERTURK; TEMIZ, 2005, BOZKURTOGLU *et al.*, 2005; KANELLOS *et al.*, 2008, 2011), como já abordado anteriormente. Possivelmente isto seja elemento potencializador dos efeitos inibitórios da desnutrição sobre a síntese protéica, em especial do colágeno no sítio anastomótico. Estes elementos, desnutrição e administração de paclitaxel, atuando de forma concomitante, provavelmente expliquem a redução da força de ruptura completa (FRC) no grupo desnutrido-azeite-paclitaxel (DAP) em relação ao grupo nutrido-azeite-paclitaxel (NAP), pois tal redução não foi observada no grupo de animais submetidos apenas à desnutrição, sem a administração de paclitaxel (desnutrido-azeite-salina – DAS em relação ao grupo nutrido-azeite-salina – NAS).

Por outro lado, não se observou diferença significativa na força de ruptura completa (FRC) entre os grupos desnutrido-ômega-3-paclitaxel (DOP) e nutrido-ômega-3-paclitaxel (NOP). Este achado sugere que a suplementação nutricional com ácidos graxos ômega-3 possa reverter o efeito deletério causado pela associação de desnutrição e administração de paclitaxel na FRC da anastomose colônica, pois a redução significativa desta força, observada no grupo DAP em relação ao grupo NAP, não foi observada no grupo DOP em relação ao grupo NOP.

Este achado é concordante com os de Ekçi *et al.* (2011), que também observaram aumento significativo na pressão de ruptura da anastomose colônica de

ratos que receberam suplementação nutricional com ômega-3, embora tenha sido utilizado em associação com o ácido ascórbico.

A recuperação da força tênsil está relacionada com colágeno tipo I (maduro) mais do que com o colágeno do tipo III (imaturo). Doillon *et al.* (1985) observaram que a deposição e o remodelamento das fibras colágenas do tipo I são os principais fatores para a recuperação da resistência da anastomose. Assim a modulação favorável dos ácidos graxos ômega-3 sobre a síntese de colágeno no sítio anastomótico, como será abordado mais adiante, é uma das explicações possíveis para a recuperação da força de ruptura da anastomose colônica observada.

6.5.3 Parâmetros histológicos

6.5.3.1 Histologia convencional – hematoxilina-eosina

Observou-se, no presente estudo, aumento na atividade celular no sítio anastomótico, considerada como infiltrado inflamatório, no grupo desnutrido-ômega-3-salina (DOS) em relação ao grupo desnutrido-azeite-salina (DAS). Este achado contribui com a idéia de que o ômega-3 tenha ação imunomoduladora no processo inflamatório e de cicatrização, estimulando a atividade celular. Este resultado é concordante com os achados de McDaniel *et al.* (2008) que observaram aumento do infiltrado inflamatório de feridas cutâneas humanas em cicatrização, bem como nível significativamente maior de interleucina 1 β (IL-1 β) no fluido inflamatório lesional no grupo que recebeu a administração do EPA e DHA.

Este achado pode parecer conflitante com o proposto na literatura, de que os ácidos graxos ômega-3 tenham atividade menos pró-inflamatória por substituírem ácido araquidônico (ácido graxo ômega-6) na membrana celular e aumentarem a produção de eicosanóides de menor potencial inflamatório como a prostaglandina E₃ e leucotrieno B₅ (CALDER 2007; TODD *et al.*, 2008; COCKBAIN; TOOGOOD; HULL, 2012; TORRINHAS; RODRIGUES; WAITZBERG, 2013). Especula-se que esta maior atividade celular no ambiente da anastomose se deva a tipos celulares específicos como macrófagos, fibroblastos e miofibroblastos. É possível que no sítio anastomótico, os eicosanóides derivados dos ácidos graxos ômega-3, embora tenham efeito inibitório sobre o processo inflamatório de forma geral, possam estimular a proliferação destes tipos celulares específicos. A maior produção de

colágeno maduro (IMaC) no grupo desnutrido-ômega-3-salina (DOS) em relação ao grupo desnutrido-azeite-salina (DAS) contribui indiretamente com esta idéia, pois esta maior produção está correlacionada com a maior atividade de células produtoras de colágeno (fibroblasto e miofibroblasto) no ambiente anastomótico.

6.5.3.2 Densitometria do colágeno

A avaliação da densitometria do colágeno (pela técnica de Picrosirius Red), no presente trabalho, mostrou redução significativa do colágeno maduro (tipo I) em relação ao colágeno imaturo (tipo III) avaliado pelo índice de maturação do colágeno (IMaC) no grupo desnutrido-azeite-salina (DAS) em relação ao grupo nutrido-azeite-salina (NAS). Este achado sugere que a desnutrição seja importante fator na redução da produção do colágeno maduro no ambiente da anastomose em cicatrização. Trubian (2008), em seu trabalho, também observou redução do IMaC nos grupos de ratos desnutridos em relação ao grupo controle (nutrido).

No grupo desnutrido-ômega-3-salina (DOS) observou-se ganho importante do colágeno maduro em relação ao imaturo quando comparado ao grupo nutrido-ômega-3-salina (NOS), pois o IMaC naquele grupo foi maior do que neste grupo. Este achado sugere que a administração do ômega-3 na semana que antecede a intervenção cirúrgica propicia estímulo na produção de colágeno maduro nos animais desnutridos.

O IMaC foi também significativamente maior no grupo desnutrido-ômega-3-salina (DOS) em relação ao grupo desnutrido-azeite-salina (DAS). Este achado corrobora com a idéia de que a administração pré-operatória de ômega-3 possa reverter os efeitos deletérios da desnutrição na produção do colágeno maduro no ambiente da anastomose em cicatrização.

A migração e a proliferação dos fibroblastos e dos miofibroblastos no ambiente em cicatrização, e conseqüentemente a produção do colágeno, são mediadas pela ação dos prostanóides como as prostaglandinas e os leucotrienos produzidos pelas células presentes no processo inflamatório. Portanto o IMaC maior no grupo desnutrido-ômega-3-salina (DOS) em relação ao desnutrido-azeite-salina (DAS) possivelmente esteja correlacionado com o maior nível da atividade celular observada no grupo desnutrido-ômega-3-salina (DOS) em relação ao grupo desnutrido-azeite-salina (DAS), como já discutido anteriormente.

6.5.4 Parâmetros imunohistoquímicos

6.5.4.1 Número de vasos sanguíneos

Outro achado deste estudo que favorece este conceito de imunomodulação produzido pela suplementação com ômega-3 foi a observação feita em relação ao número de vasos sanguíneos (neoangiogênese) no ambiente de cicatrização da anastomose. Em imunohistoquímica, CD31 é usado principalmente para demonstrar a presença de células endoteliais em secções histológicas teciduais. Isto permite avaliar o grau de angiogênese tecidual (JACKSON, 2003).

Observou-se redução no número de vasos sanguíneos através do marcador CD 31 no grupo desnutrido-azeite-paclitaxel (DAP) em relação ao grupo desnutrido-azeite-salina (DAS), sugerindo que a administração do paclitaxel, que é quimioterápico com ação anti-angiogênica (KLEIN *et al.*, 2005), seja o fator causador desta redução. Este achado é concordante com os apresentados por Yuceyar, Erturk e Temiz (2005) que mostraram, em seu estudo, redução significativa da neovascularização das anastomoses colônicas de ratos que receberam paclitaxel.

A suplementação com ômega-3 no grupo desnutrido-ômega-3-paclitaxel (DOP) associou-se a recuperação do número de vasos, pois este número foi maior neste grupo (DOP) quando comparado com o grupo desnutrido-azeite-paclitaxel (DAP). Este achado sugere que a inibição que o paclitaxel causa na neoangiogênese do processo de cicatrização da anastomose colônica possa ser revertida com a adição de ômega-3 no pré-operatório. Especula-se que os eicosanóides produzidos pela metabolização dos ácidos graxos ômega-3, como a prostaglandina E₃ e o leucotrieno B₅, estimulem a migração e a proliferação de células precursoras das células endoteliais no ambiente da anastomose.

6.5.4.2 Número de miofibroblastos

Os miofibroblastos são células produtoras de colágeno, predominantemente do tipo I, e sua quantificação também pode ser usada com método de avaliação da cicatrização (TRUBIAN, 2008). Os fibroblastos começam a aparecer na ferida por volta do 3º dia de pós-operatório e proliferam em resposta a fatores de crescimento, quando iniciam a produção de colágeno (KIYAMA, *et al.* 1998).

Foi observada redução significativa na média de número de miofibroblastos no grupo desnutrido-ômega-3-salina (DOS) em relação ao grupo nutrido-ômega-3-salina (NOS). Este achado sugere que a desnutrição seja fator deletério na produção de miofibroblastos. Trubian (2008) também encontrou redução significativa do número de miofibroblastos na anastomose colônica de ratos desnutridos.

6.5.4.3 Número de células em proliferação

As proliferação celular é característica da anastomose em cicatrização. Segundo Scholzen *et al.* (2005), o antígeno Ki-67 está presente em todas as fases ativas do ciclo celular (G1, S, G2, e mitose), mas está ausente em células em repouso (G0). No presente trabalho, não se observou diferença entre os grupos no número de células em proliferação, avaliado pelo marcador Ki67.

Diante dos achados anteriormente apresentados e das hipóteses desenvolvidas, seria esperado encontrar maior número de células em proliferação entre os grupos que receberam ácidos graxos ômega-3, em especial nos subgrupos que não receberam o quimioterápico, em comparação com os grupos que receberam azeite, porém isto não ocorreu. Não foi possível estabelecer razões objetivas para tal fato. Uma das possibilidades aventadas é de que os tipos celulares em proliferação sejam diferentes entre os grupos azeite e ácidos graxos ômega-3. Neste, mediados pelos eicosanóides de menor potencial inflamatório (prostaglandina E₃ e o leucotrieno B₅), oriundos da metabólização dos ácidos graxos ômega-3, os tipos celulares seriam compostos por miofibroblastos, fibroblastos, células endoteliais e seus precursores e no outro grupo (azeite), mediados por prostanóides de maior potencial inflamatório, seriam outros tipos celulares, como infiltrado polimorfo e monomorfonuclear.

6.6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Em concordância com a literatura, os achados deste trabalho sugerem que o uso de ômega-3 associou-se à modulação do processo inflamatório, com estímulo da produção do colágeno e na qualidade do mesmo no ambiente da anastomose (DOILLON *et al.*, 1985; TODD *et al.*, 2008). Como já referido, a quantidade de colágeno maduro em relação ao imaturo, medido pelo IMaC, foi significativamente

maior no grupo desnutrido-ômega-3-salina (DOS) em relação ao desnutrido-azeite-salina (DAS). Também no grupo desnutrido-ômega-3-salina (DOS), a atividade celular, representada pelo infiltrado inflamatório no ambiente da anastomose, foi maior em relação ao grupo desnutrido-azeite-salina (DAS). Estes dois achados, quando avaliados concomitantemente, suportam a idéia de que a administração de ômega-3 no pré-operatório, em ratos desnutridos, contribua positivamente na modulação do processo de cicatrização das anastomoses colônicas de ratos. Ekçi *et al.* em 2011, como já referido, também observaram ação benéfica dos ácidos graxos ômega-3 na cicatrização das anastomoses colônicas em ratos.

A suplementação do ômega-3 mostrou-se também importante fator nutricional, como aporte energético, pois atenuou a perda de peso no grupo desnutrido-ômega-3-salina (DOS) em relação ao grupo desnutrido-azeite-salina (DAS).

Esta suplementação desempenhou ainda papel importante na recuperação dos efeitos inibitórios do paclitaxel na neoangiogênese, pois o número de vasos sanguíneos no grupo desnutrido-ômega-3-paclitaxel (DOP) foi maior que no grupo desnutrido-azeite-paclitaxel (DAP).

Os mecanismos exatos pelos quais o ômega-3 possa ter atuado para produzir os achados deste trabalho ainda precisam ser melhor elucidados. Os ácidos graxos ômega-3 possuem atividades imunomoduladoras, sobre a produção de citocinas, na ativação dos linfócios T e na angiogênese (SEGURA, 2012), as quais estão provavelmente envolvidas nos resultados apresentados e que, ao serem elucidadas, poderão contribuir para a melhor compreensão dos dados apresentados.

Neste sentido, ensaios clínicos avaliando a ação dos ácidos graxos ômega-3 na cicatrização de anastomoses colônicas realizadas durante o tratamento cirúrgico do câncer de ovário serão importantes para confirmação dos benefícios encontrados neste trabalho experimental.

CONCLUSÃO

7 CONCLUSÃO

A suplementação pré-operatória do ácido graxo ômega-3 sobre a cicatrização das anastomoses colônicas em ratos Wistar adultos desnutridos e que receberam paclitaxel intra-peritoneal no pós-operatório produz:

- atenuação da perda de peso nos ratos desnutridos (DOS) em relação ao seu par controle que recebeu azeite de oliva (DAS).
- recuperação da força de ruptura completa nos ratos desnutridos sob o efeito de paclitaxel (DOP) em relação ao seu par controle nutrido (NOP).
- aumento no infiltrado inflamatório (atividade celular) no grupo desnutrido (DOS) em relação ao grupo desnutrido que recebeu azeite de oliva (DAS).
- aumento na produção de colágeno maduro nos ratos desnutridos (DOS) tanto ao ser comparado com seu par controle nutrido (NOS) quanto ao ser comparado com o grupo desnutrido com suplementação de azeite de oliva (DAS).
- aumento no número de vasos sanguíneos nos ratos desnutridos sob efeito de paclitaxel (DOP) em relação ao seu par controle que recebeu suplementação com azeite de oliva (DAP).

REFERÊNCIAS

REFERÊNCIAS

ALBELDA, S.M. *et al.* Molecular and cellular properties of PECAM-1 (endoCAM/CD31): a novel vascular cell-cell adhesion molecule. **Journal of Cell Biology**, New York, v. 114, n. 5, p. 1059-1068, 1991.

ALBINA, J.; GLADDEN, P.; WALSH, W. Detrimental effects of an omega-3 fatty acid-enriched diet on wound healing. **Journal of Parenteral and Enteral Nutrition**, Baltimore, v. 17, n. 6, p. 519-521, 1993.

AOYAMA, T. *et al.* Effect of enteral nutrition enriched with eicosapentaenoic acid on body weight loss and compliance with S-1 adjuvant chemotherapy after gastric cancer surgery. **Gan To Kagaku Ryoho**, Tokyo, vol. 40, n.12, p. 2289-2291, 2013.

APPEL, S. *et al.* G h3 / Acidic calponin : an actin-binding protein that controls extracellular signal-regulated kinase 1 / 2 activity in nonmuscle cells. **Molecular Biology of the Cell**, Bethesda, v. 21, p. 1409-1422, 2010.

ARMSTRONG, D.K. *et al.* Intraperitoneal cisplatin and paclitaxel in ovarian cancer. **The New England Journal of Medicine**, Bosoton, v. 354, n. 1, p. 34-43, 2006.

ASZODI, A.; PONSKI, J.L. Effects of 5-fluorouracil on the healing of bowel anastomosis in rats. **American Surgeon**, Atlanta, v. 51, p. 671-674, 1985.

BACCHI, G.E.; GOWN, A.M. Detection of cell proliferation in tissue sections. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, Ribeirão Preto, v. 26, n. 7, p. 677-687, 1993.

BALLANTYNE, G. Intestinal suturing, Review of the experimental foundations for traditional doctrines. **Diseases of the Colon and Rectum**, Philadelphia, v. 26, n. 12, p. 836-843, 1983.

BALOGUN, N. *et al.* Noninvasive nutritional management of ovarian cancer patients: beyond intestinal obstruction. **International Journal of Gynecological Cancer**, Cambridge, v. 22, n. 6, p. 1089-1095, 2012.

BELL, J. *et al.* Randomized phase III trial of three versus six cycles of adjuvant carboplatin and paclitaxel in early stage epithelial ovarian carcinoma: a Gynecologic Oncology Group study. **Gynecologic Oncology**, New York, v. 102, n. 3, p. 432-439, 2006.

BENEDET, J, L. *et al.* FIGO staging classifications and clinical practice guidelines in the management of gynecologic cancers FIGO Committee on Gynecologic Oncology. **International Journal of Gynaecology Obstetrics**, Baltimore, v. 70, n. 2, p. 209-62, 2000.

BETZ, P. *et al.* The time-dependent localization of Ki67 antigen-positive cells in human skin wounds. **International Journal of Legal Medicine**, Heidelberg, v. 106, n. 1, p. 35-40, 1993.

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

BONIN, E. A. **Supressão ácida por pantoprazol e cicatrização de sutura gástrica em ratos**. 80 f. Dissertação (Mestrado em Clínica Cirúrgica), Setor de Ciências da Saúde, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2003.

BOZKURTOGLU, H. *et al.* Effect of intraperitoneal paclitaxel on the healing of colonic anastomosis. **International Surgery**, Chicago, v. 90, n. 1, p. 12-17, 2005.

BRAGA, M. *et al.* Nutritional approach in malnourished surgical patients. A prospective randomized study. **Archives of Surgery**, Chicago, v. 137, n. 2, p. 178-180, 2002.

BRENNAN, S.S. *et al.* Prostaglandins in colonic anastomotic healing. **Diseases of the Colon and Rectum**, Philadelphia, v. 27, n. 11, p. 723-725, 1984.

BRISTOW, R.E. *et al.* Survival effect of maximal cytoreductive surgery for advanced ovarian carcinoma during the platinum era: a meta-analysis. **Journal of Clinical Oncology**, Tokyo, v. 20, n. 5, p. 1248-1259, 2002.

BROUGHTON, G.; JANIS, J.E.; ATTINGER, C.E. Wound healing: an overview. **Plastic and Reconstructive Surgery**, Baltimore, v. 117, s. 7, p. 1e-S-32eS, 2006a.

BROUGHTON, G.; JANIS, J.E.; ATTINGER, C.E. The basic science of wound healing. **Plastic and Reconstructive Surgery**, Baltimore, v.117, s. 7, p. 12S-34S, 2006b.

BULLWINKEL, J. *et al.* Ki-67 protein is associated with ribosomal RNA transcription in quiescent and proliferating cells. **Journal of Cellular Physiology**, Philadelphia, v. 206, n. 3, p. 624-635, 2005.

CALDER, P.C. Polyunsaturated fatty acids, inflammation, and immunity. **Lipids**, Champaign, v. 36, n. 9, p. 1007-1024, 2001a.

CALDER, P. C. More good news about fish oil. **Nutrition**, Burbank, v. 17, n. 2, p.158-160, 2001b.

CALDER, P.C. Long-chain n-3 fatty acids and inflammation: potential application in surgical and trauma patients. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, Ribeirão Preto, v. 36, n. 4, p. 433-46, 2003.

CALDER, P.C. Immunomodulation by omega-3 fatty acids. **Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids**, Edinburgh, v. 77, p. 327-335, 2007.

CALVIELLO, G. *et al.* Cell proliferation, differentiation, and apoptosis are modified by n-3 polyunsaturated fatty acids in normal colonic mucosa. **Lipids**, Champaign v. 34, n. 6, p. 599-604, 1999.

CAMPOS, A.C.L.; MEGUID, M.M.; COELHO, J.C. Factors influencing outcome in patients with gastrointestinal fistula. **The Surgical Clinics of North America**, Philadelphia, v. 76, n. 5, p. 1191-1198, 1996.

CAMPOS, A.C.L.; BRANCO, A.B.; GROTH, A.K. Cicatrização de feridas. **Arquivos Brasileiros de Cirurgia Digestiva**, São Paulo, v. 20, n. 1, p. 51-58, 2007.

CAMPOS, A.C.L.; BRANCO, A.B.; GROTH, A.K. Assessment and nutritional aspects of wound healing. **Current Opinion in Clinical Nutrition and Metabolic Care**, London, v. 11, n. 3, p. 281-288, 2008.

CAMPOS, A. C. L. **Nutrição e metabolismo em cirurgia**, Rio de Janeiro: Rubio, 2013.

CANBAY, E. *et al.* Dual inhibition of wound healing and oxidative process by montelukast in experimental colon anastomoses. **Surgical Innovation**, Glen Head, v. 17, n. 3, p. 248-255, 2010.

CARDOSO, C.R. *et al.* Oleic acid modulation of the immune response in wound healing: a new approach for skin repair. **Immunobiology**, Stuttgart, v. 216, n. 3, p. 409-415, 2011.

CARREL, A. The treatment of wounds. **JAMA**, Chicago, v. 55, p. 2148-2150, 1910.

