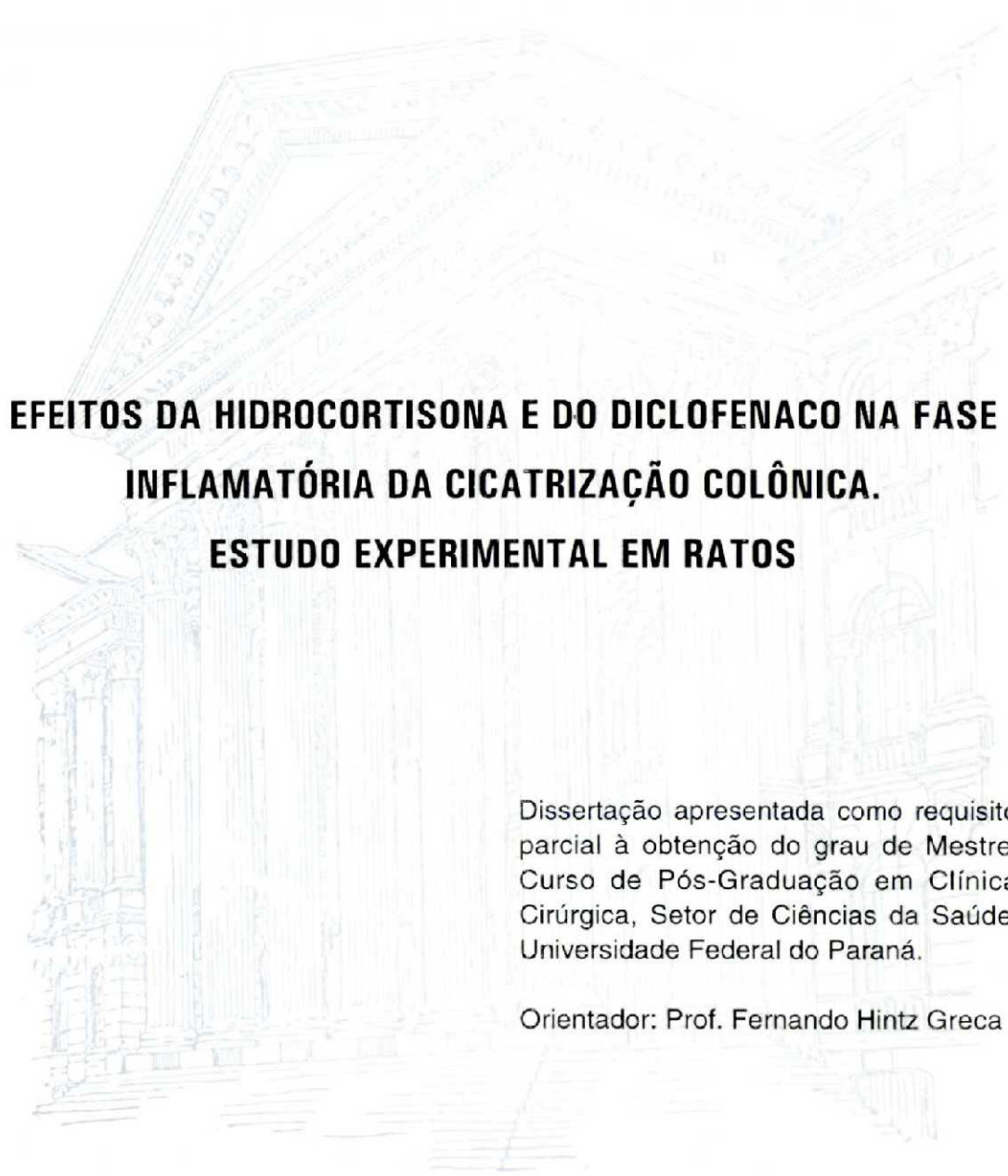


CELSO FERNANDO RIBEIRO DE ARAUJO



**EFEITOS DA HIDROCORTISONA E DO DICLOFENACO NA FASE
INFLAMATÓRIA DA CICATRIZAÇÃO COLÔNICA.
ESTUDO EXPERIMENTAL EM RATOS**