CHLUMSKY, V. Experimentelle Untersuchungen über die Verschiedenen Method der Darmvereinigung. **Burns. Beitr. Klin. Chir.**, Berlin, v.25, p.539-560, 1989.

CHOWCAT, N.L. *et al.* Role of collagenase in colonic anastomoses : a reappraisal. **British Journal of Surgery**, Bristol, v. 75, n. 4, p. 330-334, 1988.

CLARK, R.A.F. Wound repair. **Current opinion in Cell Biology**, London, v. 1, n. 5, p. 1000-1008, 1989.

CLARK, R.A.F. Wound Repair. In: COTRAN, P. *et al.* **Pathologic basis of disease**. 7th ed. Philadelphia: Saunders, 2005. p. 112.

COCKBAIN, A.J.; TOOGOOD, G.J.; HULL, M.A. Omega-3 polyunsaturated fatty acids for the treatment and prevention of colorectal cancer. **Gut**, London, v.61, n. 1, p. 135-149, 2012.

COELHO-LEMOS, I.C. *et al.* In utero malnutrition influences wound healing of newborn rats as measured by tensile strength and collagen deposition. **Journal of Parenteral and Enteral Nutrition**, Baltimore, v. 28, n. 4, p. 241-244, 2004.

COLOMBO, N.; GUTHRIE, D.; CHIARI, S. International Collaborative Ovarian Neoplasm Trial 1: A randomized trial of adjuvant chemotherapy in women with early-

stage ovarian cancer. **Journal of National Cancer Institute**, Cary, v. 95, n. 2, p. 125-132, 2003.

COLOMBO, N. *et al.* Ovarian cancer. **Critical Reviews in Oncology and Hematology**, Boca Raton, v. 60, n. 2, p. 159-169, 2006.

CORREIA, M.I. *et al.* Risk factors for malnutrition in patients undergoing gastroenterological and hernia surgery: an analysis of 374 patients. **Nutricion Hospitalaria**, Madrid, v. 16, n. 2, p. 59-64, 2001.

COSTA, M. A. R. **Glutamina oral na cicatrização de anastomoses colônicas em ratos**. 92 f. Dissertação (Mestrado em Clínica Cirúrgica) - Setor de Ciências da Saúde, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2003.

CRAMER, D.W. Epidemiologic and statistical aspects of gynecologic oncology. In: KNAPP, R.C.; BERKOWITZ, R.S **Gynecologic oncology**. London: Macmillan, 1986. p. 201-222.

DALY, J.M.; VARS, H.M.; DUDRICK, S.J. Effects of protein depletion on strength of colonic anastomoses. **Surgery Gynecology & Obstetrics**, Chicago, v. 134, p. 15-21, 1972.

DOILLON, C.J. *et al.* Collagen deposition during wound repair. **Scanning Electron Microscopy**, Chicago, v. 2, p. 897-903, 1985.

DU BOIS, A. *et al.* 2004 consensus statements on the management of ovarian cancer: final document of the 3rd International Gynecologic Cancer Intergroup Ovarian Cancer Consensus Conference (GCIG OCCC 2004). **Annals of Oncology**, Dordrecht, v. 16, s.8, p. viii7-viii12, 2005.

EISENKOP, S.M. *et al.* Peritoneal implant elimination during cytoreductive surgery for ovarian cancer- impact on survival. **Gynecologic Oncology**, New York, v. 51, p. 224-229, 1993.

EISENKOP, S.M.; FRIEDMAN, R.L.; SPIRTOS, N.M. The role of secondary cytoreductive surgery in the treatment of patients with recurrent epithelial ovarian carcinoma. **Cancer**, Philadelphia, v. 88, n. 1, p. 144-153, 2000.

EKÇI, B. *et al.* The effect of omega-3 fatty acid and ascorbic acid on healing of ischemic colon anastomoses. **Annali Italiani di Chirurgia**, Bologna, v. 82, n. 6, p. 479-479, 2011.

EKMEKTZOGLU, K.A. *et al.* Mechanical behavior of colonic anastomosis in experimental settings as a measure of wound repair and tissue integrity. **World Journal of Gastroenterology**, Beijing, v. 12, n. 35, p. 5668-5673, 2006.

ELLENSON, L.H. Female genital tract. In: COTRAN P. *et al.* **Pathologic basis of disease**, 7th ed. Philadelphia: Saunders, 2005. p.1005.

EVANGELISTA, A.L.; SANTOS, E.M.M. Cluster of symptoms in women with breast cancer treated with curative intent. **Supportive Care in Cancer**, Berlin, v. 20, n. 7, p. 1499-1506, 2012.

FARHAT, S.M. Effect of mechlorethamine hydrochloride (nitrogen mustard) on healing of abdominal wounds. **Archives of Surgery**, Chicago, v.76, p.749-753, 1958.

FARRERAS, N. *et al.* Effect of early postoperative enteral immunonutrition on wound healing in patients undergoing surgery for gastric cancer. **Clinical Nutrition**, Edinburgh, v. 24, n. 1, p. 55-65, 2005.

FELGINES, C. *et al.* Protein metabolism in rats during long-term dietary restriction: influence of aging. **Journal of Parenteral and Enteral Nutrition**, Baltimore, v. 23, n. 1, p. 32-37, 1999.

FETTERMAN, J.W.; ZDANOWICZ, M.M. Therapeutic potential of n-3 polyunsaturated fatty acids in disease. **American Journal of Health-System Pharmacy**, Bethesda, v. 66, n. 13, p. 1169-1179, 2009.

FIELDING, L.P. *et al.* Anastomotic integrity after operations for large-bowel cancer: a multicentre study. **British Journal of Surgery**, Bristol v. 281, p. 411-414, 1980.

FUKUZAWA, J.; TERASNIMA, H.; OHKOHSI, N. Early postoperative oral feeding accelerates upper gastrointestinal anastomotic healing in the rat model. **World Journal of Surgery**, New York, v. 31, n. 6, p. 1234-139, 2007.

FUMAGALLI, U. *et al.* Effect of intraperitoneal chemotherapy on anastomotic healing in the rat. **Journal of Surgical Research, New York**, v.50, p.82-87, 1989.

GOLIGHER, J.C.; GRAHAM, N. G.; DOMBAL, F.T. Anastomotic dehiscence after anterior resection of rectum and sigmoid. **British Journal of Surgery**, Bristol, v. 57, n. 2, p. 109-118, 1970.

GONÇALVES, C. **Cicatrização de anastomose colônica e nutrição pré-operatória em ratos desnutridos: estudo tensiométrico e de deposição do colágeno.** 80 f. Dissertação (Mestrado) - Setor de Ciências da Saúde, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2005.

GONÇALVES, C.G. *et al.* Influence of preoperative feeding on the healing of colonic anastomosis in malnourished rats. **Journal of Parenteral and Enteral Nutrition**, Baltimore v. 33, n. 1, p. 83-89, 2009.

GRAF, W.; WEIBER B.; GLIMENIUS, B. Influence of 5-flourouracil and folinic acid on colonic healing: an experimental study in the rat. **British Journal of Surgery**, Bristol, v. 79, p. 825-828, 1992.

GRAF, W. *et al.* The roles of nutritional depletion and drug concentration in 5-fluorouracil-induced inhibition of colonic healing. **Journal of Surgical Research**, New York, v. 56, p. 452-456, 1994.

GRUENIGEN V.E. *et al.* The Association Between Quality of Life Domains and Overall Survival in Ovarian Cancer Patients During Adjuvant Chemotherapy: A Gynecologic Oncology Group Study. **Gynecologic Oncology**, New York, v. 124, n. 3, p. 379-382, 2012.

GUMINA, R.J. *et al.* The human PECAM1 gene maps to 17q23. **Genomics**, San Diego, v. 34, p. 229-232, 1996.

HAMM, A. *et al.* Effect of antibiotics in fibrin sealant on healing colonic anastomoses in the rat. **British Journal of Surgery**, Bristol, v. 79, p. 525-528, 1992.

HANANEL, N.; GORDON, P.H. Effect of 5-fluorouracil and leucovorin on the integrity of colonic anastomoses in the rat. **Diseases of the Colon and Rectum**, Philadelphia, v. 38, p. L886-890, 1995.

HARPER, P.; COLOMBO, N. Paclitaxel plus carboplatin versus standard chemotherapy with either single-agent carboplatin or cyclophosphamide doxorubicin, and cisplatin in women with ovarian cancer: the ICON3 randomised trial. **The Lancet**, London, v. 360, p. 505-515, 2002.

HARVILESKY, L.J. *et al.* Cost effectiveness of intraperitoneal compared with intravenous chemotherapy for women with optimally resected stage III ovarian cancer: a Gynecologic Oncology Group study. **Journal of Clinical Oncology**, New York, v. 26, n. 25, p. 4144-4450, 2008.

HENDRICKS, T.; MASTBOOM, W.J.B. Healing of experimental intestinal anastomosis: aprameters for repair. **Diseases of the Colon and Rectum**, Philadelphia, v.33, p.891- 901, 1990.

HENDRICKSE, C.W.; KEIGHLEY, M.R.; NEOPTOLEMOS, J.P. Dietary omega-3 fats reduce proliferation and tumor yields at colorectal anastomosis in rats. **Gastroenterology**, Baltimore, v. 109, n. 2, p. 431-439, 1995.

HILL , A. G. I *et al.* Malnutrition in surgical patients: an unrecognized problem. **The Lancet**, London, v. 3, p. 689-692, 1977.

HILLAN, K. *et al.* The healing of colonic anastomoses after early intraperitoneal chemotherapy: an experimental study in rats. **Journal of Surgical Research, New York** v. 44, p. 166-171, 1988.

HÖGSTRÖN, H. *et al.* Influence of intraperitoneal escherichia coli with septicemia on the healing of colonic anastomoses and skin wounds. **European Surgical Research**, Basel, v. 17, p. 128-132, 1985.

HOSKINS, W.J.; BUNDY, B.N.; THIGPEN, J.T. The influence of cytoreductive surgery on recurrence-free interval and survival in small-volume stage III ovarian cancer: a Gynecologic Oncology Group Study. **Gynecologic Oncology**, New York, v. 47, n. 2, p. 159-166, 1992.

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

HOWES, E.L.; HARVEY, S.C. Effect of high protein diet on the velocity of growth of fibroblasts in the healing wound. **Annals of Surgery**, Philadelphia, v. 91, n, 5, p.641-650, 1930.

IKEUCHI, D. *et al.* Correlation of tensile strength with bursting pressure in the evaluation of intestinal anastomosis. **Digestive Surgery**, Basel, v. 16, p. 478-485, 1999.

INSTITUTO NACIONAL DO CÂNCER. Câncer de ovário, Disponível em: <<http://www2.inca.gov.br/wps/wcm/connect/tiposdecancer/site/home/ovario>> Acesso em: 05/09/2013.

IRVIN, T. T.; GOLIGHER, J. C. A etiology of disruption of intestinal anastomoses. **British Journal of Surgery**, Bristol, v. 60, p. 461, 1973.

IRVIN, T.T.; HUNT, T.K. Effect of malnutrition on colonic healing. **Annals of Surgery**, Philadelphia v. 180, n. 5, p. 765-772, 1974.

IRVIN, T. *et al.* Effects of malnutrition and hyperalimentation on wound healing. **Surgery Gynecology & Obstetrics**, Chicago, v. 146, p. 33-37, 1978.

JACKSON, D. The unfolding tale of PECAM-1. **FEBS Letters**, Amsterdam, v. 540, n. 1-3, p. 7-14, 2003.

JĘDRZEJCZAK-CZECHOWICZ, M.; KOWALSKI, M.L. Effects of parenteral lipid emulsions on immune system response **Anesthesia Intensive Therapy**, Edgecliff, v. 43, n. 4, p. 207-213, 2011.

JIANG, Q.; WU, B.Y.; CHEN, X.D. Effect of oleic acid on the proliferation and secretion of pro-inflammatory mediators of human normal fibroblasts and scar fibroblasts. **Chinese Journal of Burns**, Beijing, v. 28, n. 6, p. 444-450, 2012.

JIBORN; H., AHONEN; J., ZEDERFELDT; B. Healing of experimental colonic anastomoses III: collagen metabolism in the colon after left colon resection. **American Journal of Surgery**, New York, v. 139, p. 398-405, 1980.

JONSSON, K.; JIBORN, H.; ZEDERFERLDT, B. Breaking strength of small intestinal anastomoses. **American Journal of Surgery**, New York, v. 145, p. 800-803, 1983.

JUNQUEIRA, L.C.U.; BIGNOLAS, G.; BRENTANI, R.R. Picrosirius staining plus polarization microscopy, a specific method for collagen detection in tissue sections. **Histochemical Journal**, London, v. 11, n. 4, p. 447-455, 1979.

KALFARENTZOS, F. *et al.* Enteral nutrition is superior to parenteral nutrition in severe acute pancreatitis: results of a randomized prospective trial. **British Journal of Surgery**, Bristol, v. 84, v. 12, p. 1665-1669, 1997.

KANELLOS, I. *et al.* Influence of intraperitoneal 5-fluorouracil plus folinic acid on the healing of colonic anastomosis in rats. **European Surgical Research**, Basel, v.28, p.374-379, 1996.

KANELLOS, D. *et al.* Healing of colonic anastomoses after immediate postoperative intraperitoneal administration of oxaliplatin. **International Journal of Colorectal Disease**, Berlin, v. 23 N. 12, p. 1185-1191, 2008.

KANELLOS, D. *et al.* The effects of the intraperitoneal administration of oxaliplatin and 5-FU on the healing of colonic anastomoses: an experimental study. **Techniques in Coloproctology**, Roma, v. 15 s. 1, p. 5111-5115, 2011.

KAVALUKAS, S.L.; BARBUL, A. Nutrition and wound healing: an update. **Plastic Reconstruction Surgery**, Baltimore, v. 127 s. 1, p. 385-435, 2011.

KIM, J.H. *et al.* Consolidation hyperthermic intraperitoneal chemotherapy using paclitaxel in patients with epithelial ovarian cancer. **Journal of Surgical Oncology**, New York, v. 101, n. 2, p. 149-155, 2010.

KIMURA, F. *et al.* Long-term supplementation of docosahexaenoic acid-rich, eicosapentaenoic acid-free microalgal oil in n-3 fatty acid-deficient rat pups. **Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry**, Tokyo, v. 72, n. 2, p. 608-610, 2008.

KIYAMA, T. *et al.* The route of nutrition support affects the early phase of wound healing. **Journal of Parenteral and Enteral Nutrition**, Baltimore, v. 22, n. 5, p.276-279, 1998.

KLEIN, L.E. *et al.* The microtubule stabilizing agent discodermolide is a potent inducer of accelerated cell senescence. **Cell Cycle**, Georgetown, v. 4, n. 3, p. 501-507, 2005.

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

KUZU, M. A. *et al.* Experimental study of the effect of preoperative 5-fluorouracil on the integrity of colonic anastomoses. **British Journal of Surgery**, Bristol, v. 85, p. 236-239, 1998.

LAMEU, E.B.; POZIOMYCK, A.K.; MOREIRA, L.F. Consequências da desnutrição no paciente cirurgico In: CAMPOS, A.C.L. **Nutrição e metabolismo em cirurgia**. Rio de Janeiro: Rubio, 2013. p. 55-64.

LAW, N.W.; ELLIS, H. Revised model for the study of colonic anastomotic healing in protein malnourished rats. **European Surgical Research**, Basel, v. 21, n. 3-4, p. 218-223, 1989.

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

LEGHA, S.S. *et al.* A phase II trial of taxol in metastatic melanoma. **Cancer**, Philadelphia v. 65, n. 11, p. 2478-2481, 1990.

LEITE, C.V.S. *et al.* Efeito da desnutrição protéica na anastomose do cólon distal no rato. Estudo da força de ruptura e do colágeno tecidual. **Acta Cirúrgica Brasileira**, São Paulo, v. 8, n. 4, p. 145-150, 1993.

LU, J. *et al.* Polyunsaturated fatty acids block platelet-activating factor-induced phosphatidylinositol 3 kinase/Akt-mediated apoptosis in intestinal epithelial cells. **American Journal of Physiology: Gastrointestinal Liver Physiology**, Bethesda, v. 294, n. 5, p. 181-90, 2008.

MALL, J.W. *et al.* Intraperitoneal administration of the angiogenesis inhibitor thalidomide does not impair anastomotic healing following large bowel resection in a rabbit model. **World Journal of Surgery**, New York, v. 27, n. 10, p. 1119-1123, 2003.

MANSSON, P. *et al.* Anastomotic healing in the rat colon: comparison between a radiological method, breaking strength and bursting pressure. **International Journal of Colorectal Disease**, Berlin, v. 17, v. 6, p. 420-425, 2002.

MARTINDALE, R.G. *et al.* Guidelines for the provision and assessment of nutrition support therapy in the adult critically ill patient. Society of critical care medicine and American society of parenteral and enteral nutrition, Executive summary. **Critical Care Medicine**, New York, v. 37, n. 5, p. 1757-1761, 2009.

MARTINDALE, R.G.; MCCLAVE, S.A.; MCCARTHY, M.S. Modulação imunológica e metabólica com terapia nutricional no paciente cirúrgico. In: CAMPOS, A.C.L. **Nutrição e metabolismo em cirurgia**. Rio de Janeiro: Rubio, 2013. p. 55-64.

MARTINEZ, A.; SCHRAY, M.F.; HOWES, A.E. Postoperative radiation therapy for epithelial ovarian cancer: the curative role based on a 24-year experience. **Journal of Clinical Oncology**, New York, v. 3, n. 7, p. 901-911, 1985.

McDANIEL, J.C. *et al.* ω -3 fatty acids effects on wound healing. **Wound Repair and Regeneration**, St. Louis, v. 16, n. 3, p. 337-345, 2008.

McGUIRE, W.P. *et al.* Taxol: a unique antineoplastic agent with significant activity in advanced ovarian epithelial neoplasms. **Annals of Internal Medicine**, Philadelphia, v. 111, n. 4, p. 273-279, 1989.

MENENDEZ, J.A.; LUPU, R. Mediterranean dietary traditions for the molecular treatment of human cancer: anti-oncogenic actions of the main olive oil's monounsaturated fatty acid oleic acid (18:1n-9). **Current Pharmaceutical Biotechnology**, Hilversum, v. 7, n. 6, p. 495-502, 2006.

MUND, R.C. *et al.* Decreased tumor growth in Walker 256 tumor-bearing rats chronically supplemented with fish oil involves COX-2 and PGE2 reduction associated with apoptosis and increased peroxidation. **Prostaglandins, Leukotrienes, and Essential Fatty Acids**, Edinburgh, v. 76, n. 2, p. 113-120, 2007.

NARESSE, L.E. *et al.* Aparelho para a medida da força de ruptura das anastomoses intestinais. **Revista do Hospital de Clínicas da Faculdade de Medicina de São Paulo**, São Paulo, v. 42, p. 204-208, 1987.

NARESSE, L. E. *et al.* Estudo comparativo de anastomoses no intestino delgado de cão: estudos da força de ruptura, hidroxiprolina tecidual e anatomopatológico. **Acta Cirúrgica Brasileira**, São Paulo, v. 3, p. 106-112, 1988.

NARESSE, L.E.; LUCCHIARI, P.H.; KOBAYASI, S. Estudo da resistência (força de ruptura) das anastomoses intestinais em plano único e em dois planos. **Revista Brasileira de Cirurgia**, Rio de Janeiro, v. 78, n. 4, p. 247-250, 1988.

NARESSE, L.E. *et al.* Efeito da peritonite fecal na cicatrização do cólon distal no rato: avaliação anatomopatológica, estudo da força de ruptura e da hidroxiprolina tecidual. **Acta Cirúrgica Brasileira**, São Paulo, v. 8, n. 2, p. 48-53, abr./jun. 1993.

NEIJT, J.P. *et al.* Exploratory phase III study of paclitaxel and cisplatin versus paclitaxel and carboplatin in advanced ovarian cancer. **Journal of Clinical Oncology**, New York, v. 18, n. 17, p. 3084-3092, 2000.

NEWMAN, P.J. *et al.* PECAM-1 (CD31) cloning and relation to adhesion molecules of the immunoglobulin gene superfamily. **Science**, Washington, v. 247, n. 4947, p. 1219-1222, 1990.

OKAWA, L. **Influência da suplementação enteral pré-operatória com dieta enriquecida com arginina, ácidos graxos ômega-3, nucleotídeos e oligoelementos na cicatrização de anastomoses colônicas em ratos: estudo tensiométrico e da densitometria do colágeno.** 137 f. Dissertação (Mestrado em Clínica Cirúrgica) - Setor de Ciências da Saúde, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2009.

ORGILL, D.; DEMLING, R.H. Current concepts and approaches to wound healing. **Critical Care Medicine**, New York, v. 16, n. 9, p. 899-907, 1988.

OZEL, L. *et al.* Effect of early preoperative 5-fluorouracil on the integrity of colonic anastomoses in rats. **World Journal of Gastroenterology**, Beijing, v. 15, n. 33, p. 4156-4162, 2009.

OZOLS, R.F. *et al.* Phase III trial of carboplatin and paclitaxel compared with cisplatin and paclitaxel in patients with optimally resected stage III ovarian cancer: a Gynecologic Oncology Group study. **Journal of Clinical Oncology**, New York, v. 21, n. 17, p. 3194-3200, 2003.

PALESTY, J.A.; DUDRICK, S.J. What we have learned about cachexia in gastrointestinal cancer. **Digestive Disease**, Basel, v. 21, n. 3, p. 198-213, 2003.

PATTEN, G.S. *et al.* Dietary fish oil increases acetylcholine and eicosanoid-induced contractility of isolated rat ileum. **The Journal of Nutrition**, Philadelphia, v. 5, p. 2506-2513, 2002.

PECORELLI, S. *et al.* Phase III trial of observation versus six courses of paclitaxel in patients with advanced epithelial ovarian cancer in complete response after six courses of paclitaxel/platinum-based chemotherapy: final results of the after-6 protocol 1. **Journal of Clinical Oncology**, New York, v. 27, n. 28, p. 4642-4648, 2009.

PEIRETTI, M.; BRISTOW, R. E.; ZAPARDIEL, I.; GERARDI, M.; ZANAGNOLO, V.; BIFFI, R.; LANDONI, F.; BOCCIOLONE, L.; ALETTI, G. D.; MAGGIONI, A. Rectosigmoid resection at the time of primary cytoreduction for advanced ovarian cancer. A multi-center analysis of surgical and oncological outcomes. **Gynecologic Oncology**, New York, v. 126, n. 2, p. 220-223, 2012.

PUERTOLLANO, M.A. *et al.* Aceite de oliva, sistema inmune e infección. **Nutrición Hospitalaria**, Madrid, v. 25, n. 1, p. 1-8, 2010.

RAHMANZADEH, R. *et al.* Chromophore-assisted light inactivation of pKi-67 leads to inhibition of ribosomal RNA synthesis. **Cell Proliferation**, Oxford, v. 40, n. 3, p. 422-430, 2007.

ROBSON, M.C.M.; STEED, D.L.; FRANZ, M.G. Wound healing: biologic features and approaches to maximize healing trajectories. **Current Problems in Surgery**, Chicago, v. 38, n. 2, p. 72-132, 2001.

RODRIGUES, H.G. *et al.* Dietary free oleic and linoleic acid enhances neutrophil function and modulates the inflammatory response in rats. **Lipids**, Champaign v. 45, n. 9, p. 809-819, 2010.

RODRIGUES, H.G. *et al.* Oral administration of oleic or linoleic acid accelerates the inflammatory phase of wound healing. **Journal of Investigative Dermatology**, Baltimore, v. 132, n. 1, p. 208-215, 2012.

RUBERG, R. Role of nutrition in wound healing. **The Surgical Clinics of North America**, Philadelphia, v. 64, n. 4, p. 705-714, 1984.

RUFIA, S. *et al.* Radical surgery-peritonectomy and intraoperative intraperitoneal chemotherapy for the treatment of peritoneal carcinomatosis in recurrent or primary ovarian cancer. **Journal of Surgical Oncology**, New York v. 94, n. 4, p. 316-324, 2006.

RUTHIG, D.J.; MECKLING-GILL, K.A. Both (n-3) and (n-6) fatty acids stimulate wound healing in the rat intestinal epithelial cell line, IEC-6. **The Journal of Nutrition**, Philadelphia, v. 129, n. 10, p. 1791-1798, 1999.

SALES-CAMPOS, H.S. *et al.* An overview of the modulatory effects of oleic acid in health and disease. **Mini-Reviews in Medicinal Chemistry**, Hiversum, v. 31, p. 10, 2012.

SCHIMITZ, L. D. **Nutrição peri-operatória suplementada com glutamina em ratos desnutridos submetidos a anastomose colônica , avaliação morfológica e tensiométrica.** 80 f. Tese (Mestrado em Clínica Cirúrgica) - Setor de Ciências da Saúde, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2006.

SCHOLZEN, T. *et al.* Ki-67 protein is associated with ribosomal RNA transcription in quiescent and proliferating cells. **Journal of Cellular Physiology**, Philadelphia, v. 206, n. 3, p. 624-635, 2005.

SCHROCK, T.R.; DEVENNEY, C.W.; DUNPHY, J.E. Factors contributing to leakage of colonic anastomoses. **Annals of Surgery**, Philadelphia, v. 5, p. 513-518, 1973.

SEGURA, J.G. **Extração e Caracterização de óleos de resíduos de peixe de água doce.** 97 f. Dissertação (Mestrado) - Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Universidade de São Paulo, 2012.

SIEGEL, R. *et al.* Cancer statistics, 2011: the impact of eliminating socioeconomic and racial disparities on premature cancer deaths. **CA Cancer Journal for Clinicians**, New York, v. 61, n. 4, p. 212, 2011.

SINGER, P. *et al.* Benefit of an enteral diet enriched with eicosapentaenoic acid and gamma-linolenic acid in ventilated patients with acute lung injury. **Critical Care Medicine**, New York, v. 34, n. 4, p.1033-1038, 2006.

SISSON, R. *et al.* Comparison of wound healing in various nutritional deficiency states. **Surgery**, St. Louis, v. 44, n. 4, p. 613-618, 1958.

SOARES, E.W.S. **Efeito do uso pós-operatório de 5-fluorouracil na cicatrização de anastomoses colônicas em ratos.** 60 f. Tese (Mestrado em Clínica Cirúrgica) - Setor de Ciências da Saúde, Universidade Federal do Paraná, Curitiba 2001.

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

SPAIN, K.; LOEB, L. A quantitative analysis of the influence of the size of the defect on wound healing in the skin of the guinea pig. **Journal of Experimental Medicine**, Tokyo, p.107-122, 1916.

STALEY, C.J.; TRIPPEL, O.H.; TRESTON, F.W. Influence of 5-fluoruracile on wound healing. **Surgery**, St. Louis, v. 49, p. 450, 1961.

SUGARBAKER, P. Intraperitoneal chemotherapy and cytoreductive surgery for the prevention and treatment of peritoneal carcinomatosis and sarcomatosis. **Seminars in Surgical Oncology**, New York, v. 14, n. 202, p. 254-261, 1998.

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

TAKAHASHI, M. *et al.* Reduction in formation and growth of 1,2-dimethylhydrazine-induced aberrant crypt foci in rat colon by docosahexaenoic acid. **Cancer Research**, Baltimore, v. 53, n. 12, p. 2786-2789, 1993.

TANG, J. *et al.* A critical role for calponin 2 in vascular development. **Journal of Biological Chemistry**, Baltimore, v. 281, n. 10, p. 6664-6672, 2006.

TENTES, A.A.K. *et al.* Cytoreductive surgery combined with hyperthermic intraperitoneal intraoperative chemotherapy in the treatment of advanced epithelial ovarian cancer. **Journal of Oncology**, New York, v. 30, p. 1-6, 2012.

TERANO, T.; SALMON, J.A.; MONCADA, S. Eicosapentanoic acid (EPA) on the formation of leukotriene B4 and AND leukotriene B5 by rat leukocytes. **Biochemical Pharmacology**, Oxford, v. 35, n. 19, p. 3071-3076, 1984.

THIES, F. *et al.* Influence of dietary supplementation with long-chain n-3 or n-6 polyunsaturated fatty acids on blood inflammatory cell populations and functions and on plasma soluble adhesion molecules in healthy adults. **Lipids**, Champaign v. 36, n. 11, p. 1183-1193, 2001.

THOMPSON, S.K.; CHANG, E.Y.; JOBE, B.A. Clinical review: Healing in gastrointestinal anastomoses, part I. **Microsurgery**, New York, v. 26, p. 131-136, 2006.

THORNTON, F.J.; BARBUL, A. Healing in the gastrointestinal tract. In: Wound healing. BARBUL, A. **The Surgical Clinics of North America**, Philadelphia, v. 77, n. 3, p. 549 - 573 1997.

TODD, S.R. *et al.* Update on postinjury nutrition. **Current Opinion in Critical Care**, Hagerstown, v. 14, n. 6, p. 690-695, 2008.

TORRES, L.F.B. *et al.* A contribuição da imunohistoquímica em patologia cirúrgica: experiência de 10 casos. **Revista Médica do Paraná, Curitiba**, v. 58, n. 1, p. 24-32, 2000.

TORRINHAS, R.S.M.M. **Efeito da infusão pré-operatória de emulsão lipídica parenteral de óleo de peixe sobre a resposta imunológica pós-operatória e a evolução clínica imediata de pacientes com câncer gastrointestinal**. 153 f. Tese (Doutorado) - Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, São Paulo, 2012.

TORRINHAS, R.S.; RODRIGUES, L.S.; WAITZBERG, D.L. Ácidos graxos ômega 3 em cirurgia. In: CAMPOS, A. C. L. **Nutrição e metabolismo em cirurgia**. Rio de Janeiro: Rubio, 2013. p. 55-64.

TRIMBOS, J.B.; PARMAR, M.; VERGOTE, I. International Collaborative Ovarian Neoplasm Trial 1 and Adjuvant ChemoTherapy In Ovarian Neoplasm Trial: two parallel randomized Phase III Trials of adjuvant chemotherapy in patients with early-stage. **Journal of National Cancer Institute**, Cary, v. 95, n. 2, p. 105-112, 2003.

TRUBIAN, P.S. **Nutrição perioperatória e cicatrização de anastomoses em ratos desnutridos e toxêmicos: tensiometria, densitometria do colágeno e quantificação de angiogênese e miofibroblasto.** 160 f. Tese (Doutorado em Clínica Cirúrgica), Setor de Ciências da Saúde. Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2008.

TSEKOS, E. *et al.* Perioperative administration of parenteral fish oil supplements in a routine clinical setting improves patient outcome after major abdominal surgery. **Clinical Nutrition**, Edinburgh, v. 23, n. 3, p. 32-330, 2004.

URDIALES, A.I.A. **Octreotide na cicatrização de anastomoses colônicas de ratos.** 72 f. Dissertação (Mestrado em Clínica Cirúrgica) - Setor de Ciências da Saúde, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2006.

VAN DER BURG, M.E. *et al.* The effect of debulking surgery after induction chemotherapy on the prognosis in advanced epithelial ovarian cancer. **The New England Journal of Medicine**, Boston v. 332, n. 10, p. 629-634, 1995.

VAN DER HAM, A.C. *et al.* Eicosanoid profile of healing colonic anastomosis and peritoneal macrophages in the rat. **Gut**, London, v. 31, p. 807-811, 1990.

VERDESSE, L.R.M. **Estudo biomecânico do intestino delgado e cólon de ratos na peritonite fecal, associada ao diclofenaco de sódio.** 114 f. Dissertação (Mestrado) - Faculdade Médica de Botucatu, Universidade de São Paulo. Botucatu, 1993.

VIZZOTTO JR, A.O. **Influência da cisplatina administrada no pré e pós-operatório sobre a cicatrização de anastomoses colônicas em ratos testada pela força de resistência a tração.** 114 f. Dissertação (Mestrado em Clínica Cirúrgica) - Setor de Ciências da Saúde, Universidade Federal do Paraná, Curitiba 2001.

VIZZOTTO JR, A.O. *et al.* Effect of the cisplatin applied before and after the surgical procedure on the healing of colonic anastomoses in rats. **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial**, Rio de Janeiro, v. 39, p. 143-149, 2003.

YONEMURA, Y. *et al.* Effects of intraoperative chemohyperthermia in patients with gastric cancer with peritoneal dissemination. **Surgery**, St. Louis, v. 119, n. 4, p. 437-444, 1996.

YOUNG, R.C.; WALTON, L.A.; ELENBERG, S.S. Adjuvant therapy in stage I and stage II epithelial ovarian cancer. **The New England Journal of Medicine**, Boston v. 322, n. 15, p. 1021-1027, 1990.

YOSHIKAWA, H. *et al.* Mice lacking smooth muscle calponin display increased bone formation that is associated with enhancement of bone morphogenetic protein responses. **Genes to Cells**, Oxford, v. 3, n. 10, p. 685-695, 1998.

YU, C.C.; WOODS, A.L.; LEVINSON, D.A. The assessment of cellular proliferation by immunohistochemistry: a review of currently available methods and their applications. **The Histochemical Journal**, London, v. 24, n. 3, p. 121-131, 1992.

YU, C.C.; FILIPEM.I. Update on proliferation-associated antibodies applicable to formalin-fixed paraffin-embedded tissue and their clinical applications. **The Histochemical Journal**, London, v. 25, n. 12, p. 843-853, 1993.

YUCEYAR, S.; ERTURK, S.; TEMIZ, M. Role of the antiangiogenetic drug paclitaxel on healing of intestinal anastomosis: an experimental study. **Techniques in Coloproctology**, Roma, v. 9, n. 3, p. 201-5, 2005.

WAARD, J.W.D. de *et al.* Postoperative levamisole may compromise early healing of experimental intestinal anastomoses. **British Journal of Cancer**, London, v.72, p.456-460, 1995.

WAARD, J.W. *et al.* Inhibition of fibroblast collagen synthesis and proliferation by levamisole and 5-fluorouracil. **European Journal Cancer**, Oxford, v. 34, p. 162-167, 1998.

WAITZBERG, D.L; CAIAFFA, W.T.; CORREIA, M.I.T.D. Hospital malnutrition: the Brazilian national survey (IBRANUTRI): a study of 4000 patients. **Nutrition**, Burbank, v. 17, n. 7-8, p. 573-580, 2001.

WAITZBERG, D.L; TORRINHAS, R.S.; JACINTO, T.M. New parenteral lipid emulsions for clinical use. **Journal of Parenteral and Enteral Nutrition**, Baltimore, v. 30, n. 4, p. 351-367, 2006.

WANTEN, G. An update on parenteral lipids and immune function: only smoke, or is there any fire? **Current Opinion in Clinical Nutrition and Metabolic Care**, London, v. 9, n. 2, p. 79-83, 2006.

WANTEN, G.; CALDER, P.C. Immune modulation by parenteral lipid emulsions. **The American Journal of Clinical Nutrition**, Bethesda, v. 85, p. 1171-1184, 2007.

WARD, M.W.N. *et al.* The effects of subclinical malnutrition and refeeding on the healing of experimental colonic anastomoses. **British Journal of Surgery**, Bristol, v. 69, p. 308-310, 1982.

WERNER, B. **Indicações e contribuição diagnóstica da imuno-histoquímica em patologia cirúrgica**. 102 f, Dissertação (Mestrado em Clínica Cirúrgica) – Setor de Ciências da Saúde, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2002.

WERNER, B. *et al.* Uso prático da imuno-histoquímica em patologia cirúrgica. **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial**, Rio de Janeiro, v. 41, n. 5, p. 353-264, 2005.

WICHMANN, M.W. *et al.* Evaluation of clinical safety and beneficial effects of a fish oil containing lipid emulsion (Lipoplus, MLF541): data from a prospective, randomized, multicenter trial. **Critical Care Medicine**, New York, v. 35, p. 3, p.700-706, 2007.

WINDSOR, A.C. *et al.* Compared with parenteral nutrition, enteral feeding attenuates the acute phase response and improves disease severity in acute pancreatitis. **Gut**, London, v. 42, n. 3, p. 431-435, 1998.

WITTE, M.B; BARBUL, A. General principles of wound healing. **The Surgical Clinics of North America**, Philadelphia, v. 77, n. 3, p. 509-528, 1997.

WITTE, M.B; BARBUL, A. Arginine physiology and its implication for wound healing. **Wound Repair Regeneration**, St. Louis, v. 11, n. 6, p. 419-423, 2003a.

WITTE, M.B; BARBUL, A. Repair of full-thickness bowel injury. **Critical Care Medicine**, New York, v. 31, n. 8 (Suppl), p. 538-46, 2003b.

ZAIKEN, Y. *et al.* Stimulation of wound bursting strength during protein malnutrition. **Journal of Surgical Research**, New York, v. 49, n. 4, p. 313-316, 1990.

ZUIDEWIJN, D.B.W. de *et al.* The effect of antineoplastic agents on the healing of small intestinal anastomoses in the rat. **Cancer**, Philadelphia v. 58, p. 62-66, 1986.

ZUIDEWIJN, D.B.W. de *et al.* Intraperitoneal cytostatics impair healing of experimental intestinal anastomoses. **British Journal of Cancer**, London, v.63, p.937-941, 1991.

APÊNDICE 1 - TABELAS DE RESULTADOS

TABELA – PESO (EM GRAMAS) DOS ANIMAIS DO GRUPO NAS

	D1	D7	D14	D28	DCIR	DEUT
NAS 1	321	349	385	436	409	393
NAS 2	290	311	337	348	324	303
NAS 3	322	344	366	398	370	350
NAS 4	299	323	360	376	358	307
NAS 5	242	259	286	308	286	272
NAS 6	317	353	388	423	402	353
NAS 7	282	310	338	364	345	316
NAS 8	297	308	334	375	352	
NAS 9	297	321	358	397	375	332
NAS 10	281	304	327	354	336	
NAS 11	281	302	331	370	342	
NAS 12	287	314	340	386	357	
NAS 13	289	312	331	349	324	
NAS 14	318	339	378	395	365	
NAS 15	324	353	375	330	318	312
NAS 16	302	326	351	375	351	
NAS 17	310	338	360	375	353	322
NAS 18	295	317	342	368	340	294
NAS 19	296	318	322	335	322	288
NAS 20	323	344	358	389	365	331
MÉDIA	298,65	322,25	348,35	372,55	349,7	308,75

NOTA: NAS – ratos nutridos, azeite-salina. D – dias do experimento: D1 – dia 1, D7 – dia 7, D14 – dia 14, D28 – dia 28, DCIR – dia do procedimento cirúrgico e DSAC: dia da morte dos ratos.

TABELA – PESO (EM GRAMAS) DOS ANIMAIS DO GRUPO DAS

	D1	D7	D14	D28	DCIR	DEUT
DAS 1	294	264	257	258	256	255
DAS 2	260	246	225	211	201	
DAS 3	281	253	232	228	227	240
DAS 4	224	210	211	224	219	189
DAS 5	298	265	255	244	236	207
DAS 6	296	268	268	258	263	238
DAS 7	310	272	257	256	246	244
DAS 8	271	255	236	251	249	224
DAS 9	281	259	250	253	254	246
DAS 10	305	269	263	210	198	
DAS 11	299	259	240	243	232	220
DAS 12	294	262	249	226	215	202
DAS 13	294	275	255	250	240	238
DAS 14	298	276	273	281	268	257
DAS 15	319	292	282	253	247	236
DAS 16	309	277	247	236	227	167
DAS 17	309	280	263	245	241	223
DAS 18	284	255	235	237	226	217
DAS 19	294	268	247	242	240	223
DAS 20	306	278	263	252	245	226
MÉDIA	291,3	264,15	250,4	242,9	236,5	220,9

NOTA: DAS – ratos desnutridos, azeite-salina . D – dias do experimento: D1 – dia 1, D7 – dia 7, D14 – dia 14, D28 – dia 28, DCIR – dia do procedimento cirúrgico e DSAC: dia da morte dos ratos.

TABELA – PESO (EM GRAMAS) DOS ANIMAIS DO GRUPO NOS

	D1	D7	D14	D28	DCIR	DEUT
NOS 1	279	299	333	334	306	289
NOS 2	315	347	388	428	393	318
NOS 3	290	319	345	372	351	326
NOS 4	233	248	260	283	258	
NOS 5	257	285	315	342	315	293
NOS 6	333	355	387	429	402	337
NOS 7	309	338	366	388	362	317
NOS 8	286	308	332	368	343	314
NOS 9	310	325	353	403	379	343
NOS 10	297	310	338	383	357	327
NOS 11	274	285	298	333	313	286
NOS 12	294	315	333	367	339	315
NOS 13	299	287	333	360	330	302
NOS 14	318	347	376	400	370	331
NOS 15	288	311	335	370	346	318
NOS 16	284	310	335	364	338	
NOS 17	305	331	344	377	359	336
NOS 18	280	312	329	364	337	311
NOS 19	300	323	342	372	346	318
NOS 20	289	306	338	355	336	308
MÉDIA	292	313,05	339	369,6	344	316,1

NOTA: NOS – ratos nutridos, ômega-3-salina. D – dias do experimento: D1 – dia 1, D7 – dia 7, D14 – dia 14, D28 – dia 28, DCIR – dia do procedimento cirúrgico e DSAC: dia da morte dos ratos.