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

Orientador: Prof. Fernando Hintz Greca

CURITIBA
1996

CELSO FERNANDO RIBEIRO DE ARAUJO

**EFEITOS DA HIDROCORTISONA E DO DICLOFENACO NA FASE
INFLAMATÓRIA DA CICATRIZAÇÃO COLÔNICA.
ESTUDO EXPERIMENTAL EM RATOS**



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

Orientador: Prof. Fernando Hintz Greca

**CURITIBA
1996**

"Felicidade não é uma linha contínua, não é um estado de espírito uniforme e duradouro. É, ao contrário, um pontilhado de momentos de alegria e de paz que desvanecem a alma. São como frutos sagrados, pequeninos e saborosíssimos, que só aos simples e diligentes é dado colher e degustar. É por esta razão que temos de estar atentos às insignificâncias do cotidiano para não deixarmos escapar aquele instante mágico e fugaz que nem sempre volta a repetir-se. Aquele momento divinal em que nos é permitido fazer o milagre, como diz Paulo Coelho, o grande milagre de tornar a realidade num sonho".

Albino Freire.

AGRADECIMENTOS

Ao professor **Oswaldo Malafaia**, pelo estímulo e apoio, bem como pela confiança em mim depositada.

Ao professor **Fernando Hintz Greca**, pela orientação, com paciência e dedicação, ao guiar-me à independência, curiosidade intelectual e insistência no trabalho, qualidades indispensáveis ao cultivador da investigação.

Ao professor **Zacarias Alves de Souza F.º**, que, pelo seu exemplo ético de caráter e postura, propiciou entusiasmo e perseverança à vida acadêmica. Pois para a obra científica os meios não são quase nada e o homem é quase tudo.

Ao professor **João Carlos Domingues Repka**, pelo seu altruísmo e pela sua incessante busca da verdade, ensinou-me que para tomar uma afirmação como verdadeira é preciso investigar, com persistência e honestidade.

Ao acadêmico **Marcelo Thiel**, pelo espírito acadêmico, interesse científico e dedicação, com os quais possibilitou a conclusão deste trabalho.

À acadêmica **Alessandra de Lima Leite**, pela valiosa colaboração, interesse, responsabilidade, espírito acadêmico e participação no desenvolvimento das várias fases deste trabalho.

Aos acadêmicos monitores **Eduardo José B. Ramos** e **Eduardo Pradi Adam**, pelas suas contribuições indispensáveis na realização deste trabalho.

À professora **Marly Gasparin Barão**, pela revisão ortográfica e correção do texto.

À professora **Janice Cristine Thiel**, pela tradução e revisão de textos.

Aos professores **Neil Ferreira Novo** e **Etelvina Aparecida Reggiani**, pela análise e estudo estatístico dos resultados.

Aos funcionários da Disciplina de Técnica Cirúrgica e Cirurgia Experimental da Universidade Federal do Paraná: **Álvaro Roberto Gonçalves Machado**, **Marcos Antônio Gonçalves Machado**, **D'arc Mere Melchior** e **Arlete Edling**, pelas horas dispensadas ao auxílio da realização deste trabalho.

SUMÁRIO

LISTA DE TABELAS	VII
LISTA DE FIGURAS	IX
LISTA DE ABREVIATURAS	XI
RESUMO	XII
ABSTRACT	XIII
1 INTRODUÇÃO	1
2 OBJETIVO	8
3 REVISÃO DE LITERATURA	10
4 MATERIAL E MÉTODO	18
4.1 DIVISÃO DOS GRUPOS	19
4.2 JEJUM PRÉ-OPERATÓRIO	20
4.3 PREPARO MECÂNICO DO CÓLON	20
4.4 ANTIBIOTICOPROFILAXIA	22
4.5 ANESTESIA	22
4.6 PROCEDIMENTO CIRÚRGICO	22
4.7 INOCULAÇÃO DO CORANTE AZUL DE EVANS	24
4.8 SACRIFÍCIO	25
4.8.1 PRESSÃO DE RUPTURA À INSUFLAÇÃO	26
4.9 ESTUDO FOTOCOLORIMÉTRICO	28
4.10 ANÁLISE ESTATÍSTICA	28
5 RESULTADOS	30
5.1 GRUPO CONTROLE	31