TABELA – PESO (EM GRAMAS) DOS ANIMAIS DO GRUPO DOS

	D1	D7	D14	D28	DCIR	DEUT
DOS 1	268	239	238	249	246	210
DOS 2	265	250	256	251	247	229
DOS 3	282	246	248	243	227	
DOS 4	282	250	243	237	223	207
DOS 5	276	237	230	235	233	207
DOS 6	322	288	276	283	283	259
DOS 7	279	262	251	256	242	
DOS 8	349	298	273	275	272	
DOS 9	303	258	256	259	255	242
DOS 10	294	249	258	274	271	248
DOS 11	285	250	232	240	232	224
DOS 12	314	284	263	278	267	171
DOS 13	331	300	278	270	259	250
DOS 14	310	288	282	293	280	264
DOS 15	298	278	254	261	255	245
DOS 16	290	364	255	250	250	243
DOS 17	326	291	279	272	266	246
DOS 18	303	275	262	242	240	237
DOS 19	339	307	296	287	280	272
DOS 20	316	287	271	256	248	
MÉDIA	301,6	275,05	260,05	260,55	253,8	234,6

NOTA: DOS – ratos desnutridos, ômega-3-salina. D – dias do experimento: D1 – dia 1, D7 – dia 7, D14 – dia 14, D28 – dia 28, DCIR – dia do procedimento cirúrgico e DSAC: dia da morte dos ratos.

TABELA – PESO (EM GRAMAS) DOS ANIMAIS DO GRUPO NAP

	D1	D7	D14	D28	DCIR	DEUT
NAP 1	270	296	323	349	319	
NAP 2	277	301	328	367	332	298
NAP 3	281	304	340	371	336	
NAP 4	289	313	345	373	342	322
NAP 5	288	313	344	386	334	296
NAP 6	319	346	374	411	380	
NAP 7	299	321	337	364	341	319
NAP 8	294	315	351	382	345	311
NAP 9	315	343	359	361	345	318
NAP 10	268	298	328	358	333	281
NAP 11	294	317	351	388	360	
NAP 12	320	349	372	404	384	
NAP 13	279	305	329	365	343	
NAP 14	299	322	350	369	352	
NAP 15	297	318	345	358	343	322
NAP 16	323	354	375	401	383	349
NAP 17	237	254	260	280	261	235
NAP 18	308	332	352	401	380	328
NAP 19	275	302	325	365	341	
NAP 20	284	309	315	367	339	
MÉDIA	290,8	315,6	340,2	371	344,7	307,2

NOTA: NAP – ratos nutridos, azeite-paclitaxel. D – dias do experimento: D1 – dia 1, D7 – dia 7, D14 – dia 14, D28 – dia 28, DCIR – dia do procedimento cirúrgico e DSAC: dia da morte dos ratos.

TABELA – PESO (EM GRAMAS) DOS ANIMAIS DO GRUPO NAS

	D1	D7	D14	D28	DCIR	DEUT
DAP 1	311	277	258	242	232	210
DAP 2	307	276	252	248	236	221
DAP 3	288	260	253	250	241	
DAP 4	283	256	247	250	237	227
DAP 5	310	265	253	210	194	
DAP 6	285	274	275	289	282	270
DAP 7	278	236	244	255	244	222
DAP 8	305	276	280	287	273	251
DAP 9	277	262	252			
DAP 10	293	263	263	265	256	241
DAP 11	294	267	259	250	255	226
DAP 12	313	280	268	261	255	223
DAP 13	295	268	248	247	246	215
DAP 14	294	254	251	260	255	
DAP 15	292	268	260	267	256	222
DAP 16	298	269	258	239	234	220
DAP 17	298	270	259	245	239	219
DAP 18	280	263	252	256	252	232
DAP 19	295	269	258	256	248	235
DAP 20	301	265	252	244	245	213
MÉDIA	294,9	265,9	257,1	253,7	246,3	227,9

NOTA: DAP – ratos desnutridos, azeite-paclitaxel. D – dias do experimento: D1 – dia 1, D7 – dia 7, D14 – dia 14, D28 – dia 28, DCIR – dia do procedimento cirúrgico e DSAC: dia da morte dos ratos.

TABELA – PESO (EM GRAMAS) DOS ANIMAIS DO GRUPO NOP

	D1	D7	D14	D28	DCIR	DEUT
NOP 1	264	292	317	327	304	
NOP 2	267	297	309	342	312	286
NOP 3	260	285	320	354	321	295
NOP 4	312	335	364	392	358	340
NOP 5	301	343	380	420	384	
NOP 6	289	317	347	382	353	327
NOP 7	255	276	303	329	307	
NOP 8	276	307	337	381	350	
NOP 9	294	324	355	401	408	328
NOP 10	260	306	334	381	398	319
NOP 11	288	315	335	365	347	318
NOP 12	302	321	342	366	345	
NOP 13	314	336	366	425	395	365
NOP 14	300	322	347	373	351	320
NOP 15	309	342	340	390	369	333
NOP 16	316	332	353	369	343	308
NOP 17	316	334	364	402	381	333
NOP 18	320	353	393	427	400	
NOP 19	285	311	331	360	340	308
NOP 20	319	344	352	399	374	344
MÉDIA	292,4	319,6	344,5	379,3	357	323,1

NOTA: NOP – ratos nutridos, ômega-3-paclitaxel. D – dias do experimento: D1 – dia 1, D7 – dia 7, D14 – dia 14, D28 – dia 28, DCIR – dia do procedimento cirúrgico e DSAC: dia da morte dos ratos.

TABELA – PESO (EM GRAMAS) DOS ANIMAIS DO GRUPO DOP

	D1	D7	D14	D28	DCIR	DEUT
DOP 1	287	253	247	238	229	
DOP 2	279	253	238	222	203	
DOP 3	307	266	256	255	242	241
DOP 4	276	255	256	254	248	200
DOP 5	300	273	264	271	260	247
DOP 6	302	272	253	224	210	
DOP 7	282	246	230	220	213	
DOP 8	297	258	248	212	200	
DOP 9	290	265	249	246	242	227
DOP 10	267	238	227	234	231	209
DOP 11	310	278	263	268	261	
DOP 12	272	263	249	255	249	227
DOP 13	309	269	269	294	289	281
DOP 14	327	289	273	274	267	252
DOP 15	277	251	239	250	242	
DOP 16	300	265	262	247	246	
DOP 17	317	289	279	268	266	205
DOP 18	325	301	292	290	296	267
DOP 19	315	289	274	265	265	
DOP 20	298	278	266	275	274	257
MÉDIA	296,9	267,6	256,7	253,1	246,7	237,5

NOTA: DOP – ratos desnutridos, ômega-3-paclitaxel. D – dias do experimento: D1 – dia 1, D7 – dia 7, D14 – dia 14, D28 – dia 28, DCIR – dia do procedimento cirúrgico e DSAC: dia da morte dos ratos.

TABELA – TENSIOMETRIA DO GRUPO NAS

	FMT (N)	FRC (N)	TM (Kgf)	TM (N)
NAS 1	1,7591	1,742	0,0023	0,02254
NAS 2	3,1822	1,3579	0,0041	0,04018
NAS 3	1,7488	1,7488	0,0023	0,02254
NAS 4	0,8161	0,7989	0,0023	0,02254
NAS 5	1,8003	0,8842	0,0023	0,02254
NAS 6	2,5478	1,54	0,0033	0,03234
NAS 7	0,3634	0,3532	0,0005	0,0049
NAS 9	0,3086	0,1577	0,0004	0,00392
NAS 15	2,997	2,8221	0,0039	0,03822
NAS 17	3,3502	2,1192	0,0043	0,04214
NAS 18	2,5444	2,5135	0,0033	0,03234
NAS 19	2,4415	1,9477	0,0032	0,03136
NAS 20	1,5465	1,5328	0,002	0,0196
MÉDIA	1,9543	1,5013	0,0026	0,02578

NOTA: NAS – ratos nutridos, azeite-salina . FMT – Força Máxima de Tração; FRC – Força para Ruptura Completa; TM – Tensão Máxima; N - Newtons; Kgf – Kilograma-força

TABELA – TENSIOMETRIA DO GRUPO DAS

	FMT (N)	FRC (N)	TM (Kgf)	TM (N)
DAS 1	0,6172	0,6172	0,0008	0,00784
DAS 3	2,2803	0,9567	0,003	0,0294
DAS 4	0,4972	0,4845	0,0006	0,00588
DAS 5	0,5452	0,5349	0,0007	0,00686
DAS 6	0,6001	0,5863	0,0008	0,00784
DAS 7	1,0698	1,0081	0,0014	0,01372
DAS 8	2,1432	2,1295	0,0028	0,02744
DAS 9	1,3922	1,375	0,0018	0,01764
DAS 11	1,0493	1,0321	0,0014	0,01372
DAS 12	1,4265	1,3785	0,0019	0,01862
DAS 13	1,2139	1,1967	0,0016	0,01568
DAS 14	0,288	0,2811	0,0004	0,00392
DAS 15	1,0047	0,9738	0,0013	0,01274
DAS 16	2,2563	1,6322	0,0029	0,02842
DAS 17	2,4689	2,3352	0,0032	0,03136
DAS 18	1,2722	1,2413	0,0032	0,03136
DAS 19	2,9833	0,2777	0,0039	0,03822
DAS 20	0,8298	0,8161	0,0011	0,01078
MÉDIA	1,3298	1,04760	0,0018	0,01785

NOTA: DAS – ratos desnutridos, azeite-salina. FMT – Força Máxima de Tração; FRC – Força para Ruptura Completa; TM – Tensão Máxima; N - Newtons; Kgf – Kilograma-força

TABELA – TENSIOMETRIA DO GRUPO NOS

	FMT (N)	FRC (N)	TM (Kgf)	TM (N)
NOS 1	3,1205	1,6048	0,0041	0,04018
NOS 2	0,8058	0,7921	0,001	0,0098
NOS 3	2,4724	2,4621	0,0032	0,03136
NOS 5	1,0321	1,0814	0,0013	0,01274
NOS 6	0,7955	0,7818	0,001	0,0098
NOS 7	1,0081	1,0081	0,0013	0,01274
NOS 8	2,0712	0,3326	0,0027	0,02646
NOS 9	1,9991	1,9957	0,0026	0,02548
NOS 10	2,4106	2,2906	0,0031	0,03038
NOS 11	1,7694	1,7694	0,0023	0,02254
NOS 12	0,8195	0,8195	0,0011	0,01078
NOS 13	0,5315	0,5178	0,0007	0,00686
NOS 14	2,9867	1,2825	0,0039	0,03822
NOS 15	1,2585	1,2585	0,0039	0,03822
NOS 17	2,0266	1,934	0,0026	0,02548
NOS 18	1,4642	1,4231	0,0019	0,01862
NOS 19	1,5362	1,5225	0,002	0,0196
NOS 20	2,3283	2,2906	0,003	0,0294
MÉDIA	1,6909	1,3981	0,0023	0,0227

NOTA: NOS – ratos nutridos, ômega-3-salina. FMT – Força Máxima de Tração; FRC – Força para Ruptura Completa; TM – Tensão Máxima; N - Newtons; Kgf – Kilograma-força

TABELA – TENSIOMETRIA DO GRUPO DOS

	FMT (N)	FRC (N)	TM (Kgf)	TM (N)
DOS 1	2,2632	2,0883	0,0029	0,02842
DOS 2	2,5032	2,2529	0,0033	0,03234
DOS 4	2,0197	1,6905	0,0026	0,02548
DOS 5	0,5726	0,5726	0,0007	0,00686
DOS 6	0,5863	0,5726	0,0008	0,00784
DOS 9	1,3167	0,4732	0,0017	0,01666
DOS 10	2,198	2,198	0,0029	0,02842
DOS 11	0,7572	0,5658	0,0007	0,00686
DOS 12	1,2036	1,1899	0,0016	0,01568
DOS 13	0,5692	0,5658	0,0007	0,00686
DOS 14	1,255	0,9944	0,0016	0,01568
DOS 15	1,2585	1,2447	0,0016	0,01568
DOS 16	1,2516	1,2379	0,0016	0,01568
DOS 17	0,9841	0,9841	0,0013	0,01274
DOS 18	0,9704	0,9567	0,0013	0,01274
DOS 19	1,6048	1,4231	0,0021	0,02058
MÉDIA	1,3321	1,1881	0,0017	0,01678

NOTA: DOS – ratos desnutridos, ômega-3-salina. FMT – Força Máxima de Tração; FRC – Força para Ruptura Completa; TM – Tensão Máxima; N - Newtons; Kgf – Kilograma-força

TABELA – TENSIOMETRIA DO GRUPO NAP

	FMT (N)	FRC (N)	TM (Kgf)	TM (N)
NAP 2	2,4038	1,9614	0,0031	0,03038
NAP 4	1,7557	1,5396	0,0023	0,02254
NAP 5	1,1659	1,1487	0,0015	0,0147
NAP 7	0,4938	0,4903	0,0006	0,00588
NAP 8	1,934	1,9168	0,0025	0,0245
NAP 9	0,5692	0,5555	0,0007	0,00686
NAP 10	1,279	1,2653	0,0017	0,01666
NAP 15	1,9991	1,9991	0,0026	0,02548
NAP 16	1,67	1,6562	0,0022	0,02156
NAP 17	0,6001	0,5863	0,0008	0,00784
NAP 18	0,9978	0,9841	0,0013	0,01274
MÉDIA	1,3516	1,2821	0,0017	0,0171

NOTA: NAP – ratos nutridos, azeite-paclitaxel. FMT – Força Máxima de Tração; FRC – Força para Ruptura Completa; TM – Tensão Máxima; N - Newtons; Kgf – Kilograma-força

TABELA – TENSIOMETRIA DO GRUPO DAP

	FMT (N)	FRC (N)	TM (Kgf)	TM (N)
DAP 1	0,8984	0,8847	0,0012	0,01176
DAP 2	0,3429	0,3394	0,0004	0,00392
DAP 4	1,1179	1,1041	0,0015	0,0147
DAP 6	1,1727	1,158	0,0015	0,0147
DAP 7	2,5517	0,2914	0,0033	0,03234
DAP 8	0,48	0,4697	0,0006	0,00588
DAP 10	1,0904	1,0596	0,0014	0,01372
DAP 11	0,504	0,4903	0,0007	0,00686
DAP 12	0,5692	0,5555	0,0007	0,00686
DAP 13	1,5705	1,2859	0,002	0,0196
DAP 15	3,0588	0,9361	0,004	0,0392
DAP 16	0,6103	0,6001	0,0008	0,00784
DAP 17	0,8504	0,8504	0,0011	0,01078
DAP 18	2,2152	1,015	0,0029	0,02842
DAP 19	2,3318	0,7955	0,003	0,0294
DAP 20	0,6172	0,6035	0,0008	0,00784
MÉDIA	1,2488	0,7774	0,0016	0,01586

NOTA: DAP – ratos desnutridos, azeite-paclitaxel. FMT – Força Máxima de Tração; FRC – Força para Ruptura Completa; TM – Tensão Máxima; N - Newtons; Kgf – Kilograma-força

TABELA – TENSIOMETRIA DO GRUPO NOP

	FMT (N)	FRC (N)	TM (Kgf)	TM (N)
NOP 2	2,2666	1,7591	0,0029	0,02842
NOP 3	1,5294	1,5156	0,002	0,0196
NOP 4	0,8195	0,8024	0,0011	0,01078
NOP 6	0,7647	0,7544	0,001	0,0098
NOP 9	2,4827	2,0129	0,0032	0,03136
NOP 10	2,0094	0,408	0,0026	0,02548
NOP 11	0,3257	0,3189	0,0004	0,00392
NOP 13	0,5383	0,5315	0,0007	0,00686
NOP 14	1,0939	1,0801	0,0014	0,01372
NOP 15	1,6905	1,4985	0,0022	0,02156
NOP 16	2,3249	2,3249	0,003	0,0294
NOP 17	1,3922	1,3785	0,0018	0,01764
NOP 19	0,8029	0,7955	0,0011	0,01078
NOP 20	1,0493	1,0356	0,0014	0,01372
MÉDIA	1,3635	1,1582	0,0017	0,01736

NOTA: NOP – ratos nutridos, ômega-3-paclitaxel. FMT – Força Máxima de Tração; FRC – Força para Ruptura Completa; TM – Tensão Máxima; N - Newtons; Kgf – Kilograma-força

TABELA – TENSIOLOGIA DO GRUPO DOP

	FMT (N)	FRC (N)	TM (Kgf)	TM (N)
DOP 3	2,2735	0,4663	0,003	0,0294
DOP 4	1,111	1,0973	0,0014	0,01372
DOP 5	2,0609	0,6515	0,0027	0,02646
DOP 9	2,2563	1,4505	0,0031	0,03038
DOP 10	2,3558	1,45	0,0031	0,03038
DOP 12	0,3879	0,3394	0,0005	0,0049
DOP 13	1,7317	1,4402	0,0022	0,02156
DOP 14	0,5006	0,4938	0,0007	0,00686
DOP 17	0,9498	0,9498	0,0012	0,01176
DOP 18	1,0973	1,0904	0,0014	0,01372
DOP 20	1,4711	1,4265	0,0019	0,01862
MÉDIA	1,4723	0,9868	0,0019	0,0188

NOTA: DOP – ratos desnutridos, ômega-3-paclitaxel. FMT – Força Máxima de Tração; FRC - Força para Ruptura Completa; TM – Tensão Máxima; N - Newtons; Kgf – Kilograma-força

TABELA – ÍNDICE DE MATURAÇÃO DO COLÁGENO DO GRUPO NAS

	IMAC L1	IMAC L2	IMAC L3	IMAC L4	IMAC MÉDIO
NAS 1	0,34	0,59	0,46	0,33	0,43
NAS 2	0,60	1,15	0,91	0,78	0,86
NAS 3	0,73	4,85	1,36	2,08	2,25
NAS 4	0,46	0,88	0,61	0,21	0,54
NAS 5	1,02	0,61	1,02	1,50	1,04
NAS 6	4,16	7,16	1,85	3,97	4,28
NAS 7	0,81	0,13	0,40	1,40	0,69
NAS 9	1,65	0,65	0,94	0,70	0,99
NAS 15	1,45	1,71	4,14	1,14	2,11
NAS 17	1,59	0,05	0,16	2,95	1,19
NAS 18	4,10	2,10	5,27	2,24	3,43
NAS 19	0,26	0,99	0,37	0,67	0,57
NAS 20	0,29	0,64	0,26	0,67	0,46
MÉDIA	1,34	1,66	1,37	1,43	1,45

NOTA: NAS – ratos nutridos, azeite-salina; IMAC – índice de maturação do colágeno; L1 – leitura 1, L2 – leitura 2; L 3 – leitura 3; L4 – leitura 4.

TABELA – ÍNDICE DE MATURAÇÃO DO COLÁGENO DO GRUPO DAS

	IMAC L1	IMAC L2	IMAC L3	IMAC L4	IMAC MÉDIO
DAS 1	0,02	0,03	0,09	0,04	0,04
DAS 3	0,08	0,21	0,15	0,07	0,13
DAS 4	0,39	0,23	0,66	0,67	0,49
DAS 5	0,16	0,18	0,16	0,07	0,14
DAS 6	0,87	0,49	1,75	1,67	1,19
DAS 7	0,11	0,14	0,46	0,15	0,22
DAS 8	0,06	0,05	0,03	0,10	0,06
DAS 9	0,46	0,32	0,43	0,58	0,45
DAS 11	0,00	0,02	0,06	0,02	0,03
DAS 12	0,05	0,14	0,13	0,08	0,10
DAS 13	1,66	0,36	0,29	0,90	0,80
DAS 14	0,43	0,54	0,74	0,18	0,48
DAS 15	1,17	0,37	0,82	0,79	0,79
DAS 16	0,10	0,10	0,07	0,03	0,07
DAS 17	0,34	0,10	0,42	0,21	0,27
DAS 18	0,22	0,19	0,22	0,39	0,25
DAS 19	0,12	0,53	0,20	0,30	0,29
DAS 20	0,19	0,77	0,52	0,49	0,49
MÉDIA	0,36	0,26	0,09	0,37	0,35

NOTA: DAS – ratos desnutridos, azeite-salina; IMAC – índice de maturação do colágeno; L1 – leitura 1, L2 – leitura 2; L 3 – leitura 3; L4 – leitura 4.

TABELA – ÍNDICE DE MATURAÇÃO DO COLÁGENO DO GRUPO NOS

	IMAC L1	IMAC L2	IMAC L3	IMAC L4	IMAC MÉDIO
NOS 1	0,45	0,87	0,37	0,21	0,47
NOS 2	1,45	1,29	0,15	1,86	1,19
NOS 3	3,31	1,79	1,14	1,49	1,93
NOS 5	0,50	0,52	1,08	0,70	0,70
NOS 6	2,38	1,08	2,22	2,07	1,94
NOS 7	1,99	3,23	2,98	0,99	2,30
NOS 8	0,83	1,50	0,93	2,73	2,02
NOS 9	1,38	1,46	4,41	0,85	2,02
NOS 10	2,67	1,08	1,70	3,64	2,27
NOS 11	1,68	0,67	1,38	0,74	1,12
NOS 12	2,17	1,78	0,73	1,90	1,64
NOS 13	0,63	0,77	1,14	2,63	7,22
NOS 14	0,40	1,32	1,12	2,61	2,86
NOS 15	3,03	2,12	4,32	1,98	2,86
NOS 17	0,87	0,88	0,50	2,30	1,14
NOS 18	1,69	1,32	1,65	4,58	2,31
NOS 19	2,78	0,58	1,87	0,92	1,54
NOS 20	2,23	1,55	1,95	1,92	1,91
MÉDIA	1,69	1,32	1,65	1,89	2,08

NOTA: NOS – ratos nutridos, ômega-3-salina; IMAC – índice de maturação do colágeno; L1 – leitura 1, L2 – leitura 2; L 3 – leitura 3; L4 – leitura 4.

TABELA – ÍNDICE DE MATURAÇÃO DO COLÁGENO DO GRUPO DOS

	IMAC L1	IMAC L2	IMAC L3	IMAC L4	IMAC MÉDIO
DOS 1	0,92	1,22	2,13	2,20	1,62
DOS 2	3,73	1,93	1,60	2,34	2,40
DOS 4	5,65	1,30	4,96	2,44	3,59
DOS 5	6,40	3,61	4,84	2,13	4,25
DOS 6	3,42	1,53	1,89	0,91	1,94
DOS 9	1,04	1,30	0,77	1,19	1,07
DOS 10	2,06	2,80	1,87	4,24	2,74
DOS 11	2,24	4,96	12,85	5,44	6,37
DOS 12	0,79	4,41	1,10	1,72	2,01
DOS 13	3,45	4,25	1,55	3,66	3,23
DOS 14	1,13	2,85	4,13	8,48	4,15
DOS 15	1,30	1,26	0,90	5,94	2,35
DOS 16	1,13	2,20	3,92	4,88	3,04
DOS 17	2,42	4,24	3,55	1,86	3,02
DOS 18	0,22	1,68	2,10	1,38	1,34
DOS 19	1,54	1,03	2,06	3,44	2,02
MÉDIA	2,34	2,54	3,14	3,27	2,82

NOTA: DOS – ratos desnutridos, ômega-3-salina; IMAC – índice de maturação do colágeno; L1 – leitura 1, L2 – leitura 2; L 3 – leitura 3; L4 – leitura 4.

TABELA – ÍNDICE DE MATURAÇÃO DO COLÁGENO DO GRUPO NAP

	IMAC L1	IMAC L2	IMAC L3	IMAC L4	IMAC MÉDIO
NAP 2	0,88	1,17	1,24	2,01	1,32
NAP 4	0,52	0,47	1,28	0,52	0,70
NAP 5	5,06	10,41	9,80	6,07	7,84
NAP 7	2,22	0,65	3,20	1,85	1,98
NAP 8	2,26	2,32	1,10	1,97	1,91
NAP 9	2,38	1,30	5,12	1,30	2,52
NAP 10	3,32	1,54	2,21	1,70	2,19
NAP 15	1,08	3,16	1,46	0,96	1,67
NAP 16	0,91	2,53	2,26	2,24	1,99
NAP 17	0,74	0,29	1,83	0,71	0,89
NAP 18	0,63	0,13	0,42	0,14	0,33
MÉDIA	1,82	2,18	2,72	1,77	2,12

NOTA: NAP – ratos nutridos, azeite-paclitaxel; IMAC – índice de maturação do colágeno; L1 – leitura 1, L2 – leitura 2; L 3 – leitura 3; L4 – leitura 4.

TABELA – ÍNDICE DE MATURAÇÃO DO COLÁGENO DO GRUPO DAP

	IMAC L1	IMAC L2	IMAC L3	IMAC L4	IMAC MÉDIO
DAP 1	0,25	0,07	0,02	0,09	0,11
DAP 2	1,74	1,44	0,53	1,65	1,34
DAP 4	0,15	0,08	0,18	0,21	0,15
DAP 6	1,18	1,36	0,56	2,02	1,28
DAP 7	2,47	1,08	0,40	3,46	1,85
DAP 8	0,70	0,64	0,94	2,78	1,27
DAP 10	1,86	1,25	1,96	0,51	1,40
DAP 11	0,40	2,04	0,99	0,40	0,96
DAP 12	2,52	1,92	0,60	2,69	1,93
DAP 13	1,90	0,50	3,17	0,91	1,62
DAP 15	1,20	2,44	0,94	3,27	1,96
DAP 16	1,12	0,40	2,01	2,63	1,54
DAP 17	2,63	2,72	4,53	0,30	2,55
DAP 18	0,56	3,04	0,81	0,70	1,28
DAP 19	0,92	1,50	0,83	2,64	1,47
DAP 20	3,25	0,56	0,91	1,20	1,48
MÉDIA	1,40	1,43	1,63	1,59	1,58

NOTA: DAP – ratos desnutridos, azeite-paclitaxel; IMAC – índice de maturação do colágeno; L1 – leitura 1, L2 – leitura 2; L 3 – leitura 3; L4 – leitura 4.

TABELA – ÍNDICE DE MATURAÇÃO DO COLÁGENO DO GRUPO NOP

	IMAC L1	IMAC L2	IMAC L3	IMAC L4	IMAC MÉDIO
NOP 2	0,27	0,38	0,85	0,44	0,48
NOP 3	0,39	0,40	0,40	0,44	0,41
NOP 4	1,12	0,90	0,69	7,87	2,64
NOP 6	0,52	1,66	1,00	1,14	1,08
NOP 9	0,17	0,85	0,25	2,08	0,84
NOP 10	2,43	0,98	1,51	1,82	1,69
NOP 11	1,26	0,65	2,48	4,46	2,21
NOP 13	4,97	2,80	3,20	6,75	4,43
NOP 14	1,02	1,60	1,60	0,90	1,28
NOP 15	1,59	1,85	2,30	1,65	1,85
NOP 16	2,23	1,33	1,52	1,61	1,67
NOP 17	0,69	0,48	1,14	2,08	1,10
NOP 19	0,97	0,76	0,79	1,10	0,90
NOP 20	0,89	0,33	0,42	0,22	0,46
MÉDIA	1,32	1,07	1,30	2,32	1,50

NOTA: NOP – ratos nutridos, ômega-3-paclitaxel; IMAC – índice de maturação do colágeno; L1 – leitura 1, L2 – leitura 2; L 3 – leitura 3; L4 – leitura 4.

TABELA – ÍNDICE DE MATURAÇÃO DO COLÁGENO DO GRUPO DOP

	IMAC L1	IMAC L2	IMAC L3	IMAC L4	IMAC MÉDIO
DOP 3	1,37	2,91	2,38	6,10	3,19
DOP 4	0,28	1,16	0,55	0,56	0,64
DOP 5	1,09	4,81	1,78	2,52	2,55
DOP 9	0,20	1,28	1,67	0,46	0,90
DOP 10	5,48	1,13	0,53	1,35	2,12
DOP 12	3,45	1,58	1,95	4,74	2,93
DOP 13	1,32	0,52	1,56	0,79	1,05
DOP 14	0,38	4,51	1,19	2,04	2,03
DOP 17	1,38	0,51	0,59	1,61	1,02
DOP 18	1,18	0,93	4,21	3,71	2,51
DOP 20	0,44	2,09	1,73	1,70	1,49
MÉDIA	1,51	1,58	1,65	2,33	1,58

NOTA: DOP – ratos desnutridos, ômega-3-paclitaxel; IMAC – índice de maturação do colágeno; L1 – leitura 1, L2 – leitura 2; L 3 – leitura 3; L4 – leitura 4.

TABELA – INTENSIDADE DOS ACHADOS HISTOLÓGICOS PELA TÉCNICA DE HEMATOXILINA-EOSINA DO GRUPO NAS

	INFILTRADO	EDEMA	CONGESTÃO	TEC. GRANUL.	FIBROSE
NAS 1	3	1	1	1	0
NAS 2	3	3	2	0	0
NAS 3	3	2	1	1	0
NAS 4	1	2	2	1	0
NAS 5	3	2	2	1	0
NAS 6	2	1	0	1	0
NAS 7	2	2	1	1	0
NAS 9	1	1	1	2	1
NAS 15	2	2	1	1	0
NAS 17	1	3	1	3	2
NAS 18	2	2	1	2	1
NAS 19	1	2	0	1	0
NAS 20	1	3	2	1	0

NOTA: NAS – ratos nutridos, azeite-salina; Tec. Granul. – tecido de granulação

TABELA – INTENSIDADE DOS ACHADOS HISTOLÓGICOS PELA TÉCNICA DE HEMATOXILINA-EOSINA DO GRUPO DAS

	INFILTRADO	EDEMA	CONGESTÃO	TEC. GRANUL.	FIBROSE
DAS 1	1	3	2	2	1
DAS 3	1	2	2	2	1
DAS 4	1	1	2	2	1
DAS 5	3	2	1	0	0
DAS 6	1	2	1	1	0
DAS 7	1	1	0	2	1
DAS 8	1	1	0	3	2
DAS 9	2	1	1	2	1
DAS 11	2	1	1	3	1
DAS 12	1	2	1	0	0
DAS 13	1	1	1	2	1
DAS 14	2	1	1	2	1
DAS 15	1	2	1	1	0
DAS 16	2	2	2	1	0
DAS 17	1	2	1	2	1
DAS 18	2	1	1	2	1
DAS 19	3	1	1	1	0
DAS 20	3	2	1	2	0

NOTA: DAS – ratos desnutridos, azeite-salina; Tec. Granul. – tecido de granulação

TABELA – INTENSIDADE DOS ACHADOS HISTOLÓGICOS PELA TÉCNICA DE HEMATOXILINA-EOSINA DO GRUPO NOS

	INFILTRADO	EDEMA	CONGESTÃO	TEC. GRANUL.	FIBROSE
NOS 1	2	2	3	1	0
NOS 2	1	2	1	0	0
NOS 3	2	2	1	1	0
NOS 5	3	3	2	1	0
NOS 6	2	1	1	2	1
NOS 7	3	3	2	1	0
NOS 8	3	1	2	2	1
NOS 9	2	2	1	3	2
NOS 10	3	2	1	1	0
NOS 11	2	2	2	1	0
NOS 12	3	1	0	3	2
NOS 13	1	0	2	1	0
NOS 14	2	3	1	1	0
NOS 15	1	1	0	0	0
NOS 17	2	2	1	0	0
NOS 18	2	1	1	0	0
NOS 19	3	2	1	1	1
NOS 20	3	3	2	0	0

NOTA: NOS – ratos nutridos, ômega-3-salina; Tec. Granul. – tecido de granulação

TABELA – INTENSIDADE DOS ACHADOS HISTOLÓGICOS PELA TÉCNICA DE HEMATOXILINA-EOSINA DO GRUPO DOS

	INFILTRADO	EDEMA	CONGESTÃO	TEC. GRANUL.	FIBROSE
DOS 1	1	3	2	1	0
DOS 2	3	1	1	1	0
DOS 4	2	1	2	2	0
DOS 5	2	1	1	2	2
DOS 6	3	2	1	2	0
DOS 9	3	2	1	3	2
DOS 10	2	1	1	2	2
DOS 11	2	3	3	1	0
DOS 12	3	2	2	0	0
DOS 13	3	1	0	2	1
DOS 14	3	3	1	0	0
DOS 15	3	2	2	0	0
DOS 16	3	2	1	3	1
DOS 17	2	3	3	0	0
DOS 18	3	1	3	2	1
DOS 19	2	1	1	0	0

NOTA: DOS – ratos desnutridos, ômega-3-salina; Tec. Granul. – tecido de granulação.

TABELA – INTENSIDADE DOS ACHADOS HISTOLÓGICOS PELA TÉCNICA DE HEMATOXILINA-EOSINA DO GRUPO NAP

	INFILTRADO	EDEMA	CONGESTÃO	TEC. GRANUL.	FIBROSE
NAP 2	2	2	3	2	1
NAP 4	2	2	0	0	0
NAP 5	1	1	1	3	2
NAP 7	2	1	1	1	0
NAP 8	3	1	0	0	0
NAP 9	1	1	2	3	1
NAP 10	2	1	1	1	0
NAP 15	2	1	1	3	1
NAP 16	1	1	0	2	1
NAP 17	2	1	1	1	0
NAP 18	2	2	0	1	0

NOTA: NAP – ratos nutridos, azeite-paclitaxel; Tec. Granul. – tecido de granulação.

TABELA – INTENSIDADE DOS ACHADOS HISTOLÓGICOS PELA TÉCNICA DE HEMATOXILINA-EOSINA DO GRUPO DAP

	INFILTRADO	EDEMA	CONGESTÃO	TEC. GRANUL.	FIBROSE
DAP 1	1	1	9	3	2
DAP 2	2	2	1	2	1
DAP 4	2	1	1	0	0
DAP 6	1	3	2	0	0
DAP 7	1	2	1	2	3
DAP 8	3	2	2	1	0
DAP 10	3	2	1	3	1
DAP 11	2	0	1	3	1
DAP 12	1	2	2	1	0
DAP 13	2	2	1	1	1
DAP 15	3	1	0	1	0
DAP 16	1	1	2	2	0
DAP 17	1	2	1	2	0
DAP 18	3	1	3	3	2
DAP 19	1	1	0	1	0
DAP 20	2	2	1	0	0

NOTA: DAP – ratos desnutridos, azeite-paclitaxel; Tec. Granul. – tecido de granulação

TABELA – INTENSIDADE DOS ACHADOS HISTOLÓGICOS PELA TÉCNICA DE HEMATOXILINA-EOSINA DO GRUPO NOP

	INFILTRADO	EDEMA	CONGESTÃO	TEC. GRANUL.	FIBROSE
NOP 2	1	3	0	1	0
NOP 3	3	2	1	2	1
NOP 4	1	3	1	0	0
NOP 6	2	1	1	2	1
NOP 9	3	2	1	1	0
NOP 10	2	2	0	3	1
NOP 11	3	2	1	1	0
NOP 13	1	1	2	2	0
NOP 14	3	1	0	1	0
NOP 15	1	2	2	3	1
NOP 16	3	1	3	1	0
NOP 17	2	2	2	0	0
NOP 19	2	3	1	1	0
NOP 20	2	2	2	1	0

NOTA: NOP – ratos nutridos, ômega-3-paclitaxel; Tec. Granul. – tecido de granulação

TABELA – INTENSIDADE DOS ACHADOS HISTOLÓGICOS PELA TÉCNICA DE HEMATOXILINA-EOSINA DO GRUPO DOP

	INFILTRADO	EDEMA	CONGESTÃO	TEC. GRANUL.	FIBROSE
DOP 3	1	1	1	1	0
DOP 4	1	3	2	0	0
DOP 5	2	2	1	1	0
DOP 9	3	2	3	0	0
DOP 10	1	2	1	1	0
DOP 12	1	3	3	1	0
DOP 13	1	2	0	2	1
DOP 14	2	2	1	1	0
DOP 17	1	0	0	0	0
DOP 18	2	2	3	2	1
DOP 20	3	2	1	1	0

NOTA: DOP – ratos desnutridos, ômega-3-paclitaxel; Tec. Granul. – tecido de granulação

TABELA – INTENSIDADE DOS ACHADOS DE IMUNOHISTOQUÍMICA DO GRUPO NAS

	CD 31				CALPONINA				KI 67			
	CGA 1	CGA 2	CGA 3	CGA 4	CGA 1	CGA 2	CGA 3	CGA 4	CGA 1	CGA 2	CGA 3	CGA 4
NAS 1	20	6	10	15	15	12	15	5	8	8	9	7
NAS 2	10	5	9	11	19	11	11	27	22	16	24	30
NAS 3	16	9	5	8	7	5	10	15	27	12	26	19
NAS 4	7	8	7	4	19	22	29	15	28	50	25	19
NAS 5	3	6	2	9	31	36	38	22	48	35	25	22
NAS 6	10	11	4	8	3	0	0	0	10	27	6	3
NAS 7	15	12	13	16	8	7	30	11	72	66	63	51
NAS 9	11	8	7	17	31	24	14	27	59	53	54	34
NAS 15	6	19	10	10	13	12	7	7	28	29	54	38
NAS 17	9	4	10	8	7	12	7	8	32	32	38	44
NAS 18	12	5	12	5	3	13	5	11	15	24	24	14
NAS 19	8	6	4	2	5	6	7	18	19	24	17	16
NAS 20	9	8	7	7	13	12	10	15	19	17	19	21

NOTA: NAS – ratos nutridos, azeite-salina. CGA – campo de grande aumento

TABELA – INTENSIDADE DOS ACHADOS DE IMUNOHISTOQUÍMICA DO GRUPO DAS

	CD 31				CALPONINA				KI 67			
	CGA 1	CGA 2	CGA 3	CGA 4	CGA 1	CGA 2	CGA 3	CGA 4	CGA 1	CGA 2	CGA 3	CGA 4
DAS 1	11	9	11	13	17	8	19	26	2	10	13	11
DAS 3	7	6	7	13	17	30	16	23	22	14	29	32
DAS 4	8	13	7	12	21	15	18	29	41	54	64	53
DAS 5	13	28	20	17	4	6	11	18	59	34	41	25
DAS 6	15	6	10	20	13	7	6	11	29	29	17	31
DAS 7	49	25	28	40	11	7	20	8	23	37	44	19
DAS 8	10	20	7	19	13	20	24	28	25	28	26	28
DAS 9	11	11	23	5	10	19	16	9	12	24	40	23
DAS 11	27	23	30	12	8	17	7	10	27	19	7	22
DAS 12	18	14	8	6	38	12	12	12	11	30	13	8
DAS 13	5	5	6	6	24	11	8	9	40	17	20	14
DAS 14	7	7	8	6	18	25	7	25	25	60	32	28
DAS 15	12	11	8	14	6	8	7	7	31	23	22	45
DAS 16	14	8	13	12	19	16	7	15	10	11	18	14
DAS 17	11	14	15	7	10	11	6	6	18	21	19	8
DAS 18	6	6	10	9	4	6	13	11	22	22	13	21
DAS 19	7	8	13	7	9	5	9	9	24	27	19	16
DAS 20	5	4	8	6	12	8	8	7	19	27	26	15

NOTA: DAS – ratos desnutridos, azeite-salina. CGA – campo de grande aumento

TABELA – INTENSIDADE DOS ACHADOS DE IMUNOHISTOQUÍMICA DO GRUPO NOS

	CD 31				CALPONINA				KI 67			
	CGA 1	CGA 2	CGA 3	CGA 4	CGA 1	CGA 2	CGA 3	CGA 4	CGA 1	CGA 2	CGA 3	CGA 4
NOS 1	11	11	13	11	30	29	14	17	20	13	20	13
NOS 2	8	6	10	17	19	33	14	14	17	21	37	14
NOS 3	7	5	9	6	5	7	17	8	38	30	18	33
NOS 5	8	8	4	6	16	22	20	19	19	34	17	18
NOS 6	10	7	3	4	15	14	14	29	28	23	47	32
NOS 7	7	10	8	9	21	11	24	20	23	18	35	65
NOS 8	15	9	7	15	25	24	30	22	9	13	16	18
NOS 9	36	34	19	17	14	6	11	23	17	16	25	16
NOS 10	9	10	8	13	11	37	18	25	19	47	23	13
NOS 11	14	8	21	22	12	10	20	16	35	34	17	16
NOS 12	8	5	7	7	3	6	10	13	27	19	8	21
NOS 13	6	9	9	6	21	20	19	21	40	28	38	27
NOS 14	10	19	5	16	12	7	24	15	48	55	58	25
NOS 15	10	5	11	15	22	17	21	18	24	15	22	14
NOS 17	5	5	6	4	5	6	3	5	11	14	21	30
NOS 18	5	4	5	5	15	6	7	11	14	16	17	38
NOS 19	5	3	11	8	23	10	15	13	14	30	38	25
NOS 20	2	3	13	14	3	4	7	4	24	22	45	25