5.1.1 PRESSÃO DE RUPTURA À INSUFLAÇÃO	33
5.1.2 CONCENTRAÇÃO DE AZUL DE EVANS	34
5.2 GRUPO SUBMETIDO À TERAPIA COM GLICOCORTICÓIDE	35
5.2.1 PRESSÃO DE RUPTURA À INSUFLAÇÃO	36
5.2.2 CONCENTRAÇÃO DE AZUL DE EVANS	37
5.3 GRUPO SUBMETIDO À TERAPIA COM DICLOFENACO	38
5.3.1 PRESSÃO DE RUPTURA À INSUFLAÇÃO	40
5.3.2 CONCENTRAÇÃO DE AZUL DE EVANS	41
5.4 COMPARAÇÃO ENTRE OS GRUPOS CONTROLE, SUBMETIDO À TERAPIA COM GLICOCORTICÓIDE E DICLOFENACO	42
5.4.1 PRESSÃO DE RUPTURA À INSUFLAÇÃO	42
5.4.2 CONCENTRAÇÃO DE AZUL DE EVANS	44
6 DISCUSSÃO	47
7 CONCLUSÕES	54
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	56

LISTA DE TABELAS

I	Ratos dos grupos controle (C), do glicocorticóide (E1) e do diclofenaco (E2), submetidos à anastomose de cólon, segundo os valores de pressão de ruptura à insuflação (PRI), em mmHg, e concentração do Azul de Evans (AE), em $\mu\text{g/g}$ de tecido.....	31
II	Ratos dos grupos controle Ca e Cb, submetidos à determinação da pressão de ruptura à insuflação nos segmentos da anastomose, em mmHg.....	33
III	Ratos dos grupos controle Ca e Cb, submetidos à determinação da concentração de Azul de Evans, em $\mu\text{g/g}$, no segmento da anastomose.....	34
IV	Ratos dos grupos experimento E1a e E1b (glicocorticóide), submetidos à determinação da pressão de ruptura à insuflação, em mm Hg, nos segmentos contendo a anastomose	36
V	Ratos dos grupos experimento E1a e E1b (glicocorticóide), submetidos à determinação da concentração de Azul de Evans, em $\mu\text{g/g}$ de tecido, nos segmentos contendo a anastomose.....	37
VI	Ratos dos grupos experimento E2a e E2b (diclofenaco), submetidos à determinação de pressão de ruptura à insuflação, em mmHg, nos segmentos contendo a anastomose.....	40
VII	Ratos dos grupos experimento E2a e E2b (diclofenaco), submetidos à determinação de Azul de Evans, em $\mu\text{g/g}$ de tecido, nos segmentos contendo a anastomose.....	41
VIII	Ratos dos grupos controle (Ca) e experimento (E1a e E1b), submetidos à determinação da pressão de ruptura à insuflação (PRI), em mmHg, nos segmentos contendo a anastomose.....	42
IX	Ratos dos grupos controle (Cb) e experimento (E1b e E2b), submetidos à determinação da pressão de ruptura à insuflação (PRI), em mmHg, nos segmentos contendo a anastomose.....	43

X	Ratos dos grupos controle (Ca) e experimento (E1a e E1b), submetidos à determinação da concentração de Azul de Evans, em $\mu\text{g/g}$ de tecido, nos segmentos contendo a anastomose.....	44
XI	Ratos dos grupos controle (Cb) e experimento (E1b e E2b), submetidos à determinação de Azul de Evans (AE), em $\mu\text{g/g}$ de tecido, nos segmentos contendo a anastomose.....	45

LISTA DE FIGURAS

1	Esquema da cascata do ácido araquidônico.....	4
2	Administração oral de solução de manitol a 20% por meio de sonda orogástrica.....	21
3	Lavagem mecânica do cólon por via retrógrada.....	21
4	Incisão mediana com exposição da cavidade.....	23
5	Secção do cólon a 5 cm da borda anal.....	23
6	Anastomose colo-cólica término-terminal.....	24
7	Inoculação do corante Azul de Evans.....	25
8	Peça cirúrgica contendo anastomose.....	26
9	Sistema para aferir a pressão de ruptura da amostra.....	27
10	Peça cirúrgica preparada para determinar a pressão de ruptura por distensão.....	27
11	G C 3.º P.O. Aspecto macroscópico.....	32
12	G C 7.º P.O. Aspecto macroscópico.....	32
13	Pressão de ruptura à insuflação (PRI), mmHg, no grupo controle (Ca e Cb).....	33
14	Concentração de Azul de Evans (AE), em µg/g de tecido, no grupo controle (Ca e Cb).....	34
15	G E1a 3.º P.O. Aspecto macroscópico.....	35
16	G E1b 7.º P.O. Aspecto macroscópico.....	36