NOTA: NOS – ratos nutridos, ômega-3-salina. CGA – campo de grande aumento

TABELA – INTENSIDADE DOS ACHADOS DE IMUNOHISTOQUÍMICA DO GRUPO DOS

	CD 31				CALPONINA				KI 67			
	CGA 1	CGA 2	CGA 3	CGA 4	CGA 1	CGA 2	CGA 3	CGA 4	CGA 1	CGA 2	CGA 3	CGA 4
DOS 1	6	5	4	5	17	9	12	12	24	46	18	18
DOS 2	7	6	5	10	9	5	13	9	15	7	14	10
DOS 4	10	9	4	4	12	14	15	18	4	8	7	5
DOS 5	9	22	8	3	11	6	10	9	10	13	7	19
DOS 6	11	15	13	18	10	16	22	19	74	24	45	48
DOS 9	25	11	6	7	24	23	10	22	24	19	23	25
DOS 10	5	35	15	6	6	7	17	7	16	13	21	21
DOS 11	15	8	8	7	12	11	12	12	22	27	23	30
DOS 12	14	17	6	8	10	14	11	13	33	38	51	58
DOS 13	10	12	9	7	13	7	9	13	15	25	18	24
DOS 14	13	11	6	14	8	9	8	8	32	40	41	38
DOS 15	20	7	10	13	5	18	23	16	20	17	12	19
DOS 16	4	6	6	6	21	20	19	21	30	20	22	24
DOS 17	4	8	8	9	7	3	5	7	16	44	39	31
DOS 18	4	6	12	14	12	11	16	10	25	29	31	29
DOS 19	17	11	4	9	4	17	19	9	16	17	33	14

NOTA: DOS – ratos desnutridos, ômega-3-salina. CGA – campo de grande aumento

TABELA – INTENSIDADE DOS ACHADOS DE IMUNOHISTOQUÍMICA DO GRUPO NAP

	CD 31				CALPONINA				KI 67			
	CGA 1	CGA 2	CGA 3	CGA 4	CGA 1	CGA 2	CGA 3	CGA 4	CGA 1	CG A 2	CGA 3	CGA 4
NAP 2	22	9	12	10	62	27	27	31	15	17	12	6
NAP 4	4	4	8	7	28	14	5	20	24	19	22	19
NAP 5	5	8	14	5	25	2	9	9	7	6	11	6
NAP 7	4	14	10	17	42	17	13	17	90	46	39	28
NAP 8	11	10	7	9	38	21	20	17	77	93	99	46
NAP 9	7	4	4	3	39	20	24	30	25	15	19	34
NAP 10	17	23	19	30	7	20	23	16	32	54	67	65
NAP 15	9	5	4	5	15	9	9	8	16	17	16	15
NAP 16	8	11	5	8	6	3	8	7	38	28	66	19
NAP 17	10	8	12	5	28	29	24	12	19	16	28	20
NAP 18	6	9	3	7	9	9	11	12	34	24	39	53

NOTA: NAP – ratos nutridos, azeite-paclitaxel. CGA – campo de grande aumento

TABELA – INTENSIDADE DOS ACHADOS DE IMUNOHISTOQUÍMICA DO GRUPO DAP

	CD 31				CALPONINA				KI 67			
	CGA 1	CGA 2	CGA 3	CGA 4	CGA 1	CGA 2	CGA 3	CGA 4	CGA 1	CGA 2	CGA 3	CGA 4
DAP 1	5	15	13	7	16	18	10	13	12	10	19	10
DAP 2	9	2	6	13	27	20	21	24	36	26	32	34
DAP 4	5	15	15	12	29	18	20	12	8	9	15	12
DAP 6	6	6	9	8	17	13	14	15	20	14	14	48
DAP 7	14	13	5	9	13	13	13	5	29	15	19	35
DAP 8	7	14	31	10	23	36	24	17	35	41	46	37
DAP 10	14	12	16	8	4	4	2	7	21	23	21	49
DAP 11	4	3	8	10	7	10	10	9	29	20	25	27
DAP 12	20	10	6	6	10	8	10	16	17	23	23	32
DAP 13	11	5	7	12	9	7	8	8	39	28	21	25
DAP 15	8	4	7	12	14	10	16	8	37	30	22	44
DAP 16	7	10	4	4	22	31	23	22	48	37	21	27
DAP 17	15	7	6	12	9	3	9	3	21	19	19	17
DAP 18	9	10	7	10	15	8	10	8	26	13	19	18
DAP 19	21	20	8	8	20	11	15	6	36	28	26	27
DAP 20	6	6	5	7	12	13	16	14	34	17	16	20

NOTA: DAP – ratos desnutridos, azeite-paclitaxel. CGA – campo de grande aumento

TABELA – INTENSIDADE DOS ACHADOS DE IMUNOHISTOQUÍMICA DO GRUPO NOP

	CD 31				CALPONINA				KI 67			
	CGA 1	CGA 2	CGA 3	CGA 4	CGA 1	CGA 2	CGA 3	CGA 4	CGA 1	CGA 2	CGA 3	CGA 4
NOP 2	5	3	5	6	9	10	16	31	32	17	29	16
NOP 3	14	8	13	5	20	14	20	6	11	12	27	23
NOP 4	7	5	8	6	8	6	6	7	5	5	6	4
NOP 6	16	10	24	15	37	23	6	17	24	42	33	26
NOP 9	1	5	4	8	22	36	37	21	34	23	16	36
NOP 10	8	9	14	12	19	10	27	18	8	4	7	25
NOP 11	16	12	9	8	23	24	42	12	33	21	32	22
NOP 13	10	4	11	6	20	21	20	20	28	13	26	16
NOP 14	2	7	5	9	9	16	13	9	26	29	30	21
NOP 15	6	10	10	7	14	13	15	14	82	72	65	68
NOP 16	7	7	6	3	12	9	9	12	55	50	60	45
NOP 17	6	9	9	6	6	7	7	6	4	0	0	0
NOP 19	9	6	4	4	6	15	9	5	25	13	19	16
NOP 20	15	15	9	6	5	12	9	9	5	10	6	9

NOTA: NOP – ratos nutridos, ômega-3-paclitaxel. CGA – campo de grande aumento

TABELA – INTENSIDADE DOS ACHADOS DE IMUNOHISTOQUÍMICA DO GRUPO DOP

	CD 31				CALPONINA				KI 67			
	CGA 1	CGA 2	CGA 3	CGA 4	CGA 1	CGA 2	CGA 3	CGA 4	CGA 1	CGA 2	CGA 3	CGA 4
DOP 3	7	5	5	6	12	10	8	8	8	11	16	10
DOP 4	20	9	15	13	19	16	14	5	50	39	33	37
DOP 5	9	9	8	5	20	16	22	14	11	12	20	12
DOP 9	9	3	4	15	22	20	17	22	29	35	46	42
DOP 10	10	8	9	9	4	4	3	4	13	29	30	14
DOP 12	8	6	12	12	14	13	15	14	33	39	31	31
DOP 13	6	5	8	7	7	7	7	7	24	26	39	24
DOP 14	8	5	6	9	5	13	9	7	23	22	21	29
DOP 17	17	19	12	10	25	13	5	11	44	45	38	41
DOP 18	12	7	11	3	11	10	6	17	16	23	37	32
DOP 20	12	5	7	7	8	10	9	6	37	23	41	24

NOTA: DOP – ratos desnutridos, ômega-3-paclitaxel. CGA – campo de grande aumento

APÊNDICE 2 - LEITURA COMPLEMENTAR

Neste capítulo serão apresentadas diversos artigos contendo informações adicionais que foram utilizadas pelo autor para auxiliar na compreensão de cada elemento avaliado durante este trabalho e que também poderão ser úteis ao leitor.

1 CICATRIZAÇÃO

1.1 CICATRIZAÇÃO DAS ANASTOMOSES

Em 1980, Jiborn, Ahonen e Zederfeldt, ao compararem sutura contínua versus sutura com pontos separados na anastomose do cólon esquerdo em ratos, por meio da avaliação da concentração da hidroxiprolina, observaram que há uma queda importante na concentração do colágeno na região peri-anastomótica decorrente de um predomínio da lise do colágeno sobre a sua síntese, possivelmente decorrente de uma ativação da colagenase, enzima responsável pela sua degradação. Este predomínio da degradação perdura até o quarto dia de pós-operatório. Por volta do sétimo dia de pós-operatório o processo de síntese sobrepuja o de degradação. Observaram também que este processo cíclico de síntese e degradação do colágeno ocorre não só na área da anastomose, mas também nos segmentos próximos da anastomose, principalmente a nível proximal.

Também em 1980, estes mesmos autores, Jiborn, Ahonen e Zederfeldt, publicaram outros dois artigos, um avaliando a pressão de ruptura das anastomoses de cólon esquerdo em ratos e outro avaliando a resistência à tração. No primeiro estudo compararam a pressão de ruptura da anastomose colônica com sutura contínua e com pontos separados e não observaram diferença nos resultados da tal pressão entre as técnicas. Observaram ainda que no quarto dia de pós-operatório a ruptura da anastomose ocorria em sua totalidade na linha de anastomose com pressões significativamente menores que no grupo controle (não submetido a anastomose intestinal) e que no sétimo dia os valores da pressão de ruptura foram semelhantes entre os grupos operados (sutura contínua e pontos separados) comparados com o grupo controle (não operado) e a ruptura ocorreu, em quase

todos os ratos, proximalmente à linha de sutura. Os autores sugeriram então que ocorreriam alterações na estrutura e no arranjo do colágeno na parede colônica proximal à anastomose após as ressecções colônicas. No outro estudo em que avaliaram a resistência à tração das anastomoses colônicas em ratos comparando sutura contínua com pontos separados, a resistência à tração foi significativamente menor no quarto dia de pós-operatório em ambos os grupos submetidos a anastomose comparados com o grupo controle (não submetido a anastomose), porém não houve diferença entre os grupos operados (sutura contínua e pontos separados). Embora tivesse ocorrido um grande ganho na resistência a tração entre o quarto e o sétimo dia de pós-operatório (em ambos os grupos), esta era ainda cerca de apenas 35% do valor da resistência à tração do cólon não operado sugerindo, assim como no estudo anterior, que degradação do colágeno sobrepujava a sua síntese na região da anastomose.

Em 1980, estes mesmos autores Jiborn, Ahonen e Zederfeldt, dando sequência à linha de pesquisa, publicaram artigo em que avaliaram a concentração de colágeno e o padrão de reparação das anastomoses colônicas em ratos por meio da utilização de hidroxiprolina radiomarcada. Observaram que há um intenso ciclo de síntese e degradação das fibras colágenas no início do processo de cicatrização da anastomose com um predomínio da degradação até o quarto dia de pós-operatório. Por volta do sétimo dia de pós-operatório o processo de síntese sobrepuja o de degradação. Observaram também que este processo cíclico de síntese e degradação do colágeno ocorre não só na área da anastomose, mas também nos segmentos peri-anastomóticos, principalmente a nível proximal.

1.2 EFEITOS DA QUIMIOTERAPIA SOBRE A CICATRIZAÇÃO DAS ANASTOMOSES COLÔNICAS

A interferência de drogas quimioterápicas no processo de cicatrização das anastomoses intestinais foi extensamente estudada por diversos autores por meio de diferentes metodologias com obtenção de resultados conflitantes. Estudos experimentais realizados em ratos, como os de Zuidewijn *et al.* em 1986 e em 1991, Fumagalli *et al.* em 1989, Graf, Weiber e Glimenius, 1992, Kanellos *et al.* em 1996 e de Waard *et al.* em 1995 e 1998, com utilização de diversas drogas antineoplásicas administradas antes, durante ou após um procedimento cirúrgico, nos quais foram

realizadas anastomoses intestinais, mostraram que tais drogas afetaram o processo de cicatrização destas anastomoses. Já outros autores, como Aszodi e Ponski em 1985, Hillan *et al.* em 1988, de Waard *et al.* em 1995, Hananel e Gordon em 1995 e Kuzu *et al.* em 1998 não observaram a interferência de tais drogas utilizadas no pré ou no pós-operatório de anastomoses intestinais em seus trabalhos experimentais.

Zuidewijn *et al.* em 1986 utilizaram bleomicina, cisplatina e 5-fluorouracil nas doses de 2, 0,35 e 10 mg/Kg respectivamente, por 5 dias em três grupos de ratos. O primeiro grupo foi submetido ao procedimento cirúrgico com anastomose em intestino delgado e cólon antes do início do ciclo de quimioterapia, o segundo grupo foi operado no terceiro dia do ciclo de quimioterapia e o último grupo foi submetido ao procedimento cirúrgico dois dias após o término do ciclo de quimioterapia. Os animais foram mortos no 3º, 7º e 21º dias de pós-operatório tendo sido avaliado a pressão de ruptura da anastomose e a quantidade de hidroxiprolina na anastomose. Os autores observaram que houve diminuição significativa ($p < 0,01$) na pressão de ruptura da anastomose no grupo que foi submetido às anastomoses intestinais durante o ciclo de quimioterapia sendo que os efeitos foram mais pronunciados nos animais mortos no sétimo dia pós-operatório. A dosagem de hidroxiprolina, que reflete a produção de colágeno na anastomose, também apresentou redução significativa ($p < 0,01$) nos três grupos submetidos à quimioterapia em relação ao grupo controle, sendo que os efeitos mais pronunciados também foram observados no sétimo dia pós-operatório.

Fumagalli *et al.* (1989) estudaram o efeito da mitomicina C administrada nas doses de 2 mg/Kg administrada intraperitonealmente e 1,5 mg/Kg administrada endovenosamente, em ratos logo após a realização de anastomose ileal. Avaliaram a mortalidade pós-operatória por deiscência da anastomose, a resistência da anastomose (por meio da pressão de ruptura), quantidade de hidroxiprolina, histologia com hematoxilina-eosina e espessura das fibras de colágeno à microscopia eletrônica. Observou-se que o índice de deiscência de anastomose foi significativamente maior ($p < 0,01$) nos grupos que receberam quimioterapia intraperitoneal e endovenosa em relação ao controle, inclusive com mortalidade significativamente maior ($p < 0,01$). Os autores observaram também diminuição significativa ($p < 0,01$) na pressão de ruptura em ambos os grupos que receberam quimioterapia, sendo marginalmente maior no grupo que recebeu droga

intraperitoneal. O diâmetro das fibras de colágeno foi significativamente menor ($p < 0,05$) nos grupos que receberam a droga por via intra-peritoneal.

Zuidewijn *et al.* em 1991 publicaram outro artigo em que avaliaram a bleomicina, o 5-fluorouracil e a cisplatina administrados intraperitonealmente em ratos nas doses de 2, 10 e 0,35 mg/Kg, respectivamente, em um grupo e o dobro das doses apresentadas no outro grupo, por um período de 5 dias. A seguir os animais foram submetidos ao procedimento cirúrgico com anastomoses ileal e colônica e foram mortos no terceiro e no sétimo dias de pós-operatório. Foram aferidas a resistência da anastomose, por meio da pressão de ruptura da mesma, e a quantidade de hidroxiprolina na anastomose. Observaram que em ambos os grupos houve diminuição significativa da pressão de ruptura das anastomoses tanto ileal ($p = 0,0032$) quanto colônica ($p = 0,0002$) e que esta diminuição foi dose-dependente, isto é, quanto maior a dose do quimioterápico, maior a diminuição. Também houve diminuição significativa da quantidade de hidroxiprolina nas anastomoses ileais ($p = 0,0004$) e colônicas ($p = 0,038$) nos grupos que receberam quimioterapia.

Graf, Weiber e Glimelius, Jiborn, Pahlman e Zederfeldt em 1992 avaliaram a interferência do 5-fluorouracil e do ácido folínico na cicatrização das anastomoses colônicas em ratos. Os animais foram divididos em quatro grupos conforme a droga (5-fluorouracil e ácido folínico) e a via de administração, da seguinte forma: grupo controle (solução salina endovenosa e intraperitoneal), grupo 5-fluorouracil (solução salina endovenosa e 5-fluorouracil intraperitoneal), grupo ácido folínico (ácido folínico endovenoso e solução salina intraperitoneal) e grupo 5-fluorouracil e ácido folínico (5-fluorouracil intraperitoneal e ácido folínico endovenoso). A administração ocorreu imediatamente após o procedimento cirúrgico no qual foi realizada anastomose colônica. As doses utilizadas foram de 20 mg/Kg para o 5-fluorouracil e de 2 e 10 mg/Kg para o ácido folínico. Os animais foram mortos no terceiro e sétimo dias de pós-operatório tendo sido avaliadas as complicações anastomóticas, a resistência da anastomose e as concentrações de hidroxiprolina e mieloperoxidase. O índice de complicações anastomóticas (abscesso e deiscência) foi significativamente maior ($p < 0,01$) no grupo que recebeu 5-fluorouracil associado ou não ao ácido folínico, porém não no que recebeu apenas ácido folínico. A resistência tênsil da anastomose teve diminuição significativa no grupo que recebeu 5-fluorouracil isoladamente ($p < 0,01$) e no grupo que recebeu 5-fluorouracil associado ao ácido folínico na dose

de 10 mg/Kg ($p < 0,05$), quando avaliados no sétimo dia pós-operatório. As concentrações de hidroxiprolina e mieloperoxidase (marcador da atividade leucocitária) também apresentaram queda significativa ($p < 0,05$ e $p < 0,01$ respectivamente) nestes dois grupos quando avaliados no sétimo dia pós-operatório.

Kanellos *et al.* em 1996, estudaram os efeitos da administração de 5-fluorouracil com ou sem ácido folínico na cicatrização de anastomoses colônicas de ratos. A administração das drogas foi feita logo após o procedimento cirúrgico e por dois dias subsequentes. Os animais foram divididos em três grupos: grupo 1, controle, que recebeu salina, grupo 2 que recebeu 5-fluorouracil na dose de 20 mg/Kg/dia e o grupo 3 que recebeu 5-fluorouracil nas mesmas condições do grupo anterior e recebeu também ácido folínico na dose de 2 mg/Kg/dia. Os animais foram mortos no terceiro, quinto e oitavo dias de pós-operatório. O índice de deiscência da anastomose foi maior nos grupos 2 e 3 em relação ao controle ($p < 0,05$). Houve também redução significativa na pressão de ruptura dos grupos 2 e 3 em relação ao controle no quinto e oitavo dia ($p < 0,05$). Observaram também aumento no processo inflamatório agudo e atraso na cicatrização significativamente mais intensos nos grupos que receberam 5-fluorouracil.

Waard *et al.* em 1995, avaliaram a ação do 5-fluorouracil associado ou não ao alfa-interferon na cicatrização de anastomoses intestinais (ileal e colônica). Os autores avaliaram quatro grupos de animais, um controle e três experimentais, todos submetidos a anastomose ileal e colônica e receberam, salina ou as drogas (5-fluorouracil e alfa-interferon), por via intraperitoneal, no dia da cirurgia e por mais 2 dias. O 5-fluorouracil foi utilizado na dose de 20 mg/Kg, associado ou não ao alfa-interferon na dose de 20.000 U/Kg. Os animais foram mortos no terceiro e no sétimo dia de pós-operatório, foram avaliadas a pressão de ruptura da anastomose, a quantidade de hidroxiprolina na anastomose e a capacidade sintética de colágeno na anastomose. Os autores observaram uma redução de 37% na pressão de ruptura da anastomose ($p = 0,0104$) no grupo 5-fluorouracil + alfa-interferon nos animais mortos no terceiro dia de pós-operatório. Nos animais mortos no sétimo dia, a resistência à ruptura anastomótica foi reduzida significativamente na anastomose ileal ($p = 0,0221$) e na colônica ($p = 0,0054$) do grupo 5-FU/alfa-interferon e apenas na anastomose colônica no grupo que recebeu apenas alfa-interferon ($p = 0,0221$). Nenhuma diferença significativa foi observada na dosagem de hidroxiprolina. A capacidade sintética de colágeno foi fortemente suprimida pelo 5-FU, mas não pelo alfa-interferon.

Waard *et al.* em 1998, investigaram a ação do 5-fluorouracil, leucovorin e levamisole administrados intra-peritonealmente por 3 dias, nas doses de 20 mg/Kg, 10 mg/Kg e 5 mg/Kg respectivamente, iniciando imediatamente após a confecção de anastomoses intestinais (ileal e colônica) em ratos. Foram divididos em cinco grupos: salina, 5-fluorouracil apenas, 5-fluorouracil e leucovorin, 5-fluorouracil e levamisole e levamisole apenas. Os animais foram mortos no terceiro e sétimo dia de pós-operatório. Foram avaliadas a resistência da anastomose pelo método da pressão de ruptura e força de ruptura e a dosagem de hidroxiprolina. Encontraram diminuição significativa da pressão de ruptura tanto na anastomose ileal ($p=0,02$) quanto na colônica ($p=0,01$) no grupo que recebeu 5-fluorouracil e levamisole nos animais mortos no terceiro dia de pós-operatório. Houve também diminuição significativa na força de ruptura na anastomose ileal ($p<0,025$) no grupo que recebeu levamisole mortos tanto no terceiro quanto no sétimo dia.

Aszodi e Ponsky em 1985, conduziram experimento em ratos no qual os animais foram divididos em 4 grupos sendo um controle e três experimentais. Os animais foram submetidos à anastomose em intestino delgado. Os grupos de teste receberam, no pós-operatório imediato, 5-fluorouracil nas doses de 5, 10 e 20 mg aplicados diretamente na parede da alça intestinal (administração intra-mural), sendo metade da dose de cada lado da anastomose. Avaliaram a resistência da anastomose por meio da pressão de ruptura, análise histológica e as alterações microangiográficas da anastomose. Não houve diferença estatística entre os grupos de estudo e o grupo controle.

Hillan *et al.* em 1988, realizaram experimento em 78 ratos divididos em 6 grupos, sendo 3 experimentais e 3 de controle. Os 3 grupos experimentais foram submetidos a anastomose colônica e receberam 5-fluorouracil na dose de 20 mg/Kg por período de 5 dias sendo que no primeiro grupo a droga foi administrada nos primeiros 5 dias subsequentes à cirurgia, incluindo este, no segundo grupo a droga foi administrada do terceiro ao sétimo dia e no terceiro grupo, do sétimo ao 11º dia pós-operatório. Todos os animais foram mortos no 14º dia de pós-operatório. Avaliaram peso, contagem de leucócitos, dosagem de hemoglobina, alterações intra-abdominais (aderências), deiscência de anastomose, força de ruptura da anastomose e mortalidade. Não observaram diferença significativa na resistência da anastomose entre os diferentes grupos e em nenhum dos outros dados avaliados, exceto na contagem de leucócitos e dosagem de hemoglobina, que foi

significativamente menor ($p < 0,05$) em todos os grupos que receberam 5-fluorouracil em relação aos controles.

Waard *et al.* em 1995, avaliaram os efeitos do 5-fluorouracil administrado no pós-operatório na cicatrização das anastomoses intestinais em ratos. O 5-fluorouracil foi administrado na dose de 20 mg/Kg endovenoso e intraperitoneal imediatamente após a confecção de anastomose colônica em ratos e pelos dois dias subsequentes. Os animais foram mortos no terceiro e no sétimo dias de pós-operatório, sendo aferidas a força de ruptura da anastomose e a dosagem de hidroxiprolina na anastomose. Não houve diferença significativas entre os grupos nos itens aferidos.

Hananel e Gordon em 1995 desenharam um estudo para avaliar os efeitos de 5-fluorouracil e do leucovorin na cicatrização de anastomoses colônicas de ratos e determinar a segurança da realização de tais anastomoses durante ou logo após um ciclo de quimioterapia. Os autores dividiram os animais em 3 grupos experimentais e o grupo controle. O primeiro grupo experimental recebeu 10 mg/Kg de 5-fluorouracil e 10 mg/Kg de leucovorin uma vez por semana por 4 semanas e então foram submetidos à anastomose colônica. O segundo grupo experimental recebeu as mesmas drogas nas mesmas doses uma vez por semana por 6 semanas. Uma semana após o término do ciclo de quimioterapia, os dois grupos foram submetidos à anastomose colônica. No terceiro grupo experimental utilizaram-se as mesmas drogas, doses e período do segundo grupo, porém a anastomose colônica foi realizada duas semanas após o término do ciclo de quimioterapia. Os animais foram mortos no terceiro dia de pós-operatório em metade dos animais e no sétimo dia na outra metade, sendo avaliado a pressão de ruptura da anastomose. A ruptura ocorreu na anastomose em todos os animais testados no terceiro dia pós-operatório e nas adjacências da anastomose nos animais testados no sétimo dia. Não houve diferença significativa na pressão de ruptura entre os grupos experimentais e o grupo controle.

Kuzu *et al.* em 1998, promoveram experimento em ratos no qual 3 grupos destes animais foram submetidos a anastomoses colônicas para a avaliação da interferência do 5-fluorouracil na cicatrização desta anastomose. O primeiro grupo de animais (controle) foi submetido apenas ao procedimento cirúrgico, o segundo (*sham group*) recebeu injeção intraperitoneal de salina por 5 dias antes do ato cirúrgico e o grupo de estudo que recebeu 5-fluorouracil intraperitonealmente na dose de 20 mg/Kg por 5 dias antes do procedimento cirúrgico. Metade dos animais foram mortos

no terceiro dia de pós-operatório e a outra metade no sétimo dia. O estudo avaliou a presença de complicações de ferida cirúrgica, de obstrução intestinal, de complicações anastomóticas, de aderências intraperitoneais, e aferiu a resistência anastomótica, a quantidade de hidroxiprolina e a atividade da mieloperoxidase na anastomose. Os dados de complicações de ferida cirúrgica (infecção e deiscência), oclusão intestinal e complicações anastomóticas (estenose e deiscência) não apresentaram diferença significativa entre os grupos. A intensidade de aderência intraperitoneal, mensurada pelo índice de Knightly, também não apresentou diferença entre os grupos. A pressão de ruptura foi testada na anastomose e em segmento de cólon normal e a comparação entre grupos não mostrou significância estatística. Os dados de quantificação de hidroxiprolina e a atividade de mieloperoxidase, no entanto, apresentaram diminuição significativa ($p < 0,01$ e $p < 0,001$, respectivamente) no grupo que recebeu quimioterapia.

2 NUTRIÇÃO E CICATRIZAÇÃO

Quanto à via de nutrição, vários estudos têm sido conduzidos para avaliar a melhor via para o suporte nutricional. Em sua maioria a via preferencial é a via enteral. Neste sentido, Kiyama *et al.* em 1998, propuseram que a via enteral é superior à via parenteral para suporte nutricional pós-operatório. Os autores propuseram isto a partir dos dados do seu estudo experimental, no qual ratos receberam nutrientes por via parenteral ou via enteral no pós-operatório de incisão cutânea dorsal e foram avaliados em relação a força tênsil, quantidade de hidroxiprolina e expressão gênica para colágeno do tipo I e do tipo III. Encontraram força tênsil, quantidade de hidroxiprolina e expressão gênica do colágeno tipos I e III foram significativamente maiores no grupo que recebeu suplementação alimentar por via enteral.

Costa em 2003, avaliaram a suplementação com glutamina pré e pós-operatória na cicatrização da anastomose colônica de ratos. Observaram um aumento significativo da força de ruptura da anastomose e no percentual de colágeno maduro na anastomose dos animais que receberam suplementação com glutamina, tanto nos ratos mortos no terceiro quanto no oitavo dia de pós-operatório.

2.1 EFEITOS DA DESNUTRIÇÃO SOBRE A CICATRIZAÇÃO

Sisson *et al.* (1958) compararam a cicatrização de feridas em diversos estados de deficiência nutricional e observaram que o grau de desnutrição tem estreita correlação com a redução da força tênsil da ferida.

Goligher, Graham e Dombal (1970), num estudo retrospectivo, mostraram uma maior incidência de deiscência das anastomoses intestinais nos pacientes submetidos à cirurgia colônica com doenças neoplásicas e seus distúrbios nutricionais associados em relação às cirurgias colônicas por doenças não neoplásicas. A anemia, com hematócrito abaixo de 35, foi um dos fatores de risco significativos ($p < 0,025$) para o desenvolvimento de fístula nas anastomoses colônicas num estudo apresentado por Schrock, Deveney e Dunphy (1973). A hipoproteinemia, determinada pela dosagem de albumina sérica menor que 3, é um dos fatores associados à maior incidência de deiscência de anastomoses intestinais (IRVIN; GOLIGHER, 1973).

Daly, Vars e Dudrick (1972) publicaram estudo em que realizaram anastomose em segmento colônico de ratos. Estes foram divididos em oito grupos, de acordo com o tempo de nutrição pré-operatória (1, 2, 4, 6 semanas) e o tipo de dieta fornecida (normal ou hipoprotéica). Após a cirurgia, os animais continuaram a receber o mesmo tipo de dieta até o sétimo dia de pós-operatório, quando foram mortos. A perda ponderal variou de 2% a 26% de acordo com o tempo recebendo a dieta. No grupo controle houve ganho ponderal médio de 12%. Nos animais que receberam dieta hipoproteica houve redução significativa da pressão de ruptura quando comparados com seus respectivos controles.

Hill *et al.* (1977) publicaram estudo mostrando uma maior incidência de complicações em cirurgias do trato digestivo em pacientes com distúrbios nutricionais associados. Índices significativamente mais baixos de hemoglobina e transferrina estiveram associados com maior índice destas complicações.

2.1.1 Efeitos da desnutrição sobre a cicatrização das anastomoses colônicas

Irvin e Hunt (1974) mostraram que ratos privados de proteínas na alimentação por 7 semanas, ainda que isocalórica, tiveram perda ponderal de 34% e

tiveram redução significativa na pressão de ruptura da anastomose colônica bem como redução significativa na quantidade de colágeno na anastomose, quando comparados com o grupo controle, que recebeu alimentação balanceada.

Ward *et al.* (1982) avaliaram ratos submetidos a nutrição com privação proteica, o primeiro grupo recebeu dieta normal em todo o período pré e pós-operatório (controle), um grupo recebeu dieta sem proteína antes da cirurgia e dieta normal após cirurgia e outro grupo dieta sem proteína no pré e pós-operatório. Foram avaliadas a albumina sérica, o balanço nitrogenado, o peso corporal e a pressão de ruptura da anastomose colônica. Observaram que a pressão de ruptura foi significativamente menor no grupo privado de proteína na alimentação no pré e pós-operatório, com normalização desta pressão nos animais privados no pré-operatório e realimentados com dieta balanceada no pós-operatório, quando comparados com o grupo controle ($p < 0,01$ e $p < 0,005$, respectivamente).

Law e Ellis (1989 e 1990) publicaram artigo no qual avaliaram o efeito da restrição proteica na cicatrização de parede abdominal e anastomose colônica de ratos. Os autores observaram uma redução significativa na pressão de ruptura das anastomoses colônicas nos animais que receberam dieta com restrição proteica.

Graf *et al.* (1994) estudaram os efeitos da desnutrição e da utilização de 5-fluorouracil intraperitoneal na anastomose colônica de ratos. Os animais foram submetidos à secção colônica e anastomose, após isto foram randomizados em três grupos: controle, que recebeu salina intra-peritoneal e dieta normal; grupo com restrição nutricional, que recebeu salina e dieta restrita (três subgrupos: 25%, 50% e 75% da quantidade de dieta do grupo controle) e o grupo que recebeu 5-fluorouracil intraperitoneal e dieta *ad libitum*. Os animais foram mortos no sétimo dia de pós-operatório e foram avaliados quanto à força de ruptura da parede abdominal e da anastomose. Observaram uma redução significativa da força de ruptura tanto da parede abdominal ($p < 0,05$) quanto da anastomose ($p < 0,001$) entre o grupo que recebeu o quimioterápico em relação ao grupo controle. No entanto, não observaram diferença nas forças de ruptura (anastomose e parede abdominal) entre os grupos com restrição nutricional e o grupo controle.

2.2 EFEITOS DA RENUTRIÇÃO SOBRE A CICATRIZAÇÃO DAS ANASTOMOSES COLÔNICAS

Irvin *et al.* (1978) avaliaram os efeitos da repleção de proteína na cicatrização de feridas abdominais e anastomoses colônicas em ratos desnutridos. Dois grupos de ratos receberam uma dieta livre de proteínas por 8 semanas. Durante a sétima semana de privação protéica, um grupo foi suplementado com uma solução de aminoácidos a 3%. Após a sétima semana os animais foram submetidos à anastomose de cólon. Os autores avaliaram a tensão de ruptura da ferida abdominal e da anastomose colônica. Os animais que receberam suplementação da solução de aminoácidos na semana anterior e posterior ao procedimento cirúrgico tiveram a tensão de ruptura da ferida abdominal significativamente maior que os animais que receberam a dieta livre de proteína durante todo o período. Os autores mostraram que a renutrição adequada reverte os efeitos da desnutrição.

Em seu estudo, Law e Ellis (1990), como já referido anteriormente, avaliaram o efeito da restrição protéica na cicatrização de parede abdominal e anastomose colônica de ratos. Os autores observaram em um terceiro grupo, que recebeu dieta com restrição protéica no pré-operatório e nutrição parenteral após o procedimento cirúrgico, tiveram reversão na pressão de ruptura das anastomoses colônicas retornando a níveis semelhantes aos dos animais adequadamente nutridos no pré-operatório.

3 ÁCIDOS GRAXOS ÔMEGA-3

3.1 EFEITOS DOS ÁCIDOS GRAXOS ÔMEGA-3: SISTÊMICOS, SOBRE A PROLIFERAÇÃO CELULAR E O PROCESSO INFLAMATÓRIO

Estudos clínicos realizados em diferentes grupos de pacientes têm mostrado benefício do uso da suplementação de ácidos graxos ômega 3 na dieta como agente modulador da resposta inflamatória. Gadek *et al.* (1999) avaliaram pacientes com Síndrome do Distresse Respiratório Agudo sob ventilação mecânica em Unidade de Terapia Intensiva recebendo suplementação com associação de ácido eicosapentaóico (EPA) e ácido gama-linolênico (GLA) por sete dias na dieta enteral. Estes autores avaliaram a quantidade de neutrófilos no lavado bronquialveolar, bem como os parâmetros respiratórios da ventilação mecânica e o desenvolvimento de falência de outros órgãos. Observaram uma redução significativa na quantidade de neutrófilos e células inflamatórias no lavado bronquialveolar dos pacientes que

receberam a suplementação da dieta com EPA + GLA. Encontraram também uma melhoria na oxigenação com redução no índice PaO₂/FiO₂ e uma redução significativa (p=0,15) na falência de outros órgãos de 28% (13/47) para 8%(4/51).

McDaniel *et al.* (2008) avaliaram o efeito da suplementação de ácidos graxos ω 3 na dieta de voluntários saudáveis na cicatrização de feridas cirurgicas. Os autores submeteram os voluntários a uma suplementação diária de 1,6g de EPA e 1,1g de DHA por quatro semanas, tendo como controle a administração de óleo mineral (placebo). Os voluntários receberam o implante de “blisters” de sucção, por meio de incisão circular, no subcutâneo da face medial do antebraço não dominante. Citocinas pró-inflamatórias como a interleucina-1 β (IL-1 β), IL-6 e fator de necrose tumoral- α (TNF- α) foram quantificados no fluido dos “blisters” de sucção, 5 e 24 horas após a inserção. A área da ferida foi calculado diariamente. Os níveis séricos de EPA e DHA foram significativamente maiores no grupo de estudo. Além disso, observou-se níveis significativamente mais elevados de IL-1 β no fluido coletado dos “blisters” de sucção. O tempo para completar o fechamento da ferida foi um pouco mais longo neste grupo. Estes resultados sugerem que EPA e DHA podem diminuir a produção de citocina pró-inflamatória nos locais da ferida e, assim, dependendo do contexto clínico, têm potencial, terapêutico de atuar na cicatrização de feridas cutâneas.

Thies *et al.* (2001) nutriram voluntários saudáveis entre 55 e 75 anos com cápsulas com ácidos graxos em diferentes formulações por 12 semanas. Os voluntários receberam a associação de ácidos graxos n-6: ácido alfa-linolênico (ANLA), ácido gama-linolênico (GLA) e ácido araquidônico (AA) ou a associação de ácidos graxos n-3: ácido eicosapentanóico (EPA) e ácido docosahexanóico (DHA). Os autores avaliaram a quantidade das células inflamatórias em sangue periférico, bem como a concentração plasmática de proteínas inflamatórias. Não observaram alterações significativas na quantidade das células inflamatórias, porém observaram uma redução significativa nas proteínas inflamatórias plasmáticas.

Estudos experimentais também têm sido conduzidos para avaliar a ação anti-inflamatória do ômega-3, bem como sua ação sobre a proliferação celular. Terano Salmon e Moncada (1984) avaliaram a influência da suplementação de EPA na produção dos leucotrienos em ratos. Os autores suplementaram a alimentação dos animais com EPA na concentração de 240 mg/Kg/dia por quatro semanas e observaram um aumento significativo da produção de leucotrieno B₅ (LTB₅) e

redução significativa do leucotrieno B₄ (LTB₄). O LTB₅ tem uma ação trinta vezes menos potente que o LTB₄ na ativação leucocitária, isto é, na quimiotaxia, agregação e degranulação dos polimorfonucleares.

4 MÉTODOS DE AVALIAÇÃO DA CICATRIZAÇÃO DAS ANASTOMOSES INTESTINAIS

4.1 PARÂMETROS EVOLUTIVOS DE AVALIAÇÃO DA CICATRIZAÇÃO DAS ANASTOMOSES INTESTINAIS

4.1.1 Peso

O ganho ou perda ponderal tem íntima relação com o estado nutricional e este interfere diretamente e de várias formas na cicatrização das anastomoses intestinais.

4.1.2 Evolução pós-operatória

A incidência de óbito representa indicador indireto de complicações anastomóticas como demonstrou Fumagalli *et al.* (1989) em seu estudo no qual a mortalidade pós-operatória dos animais que receberam mitomicina intraperitoneal foi de 14,9% ($p < 0,01$), sendo todas as mortes devidas à deiscência da anastomose intestinal.

Este aumento na mortalidade devido a complicações anastomóticas não foi observado nos estudos de Hillan *et al.* (1988), no qual houve apenas um óbito por deiscência de anastomose (estatisticamente não significativo), e de Hananel e Gordon (1995), em que não houve óbitos.

4.1.3 Aderências intra-abdominais

A formação de aderências intra-abdominais reflete a capacidade de resposta inflamatória reparadora a uma agressão à cavidade peritoneal e de certa forma

reflete a atividade do processo de cicatrização. O aspecto principal do índice de aderências, no entanto, está no fato de quando há deiscência da anastomose e vazamento do conteúdo intestinal há uma tendência de bloqueio do organismo através da formação de aderências. Assim, quanto maior a incidência de deiscência maior será o índice de aderência esperado.

Um método de sistematização para a avaliação de aderências intra-abdominais foi proposto por Knighthly, Agostino e Cliffton em 1962. Os autores investigaram o efeito da fibrinolisinina e da heparina na formação de aderências peritonais, tendo atribuído índices para caracterizar cada nível de intensidade de aderências e possibilitando assim sua aferição e a comparação entre os diversos grupos. Outro sistema de quantificação destas aderências é o descrito e utilizado nos estudos experimentais de anastomoses colônicas elaborado por Van der Hamm *et al.* (1990). Neste experimento os autores avaliaram o efeito de antibióticos na ação selante da fibrina na cicatrização de anastomoses colônicas em ratos.

Kuzu *et al.* (1998), por meio da utilização do índice proposto por Knighthly, Agostino e Cliffton (1962), avaliaram a interferência do 5-fluorouracil administrado intraperitonalmente no pós-operatório de anastomose colônicas na formação de aderências intra-abdominais. Os autores não encontraram diferença significativa na média dos índices de aderências entre o grupo experimental, o grupo salina e o grupo controle.

4.1.4 Complicações anastomóticas (deiscência e estenose)

A deiscência com vazamento de líquido intestinal para a cavidade peritoneal é a complicação mais temida em uma anastomose intestinal.

A ocorrência desta deiscência está intimamente relacionada com o processo de cicatrização, pois há uma relação de proporcionalidade direta entre a ação de fatores que ocasionam prejuízo do processo cicatricial com a maior incidência de deiscência das anastomoses, como afirma (GRAF; WEIBER; GLIMENIUS, 1992).