17	Pressão de ruptura à insuflação (PRI), em mmHg, no grupo experimento (E1a e E1b).....	37
18	Concentração de Azul de Evans (AE), em $\mu\text{g/g}$ de tecido, nos grupos experimento (E1a e E1b).....	38
19	G E2a 3.º P.O. Aspecto macroscópico.....	39
20	G E2b 7.º P.O. Aspecto macroscópico.....	39
21	Pressão de ruptura à insuflação (PRI), em mmHg, nos grupos experimento (E2a e E2b).....	40
22	Concentração de Azul de Evans (AE), em $\mu\text{g/g}$ de tecido, nos grupos experimento (E2a e E2b).....	41
23	Pressão de ruptura à insuflação (PRI) nos grupos Ca, E1a e E2a, (mm Hg), nos segmentos contendo anastomose.....	43
24	Pressão de ruptura à insuflação (PRI) nos grupos Cb,E1b e E2b (mmHg), nos segmentos contendo anastomose.....	44
25	Concentração de Azul de Evans nos grupos Ca, E1a e E2a, $\mu\text{g/g}$, nos segmentos contendo anastomose.....	45
26	Concentração de Azul de Evans (AE) nos grupos Cb, E1b e E2b, em $\mu\text{g/g}$ de tecido, nos segmentos contendo anastomose.....	46

RESUMO

O presente estudo objetivou verificar os possíveis efeitos da hidrocortisona e do diclofenaco na fase inflamatória da cicatrização, pela avaliação da pressão de ruptura à insuflação e das alterações de permeabilidade vascular, nas anastomoses colônicas em ratos. Utilizou-se 56 ratos Wistar, machos, divididos em 3 grupos: grupo C (controle) com 17 animais; grupo E1 (glicocorticóide) com 18 ratos; grupo E2 (diclofenaco) com 21 animais. Subdividiu-se os grupos em subgrupos de acordo com o período de avaliação: 3.º e 7.º dias P.O. Realizou-se anastomose colônica a 5 cm da borda anal em todos os grupos. Puncionou-se a veia peniana para inoculação de Azul de Evans, na dose de 20mg/Kg, conforme datas pré-estabelecidas e, após 8 horas, sacrificaram-se os animais. Avaliou-se a pressão de ruptura à insuflação nos segmentos que continham a anastomose, os quais foram submetidos ao micrométodo espectrofotocolorimétrico, para a determinação das concentrações tissulares do corante. A pressão de ruptura à insuflação foi maior ao 7.º dia de P.O. em relação ao 3.º, em todos os grupos. A concentração de Azul de Evans foi maior ao 3.º dia de P.O. em relação ao 7.º, no grupo E2. Comparando-se os grupos, observou-se maior pressão de ruptura à insuflação no grupo controle que nos grupos experimento, ao 3.º dia de P.O. Ao 7.º dia, entretanto, a pressão de ruptura no grupo E1 foi menor que o grupo controle e que E2. A concentração de Azul de Evans nos grupos controle e E1 foi menor que no E2, ao 3.º dia de P.O. Ao 7.º dia em E1 a concentração foi menor que em E2 e que no grupo controle. Concluiu-se que, na fase inflamatória, a ação do glicocorticóide foi mais pronunciada do que a do diclofenaco, retardando o início da cicatrização de anastomose colônica em ratos.

ABSTRACT

The aim of the present study was to evaluate the role of hydrocortison and diclofenac on the inflammatory phase of the healing process of a colonic anastomosis, through the bursting strength and changes of vascular permeability. Fifty six male Wistar rats were allocated in 3 groups: group C (control) with 17 animals; group E1 (Hydrocortison) with 18 rats; group E2 (Diclofenac) with 21 animals. Each of the mentioned groups were divided in 2 subgroups, according to the post-operative time, 3rd or 7th post-operative day. The colonic anastomosis was performed at 5 cm from the anal verge. Through the penis vein, Evans Blue dye was injected in the dosis of 20 mg/Kg on the pre-established post-operative days. The bursting strength of the intestinal segment containing the anastomosis was evaluated, as well as the concentration of the dye in the tissues. In all the groups studied the bursting strength was greater on the 7th P.O. day in relation to the 3rd one. The concentration of Evans Blue dye was greater on the 3rd P.O. day in relation to the 7th day in the E2 group. Comparing the groups among themselves, it was observed that the bursting strength in the control group was greater than the E2 and E1 groups on the 3rd P.O. day. On the 7th P.O. day, however, the bursting strength in the E1 group was lower than in the control and E2 groups. The concentration of Evans Blue dye in the E1 group was lower than in the E2 group on the 3rd P.O. day. On the 7th day E1 it was lower than in E2 and in the control group. It is concluded that in the inflammatory phase the action of glicorticoid was stronger than that of diclofenac, and consequently delaying of healing was observed in the colonic anastomosis of rats.

1 INTRODUÇÃO

1 INTRODUÇÃO

A lesão tecidual caracteriza-se pela descontinuidade anatômica e funcional do tecido vivo. As agressões física, química, térmica e elétrica ao organismo desencadeiam uma série de reações locais e sistêmicas necessárias à reparação. A fase inicial destas reações é conhecida como **reação inflamatória**, aliás fundamental para cicatrização dos tecidos (8).

Na inflamação ocorre a exsudação de líquidos, proteínas plasmáticas e a migração de leucócitos, predominantemente neutrófilos. Posteriormente, observa-se a presença de linfócitos, macrófagos e proliferação de vasos sanguíneos no tecido conjuntivo (48). Esta fase em geral tem a duração de 4 dias e compreende 3 eventos importantes: a hemostasia, a migração de leucócitos e a epitelização.

A lesão tissular resulta em hemorragia, seguida de vasoconstrição, coagulação, ativação do complemento tissular e uma série de respostas inflamatórias. A vasoconstrição transitória (5-10 minutos) é seguida de vasodilatação, devida à presença de mediadores químicos como prostaglandinas, leucotrienos, histamina e bradicinina.

Precocemente, as células que aparecem no local são os macrófagos e neutrófilos, ambos com função fagocitária. O processo de fagocitose pode ser dividido em três etapas: migração, ingestão e destruição. A migração de polimorfonucleares (PMNs) pela parede capilar, para o local de injúria, é mediada

por fatores quimiotáticos, como o componente C5a do complemento e a calicreína, enzima catalisadora da formação de bradicinina.

A adesão dos PMNs ao endotélio, no local da lesão, é mediada pela interação de proteínas LFA (antígeno associado à função do linfócito) da superfície dos PMN com as proteínas ICAM (moléculas de adesão intercelular) da superfície das células do endotélio. Estas proteínas ICAM do endotélio aumentam pela ação de mediadores inflamatórios, tal como a interleucina-1 (IL-1) e fator de necrose tumoral (TNF), produzidos pelos macrófagos como resposta à lesão tecidual (24,39).

A lesão da membrana celular dá origem às fosfolípidos, que sofrem ação da enzima fosfolipase, formando o ácido araquidônico. Vários estímulos químicos, físicos e nervosos podem ativar as fosfolipases, que determinam a liberação de ácido araquidônico das membranas celulares. A partir daí inicia-se a cascata do ácido araquidônico, substrato de duas reações paralelas: uma, mediada pela cicloxigenase, a qual resultará na formação das prostaglandinas (PG), prostaciclina e tromboxano (TX); outra, mediada pela lipoxigenase, dando origem aos leucotrienos (LT) (40).