Quando, com a deiscência da anastomose, houver comunicação entre duas superfícies epiteliais com vazamento do líquido para outra superfície ou para outra cavidade, forma-se o que se chama fístula.

A deiscência da anastomose tem sido usada por vários autores como um critério de avaliação da interferência de drogas quimioterápicas na cicatrização de

anastomoses intestinais. Kuzu *et al.* (1998) em seu trabalho utilizando 5-fluorouracil no pré-operatório de anastomoses intestinais avaliaram, entre outros critérios, a presença de complicações anastomóticas. Encontraram apenas um caso de deiscência da anastomose colônica que ocorreu no grupo que recebeu quimioterapia, este acontecimento isolado não foi significativo.

Outros autores, no entanto, avaliando a influência de drogas quimioterápicas no pós-operatório de anastomoses intestinais e utilizando a deiscência de anastomose como critério de avaliação da cicatrização de tais anastomoses encontraram resultados diferentes. Como é o caso de Fumagalli *et al.* (1989) que, usando a mitomicina administrada intraperitoneal ou endovenosamente no pós-operatório de anastomoses intestinais, encontraram aumento significativo ($p < 0,01$) na incidência de deiscência das anastomoses intestinais. O mesmo ocorreu com Graf, Weiber e Glimenius (1992) que, ao estudarem o efeito do 5-fluorouracil associado ou não ao ácido folínico administrados no pós-operatório de anastomoses colônicas, encontraram incidência significativamente maior de deiscência das anastomoses nos grupos que receberam 5-fluorouracil. Kanellos *et al.* (1996), utilizando 5-fluorouracil no pós-operatório de anastomoses colônicas, também encontraram aumento significativo ($p < 0,05$) na deiscência destas anastomoses.

A estenose é outra complicação anastomótica que reflete alterações nas etapas da cicatrização, porém sua relação com o processo de causa-efeito que as drogas antineoplásicas exercem na cicatrização é menos direto do que na deiscência. Mesmo assim alguns autores como Kuzu *et al.* (1998), no artigo já explanado, avaliaram a incidência de estenose. Não encontraram diferença significativa na incidência de estenose entre os grupos.

4.2 PARÂMETROS MECÂNICOS DE AVALIAÇÃO DA CICATRIZAÇÃO DAS ANASTOMOSES INTESTINAIS

Staley, Trippel e Treston 1961, utilizando a técnica descrita por Farhat em 1958, avaliou a influência do 5-fluorouracil na cicatrização de feridas cirúrgicas. O estudo avaliou ratos divididos aleatoriamente em 4 grupos: grupo I, o controle; grupo II, que recebeu ração em quantidade limitada após cirurgia; grupo III, que recebeu apenas injeções intramusculares de 5-fluorouracil e grupo IV, que recebeu ração em quantidade limitada e droga. O procedimento cirúrgico constou de laparotomia

mediana de 5 cm de extensão, com sutura imediata. Os ratos receberam a droga na dose de 75 mg/Kg, imediatamente após o procedimento cirúrgico e no dia seguinte. Foram mortos no sétimo dia pós-operatório. Um segmento da parede abdominal contendo a linha de sutura íntegra foi ressecado. A aferição da força necessária para produzir ruptura da linha de sutura foi feita pelo aparelho descrito por Farhat em 1958. Este aparelho consta de dois cliques de pressão onde foram presas as bordas do segmento da parede abdominal ressecado contendo a linha de sutura na sua porção mediana. O clipe da extremidade superior permanecia fixo enquanto o clipe da extremidade superior era preso a um recipiente distensível ao qual era administrado líquido a uma velocidade constante de 250 ml/min até que houvesse ruptura do segmento de parede abdominal. A quantidade de líquido necessária para produzir a ruptura determinava o valor da força de ruptura. Os autores encontraram uma diminuição significativa ($p < 0,005$) na força de ruptura no grupo que recebeu a droga (grupo III) em relação ao controle (grupo I). Desta forma, concluíram que o 5-fluorouracil interfere no processo de cicatrização das feridas cirúrgicas.

Em 1987 um grupo de pesquisadores brasileiros liderados por Naresse idealizou um aparelho de tração para avaliar a força de ruptura das anastomoses intestinais. Os autores idealizaram este aparelho baseado no extensômetro de resistência elétrica (Strain Gauge). Para testar o aparelho os autores utilizaram 32 cães submetidos à anastomose de intestino delgado e aleatoriamente divididos em quatro grupos. Os animais foram mortos no terceiro, sétimo, 14° e 21° dia de pós-operatório. Foram ressecados dois segmentos de alça de delgado, o primeiro contendo a anastomose (segmento pós-operatório) e outro sem anastomose (pré-operatório). Ambos segmentos foram independentemente submetidos a tração no aparelho referido. O aparelho foi ajustado e aferido com diferentes escalas de peso com o objetivo de testar sua precisão. As leituras de força de ruptura não apresentaram diferenças frente à adição e retirada dos pesos padrões nas aferições de 100 a 600 gramas. Ao realizarem a regressão linear dos resultados obtidos encontraram um erro de leitura inferior a 2%. A força de tração não variou significativamente no segmento sem anastomose. O mesmo não ocorreu no segmento com anastomose, em que a força de ruptura apresentou intensidade progressiva e foi significativamente diferente nos grupos avaliados no terceiro, sétimo e 14° dia de pós-operatório ($p < 0,01$, $P < 0,01$ e $p < 0,05$, respectivamente) quando comparada com a força de ruptura do segmento intestinal sem anastomose.

A força de ruptura no grupo de animais mortos no 21º dia não apresentou diferença entre os grupos testados sem anastomose.

Outro trabalho realizado pelo mesmo grupo de autores em 1988 avaliou, através do método de aferição da força de ruptura acima descrito, anastomoses em intestino delgado de cães realizadas por três técnicas diferentes: sutura em plano único extramucoso com pontos separados ou contínua e sutura contínua em dois planos. As anastomoses foram realizadas com as três técnicas diferentes em pontos distintos do intestino delgado de cada animal. Os 32 cães foram divididos em quatro grupos e mortos no terceiro, sétimo, 14º e 21º dias de pós-operatório. Foram também aferidas a quantidade de hidroxiprolina e a avaliação histológica. Não houve diferença significativa na força de ruptura das anastomoses comparando-se as três técnicas.

Métodos semelhantes têm sido usados por alguns autores em estudos experimentais para avaliação de drogas antineoplásicas na cicatrização de anastomoses colônicas. Graf, Weiber e Glimenius (1992), por meio da utilização de um tensiômetro produzindo uma força de tração contínua de 0,03-0,05 Ns⁻¹, avaliou a interferência do 5-fluorouracil associado ou não ao ácido folínico na cicatrização de anastomoses colônicas. Neste estudo os grupos experimentais receberam injeção intraperitoneal de 5-fluorouracil, ácido folínico ou ambos imediatamente após o procedimento cirúrgico no qual foi realizada uma anastomose colônica. As doses utilizadas foram de 20 mg/Kg para o 5-fluorouracil e de 2 e 10 mg/Kg para o ácido folínico. Os animais foram mortos no terceiro e sétimo dia de pós-operatório. Foram avaliados, entre outros dados, a resistência da anastomose por meio da força de ruptura. Houve diminuição significativa desta variável no grupo que recebeu 5-fluorouracil isoladamente ($p < 0,01$) e no grupo que recebeu 5-fluorouracil associado com ácido folínico na dose de 10 mg/Kg ($p < 0,05$) quando avaliados no sétimo dia pós-operatório.

Outros investigadores, no entanto, utilizando métodos semelhantes não encontraram interferência das drogas quimioterápicas na cicatrização das anastomoses intestinais. Este é o caso de Hillan *et al.* que, em 1988, utilizando o método de força de ruptura anastomótica descrito por Staley, Trippel e Treston em 1961, avaliaram a interferência do 5-fluorouracil na cicatrização das anastomoses colônicas. Dividiram 78 animais em 6 grupos, sendo 3 experimentais e 3 de controle. Os 3 grupos experimentais foram submetidos a anastomose colônica e receberam 5-

fluorouracil na dose de 20 mg/Kg por um período de 5 dias sendo que no primeiro grupo a droga foi administrada nos primeiros 5 dias subsequentes à cirurgia, incluindo este. No segundo grupo a droga foi administrada do terceiro ao sétimo dia e no terceiro grupo, do sétimo ao 11º dia pós-operatório. Todos os animais foram mortos no 14º dia de pós-operatório. Avaliaram, entre outros dados, a força de ruptura da anastomose. Não observaram diferença significativa nesta variável nos diferentes grupos.

Estudo conduzido por Ikeuchi *et al.* (1999) comparou a correlação entre a força tênsil (força de ruptura) e a pressão de ruptura. Os autores submeteram 56 ratos à ressecção de segmento de cólon com anastomose término-terminal. Os ratos foram então randomizados em 6 grupos que foram mortos em seis períodos diferentes: imediatamente após o procedimento cirúrgico e no terceiro, quarto, quinto, sétimo e 14º dias de pós-operatórios. O segmento de intestino contendo a anastomose foi simultaneamente testado com relação à pressão de ruptura, por meio da utilização de uma bomba de infusão (SP-60, Nipro, Tokyo), e com relação à força de ruptura, por meio de um tensiômetro (TB 611-T, Nihon Koden, Tokyo). O espécime teve uma de suas extremidades fechada por uma rolha de plástico e conectada ao tensiômetro e a outra extremidade foi conectada à bomba de infusão. Foi exercida uma tração leve para esticar o segmento intestinal, a seguir iniciou-se a insuflação com ar, foi considerada a pressão de ruptura (PR) quando houve vazamento de ar com formação de bolhas dentro da solução em que encontrava o segmento de intestino. Após isto, o ponto de vazamento era selado com adesivo de cianacrilato e iniciava-se a tração do espécime pelo tensiômetro. Era então aferida a resistência tênsil mínima (RTMI), que foi considerada a primeira queda transitória na curva de força de tração significando o início da ruptura da anastomose, e a resistência tênsil máxima (RTMA), que foi considerada a força de tração máxima atingida na tração significando a ruptura da anastomose. Os autores dividiram a avaliação em dois grupos diferentes: o primeiro, dos animais mortos nos primeiros 4 dias de pós-operatório, considerado como fase inicial da cicatrização e o segundo dos animais mortos do quinto dia em diante, considerado como fase fibroplásica da cicatrização. No primeiro grupo houve correlação pobre entre as variáveis de pressão de ruptura e de força de ruptura ($p = 0,23$), porém o segundo grupo apresentou alto índice de correlação entre as variáveis ($p < 0,004$). A partir deste

estudo os autores propuseram que a RTMI seria a melhor variável para avaliar a cicatrização das anastomoses colônicas, sendo importante determinante da resistência destas anastomoses.

ANEXO 1 – ESTADIAMENTO DO CÂNCER DE OVÁRIO

ESTADIAMENTO DO CÂNCER DE OVÁRIO	
ESTÁDIO	INFORMAÇÕES
ESTÁDIO CLÍNICO I	Tumor limitado aos ovários
Ia	Tumor limitado a um ovário, cápsula intacta, sem tumor na superfície externa
Ib	Tumor limitado aos dois ovários, cápsula intacta, sem tumor na superfície externa.
Ic	Tumor de ovário nos Estádio Ia, ou Ib mas com tumor na superfície ou cápsula rota de um ou ambos os ovários; ou com ascite ou lavado peritoneal com células neoplásicas presentes.
ESTÁDIO CLÍNICO II	Tumor com extensão à pélvis
IIa	Extensão e/ou metástases para o útero e/ou trompa
IIb	Extensão para outros tecidos pélvicos
IIc	Tumor no Estádio IIa ou IIb, mas com tumor na superfície de um ou ambos os ovários
ESTÁDIO CLÍNICO III	Tumor com implantes além da pélvis e/ou linfonodos inguinais, pélvicos e/ou retroperitoneais positivos (ocorrência de metástases na superfície hepática corresponde ao Estádio III).
IIIa	Tumor macroscopicamente limitado à pélvis verdadeira com linfonodos negativos mas com disseminação peritoneal comprovada histologicamente
IIIb	Tumor em um ou ambos ovários com confirmação histológica de implante peritoneal e este não excedendo 2cm de diâmetro. Linfonodos negativos.
IIIc	Implantes peritoneais maiores que 2cm de diâmetro e/ou linfonodos inguinais ou pélvicos/retroperitoneais positivos
ESTÁDIO CLÍNICO IV	Tumor com metástases à distância (incluindo metástases parenquimatosas hepáticas)

FONTE: HOSPITAL A. C. CAMARGO. Departamento de Ginecologia. **Manual de condutas em ginecologia oncológica**. São Paulo, 2010. Adaptado pelo autor, 2013.

ANEXO 2 - PARECER DO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA DA UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MARINGÁ



Universidade Estadual de Maringá
Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação
Comitê de Conduta Ética no Uso de Animais em Experimentação



Parecer emitido após reunião realizada em: 4/4/2013 Parecer nº 032/2013

Pesquisador: Eneri Vieira de Souza Leite Mello	Setor: DCM	
Título:	Protocolo nº 015/2013	
Influência da suplementação pré-operatória com ácido graxo ômega-3 na cicatrização das anastomoses colônicas em ratos nutridos e desnutridos recebendo paclitaxel		
Entrada: 26/3/2013	Início: 1/5/2013	Término: 30/4/2014
Situação do Projeto: Aprovado com Recomendação		
Relatório Final: ATENÇÃO: este parecer, quando a situação do projeto constar "aprovado", autoriza os proponentes a executarem o protocolo em questão. O certificado será emitido após apreciação do relatório final.		
Considerações e Parecer:		
<p>Quanto ao mérito da pesquisa em relação às normas previstas na Lei no 11.794/08, Decreto 6.899/09, Resoluções do CONCEA, Lei Estadual no 14.037/03 e Resolução UEM no 032/2006-CEP, verifica-se que o projeto atende aos critérios éticos para o uso dos animais nos experimentos propostos.</p> <p>Contudo, em função de problemas no preenchimento do formulário solicitamos que sejam corrigidos:</p> <p>a) <input type="checkbox"/> O item 3.2.4. do formulário, referente a alimentação. Foi informado que não haveria suplementação alimentar, entretanto a administração de azeite de oliva e ômega-2 são os suplementos testados, de acordo com o título do trabalho;</p> <p>b) <input type="checkbox"/> A página 9 do processo, não foi impressa completamente e deverá ser substituída;</p> <p>c) <input type="checkbox"/> O item 4.1.8. do formulário indica que não há recuperação cirúrgica, entretanto, os animais terão recuperação, de acordo com os procedimentos descritos no formulário, item 4.1. – pós-operatório.</p> <p>Além das correções do formulário, indicamos que, conforme descrito no formulário o volume declarado para administração de salina IP é de 3 mL, entretanto, conforme guidelines internacionais (Canadian Council on Animal Care (CCAC) guidelines (www.ccac.ca) (http://www.animalcare.ubc.ca/sop/ACS-2012-TECH10.pdf)), o volume máximo para ratos deve ser 2 mL. Sendo assim, haverá a necessidade de alteração do protocolo para ajuste do volume administrado de salina.</p> <p>Os outros guidelines utilizados para avaliação deste protocolo estão disponíveis em: www.research.psu.edu/arp/experimental-guidelines/administration-by-oral-gavage; www.procedureswithcare.org.uk/ait/2010/oral-gavage-in-the-rat; www.aalas.org/learning-library (American Association for Laboratory Animal Science).</p> <p>Sendo assim, opina-se pela APROVAÇÃO do protocolo, na forma do artigo 10, inciso I, da Resolução UEM no 032/2006-CEP, vez que não se constata óbices legais para o desenvolvimento dos procedimentos experimentais nos moldes propostos pela pesquisadora em relação à legislação vigente, condicionado o início dos experimentos aos ajustes solicitados.</p> <p>É o parecer.</p>		
 Prof. Dr. GENTIL PANINI DE MORAES, Presidente em exercício do CEAE.		

Artigo 10 da Resolução nº 032/2006-CEP: Os projetos analisados serão enquadrados em uma das seguintes categorias:

I - aprovado;

II - pendente, quando o CEAE considerar o protocolo e o projeto como aceitáveis, porém com problemas no protocolo, no projeto ou em ambos, e houver recomendação de uma revisão específica, ou solicitação de modificação ou informação relevante, que deverá ser atendida em até 60 dias, após o recebimento da comunicação, pelo coordenador do projeto;

III - arquivado, quando o protocolo permanecer pendente, transcorridos 30 dias, após o prazo previsto no Inciso II do recebimento da comunicação;

IV - não aprovado

www.ppg.uem.br - e-mail: ceea@uem.br

ANEXO 3 - CERTIFICADO DE QULIDADE DO ÔMEGA-3



VITAL ESPECIALIDADES DERMOCOSMETICAS LTDA
 CNPJ: 74.411.257/0001-72 I.E.: 113.993.671.113
 RUA AMERICO BRASILIENSE - 04715-001 - SAO PAULO - SP
 FONE: 11 3526-8200 - FAX: 11 3526-8298
 EMAIL: vendas@vitalespecialidades.com.br - WEBSITE: WWW.VITALESPECIALIDADES.COM.BR

Página: 1

CERTIFICADO DE QUALIDADE

CLIENTE: FARMACIA FLORACELL LTDA
 ITEM : 10.0042-1- OMEGA 3 (1L)
 QUANTIDADE: 1 UN CAS: 8001-26-1
 NF: 18367 DE 05/12/2012

ITEM: 10.0042-1 - OMEGA 3 (1L)

LOTE: 10.0042-1123

LOTE FORNEC.: LIN 081/156

OP: 20797/2012

STATUS: APROVADO

DATA FABRICAÇÃO: 19/06/2012

PAÍS DE PROCEDÊNCIA: BRASIL

PAÍS DE ORIGEM: BRASIL

QUANTIDADE: 1 UN

VALIDADE: 19/12/2013

FABRICANTE: NACIONAL

Características Críticas

Ordem PONTO DE INSPEÇÃO

- 1 * APARENCIA
- 2 * COR
- 3 * ODOR
- 4 * INDICE DE ACIDEZ
- 5 * INDICE DE PEROXIDO
- 6 * INDICE DE SAPONIFICACAO
- 7 * INDICE DE IODO
- 8 * DENSIDADE
- 9 INDICE DE REFRACAO

INSTRUMENTO DE MEDIÇÃO

- VISUAL
 VISUAL
 OLFATIVO
 TITULACAO
 TITULACAO
 TITULACAO
 TITULACAO
 PICNOMETRO
 REFRACTOMETRO

VALOR ESPECIFICADO

- MIN / MÁX
 LIQUIDO OLEOSO
 AMARELO
 CARACTERISTICO
 <2
 < 10
 158 A 198
 100 A 150
 0,910 A 0,920
 1,4650 A 1,4850

VALOR ENCONTRADO

- ÚNICO - MIN / MAX
 LIQUIDO OLEOSO
 AMARELO
 CARACTERISTICO
 1,65
 0,59
 191,25
 148,22
 0,920
 1,4711

Monografia

METODOLOGIA INTERNA

Observações

ANALISES REALIZADAS PELO L.C.Q DA VITAL ESPECIALIDADES.
 *NAO EXPOR AO CALOR, NEM A RAIOS SOLARES.

Estocagem

{\rtf1\ansi\defo1\fontbl{\fontbl{\fontface\serif0 MS Sans Serif;}{f1\fnil MS Sans Serif;}}
 viewkind4uc1\pard\lang1046\font16 MANTER EM LOCAL SECO E AREJADO E EM TEMPERATURA AMBIENTE\p1par
 }

Garantimos e certificamos que os materiais e/ou produtos acima mencionados foram produzidos, testados e inspecionados sob condições controladas e estabelecidas pelo nosso Sistema de Qualidade.

Dra. Mayara de Lima Evangelista.
 Farmacêutica Responsável CRF/SP: 67.583

ANEXO 4 - DECLARAÇÃO DA FORMULAÇÃO DA SOLUÇÃO DE ÔMEGA-3

DECLARAÇÃO

Como farmacêutico responsável pela empresa, declaro para os devidos fins que manipulamos o produto Ômega 3 na concentração de 20mg/ml de acordo com a solicitação do Sr . Tiago J C de Castilho.

Jr. Daniel Maurício Dutra
Farmacêutico Responsável
CRF-PR 14915

Daniel Maurício Dutra

Curitiba, 28 de Janeiro de 2013.