Os fatores estimulantes da inflamação retardam o processo de reparo dos tecidos lesados. Dessa forma, ao se minimizar o processo inflamatório, pode-se favorecer uma cicatrização mais rápida (5). Todavia, há drogas que interferem na inflamação e podem influenciar no processo de reparação tecidual (6,32). Também sabe-se de algumas substâncias que podem influenciar alguns dos eventos acima descritos (12,34,55) . (Fig.1)

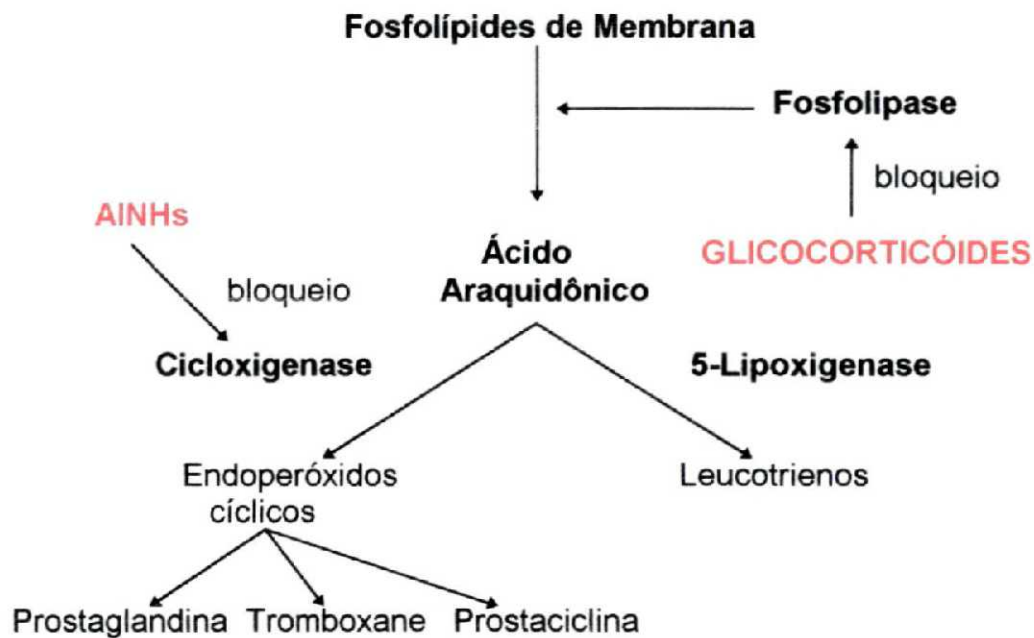


Fig.1 Esquema da cascata do ácido araquidônico

Para efeito, os principais antiinflamatórios são os glicocorticóides e os antiinflamatórios não hormonais (AINHs):

Os glicocorticóides podem reduzir drasticamente as manifestações da inflamação, agindo sobre a concentração, a distribuição e a função dos leucócitos periféricos, pois inibem a atividade da fosfolipase A2 e interferem na cascata do ácido araquidônico. Mas, os glicocorticóides inibem as funções de leucócitos e macrófagos nos tecidos, alteram a capacidade destas células de se multiplicarem e reduzem a resposta contra antígenos invasores_(21). Assim, os efeitos sobre os macrófagos são particularmente marcantes na limitação da capacidade deles de fagocitar e destruir microorganismos, células mortas e outros corpos estranhos, assim como na redução de sua capacidade de produzir interleucina-1, pirógenos, colagenase, elastase, fator de necrose tumoral e ativador de plasminogênio.

Além desses efeitos sobre a função dos leucócitos, a influência dos glicocorticóides na resposta inflamatória se dá pelo aumento da concentração de certos fosfolípídeos de membrana, com redução de prostaglandinas e síntese de leucotrienos, os quais são fisiologicamente formados pela ativação da fosfolipase A2. É relevante acrescentar que os glicocorticóides também aumentam a concentração de lipocortinas, pois reduzem a disponibilidade dos substratos de fosfolípídeos, que sofrem ação da fosfolipase A2, que por sua vez desencadeiam a cascata do ácido araquidônico₍₂₉₎.

Observe-se que os antiinflamatórios não hormonais (AINHs) são um grupo de compostos heterogêneos, freqüentemente sem qualquer relação entre si e compartilham, além da mesma ação terapêutica antiinflamatória, analgésica e antipirética, também como de seus efeitos colaterais. Aliás, uma característica peculiar destes fármacos é a variação individual não previsível da resposta clínica. Contudo, a diversidade de produtos desenvolvidos nesta classe de antiinflamatórios reflete os esforços de pesquisadores em obter uma droga com a máxima eficácia terapêutica e com mínimos efeitos colaterais. Para efeito, os antiinflamatórios inibem o metabolismo do ácido araquidônico por inibição da cicloxigenase e impedem a formação de PG, prostaciclina e TX. Além deste efeito, desacoplam os processos de fosforilação oxidativa; inibem a síntese e liberação de histamina; eliminam os radicais hidroxila, diminuindo a liberação das enzimas que promovem a lise celular e a geração de superóxidos _(12,19,23).

Após o ácido salicílico, a fenilbutazona foi o primeiro medicamento introduzido deste grupo. Uma década mais tarde, foram desenvolvidos compostos competitivos como o ibuprofeno e indometacina ₍₄₉₎. Mas, a intenção ao lançamento do diclofenaco foi a síntese de uma droga com ação similar àquelas mencionadas, todavia com maior atividade antiinflamatória e melhor tolerabilidade. Há que ressaltar o diclofenaco, como inibidor potencial da formação de prostaglandinas, prostaciclina e tromboxanos, devido à sua ação sobre a cicloxigenase, pois com

apenas $5\mu\text{M}$ inibe 50% desta enzima (IC_{50}), ao passo que a indometacina, ibuprofeno e piroxicam necessitam de 15, 350 e $400\mu\text{M}$, respectivamente, para obtenção do mesmo efeito. Estas razões são bastantes para sugerir-se que o diclofenaco possa ter outros mecanismos de ação além dos mencionados₍₃₆₎.

Contudo, estudos detalhados "in vitro" ₍₃₆₎ indicam o diclofenaco sem efeito inibitório nos níveis da 5 e 15-lipoxigenase ou na fosfolipase A2 mas como produtor da modulação significativa na formação e liberação de ácido araquidônico. Sob este aspecto o diclofenaco diminui a formação e liberação de ácido araquidônico, limitando sua disponibilidade e interferindo na via da cicloxigenase.

Em resumo, a maior parte dos efeitos terapêuticos e colaterais dos glicocorticóides e AINHS resulta na capacidade de diminuir a síntese de leucotrienos, prostaglandinas e outros autacóides, originados da membrana celular lesada. Essas substâncias sofrem ação das fosfolipases, que por sua vez formam o ácido araquidônico.

Cabe ressaltar que, na prática médica diária, os glicocorticóides e AINHS têm sido empregados em situações agudas e crônicas, em doses e períodos variáveis, com indicações precisas ou, até paradoxalmente, em muitas vezes, como uso indiscriminado de automedicação.

A fase inflamatória, condição indispensável à reparação, é de fundamental importância para o processo de cicatrização colônica. Assim, em caso de eventual intercorrência nessa fase, é possível um retardo para cicatrização, tornando a sutura susceptível à deiscência ₍₃₎.

Mas, estudos demonstraram que a cicatrização no intestino grosso é deficiente em relação ao intestino delgado, acreditando-se que a redução na síntese de colágeno seja devida a uma vascularização menos intensa. É relevante correlacionar-se este fato com maior índice de deiscência das anastomoses no cólon _(31,46,56).

A necessidade de se comprovar a existência de substâncias que interfiram na reparação tecidual justifica o estudo da ação dos antiinflamatórios, durante a fase inflamatória do processo cicatricial, das anastomoses colônicas^(33,36).

Visando o estudo da fase inflamatória da cicatrização, utilizou-se a avaliação do processo inflamatório, pelo Azul de Evans e pela resistência da cicatriz à pressão necessária, para ocasionar a ruptura da parede colônica após a insuflação de ar, quando então se torna possível quantificar a pressão necessária para vencer sua resistência ^(11,32,35).

Por ser o Azul de Evans um corante constituído por sal orgânico, diazo-tetrassódico, com peso molecular de 960,8 daltons, também conhecido como T-1824, é utilizado em numerosas investigações clínicas, devido sua alta afinidade com albumina plasmática, conforme foi descrito por Herber M. Evans ⁽¹⁰⁾. *an. unipenn. 17/48*

Inicialmente usado para a determinação da volemia, este corante tem-se mostrado útil na experimentação como método indireto de quantificação do processo inflamatório ^(10,20,23,27).

O corante se liga à albumina plasmática e reflete o teor de albumina e a própria volemia, quando administrado por via parenteral, ao se distribuir por toda rede vascular, no momento em que atinge máxima concentração plasmática. Ato contínuo, segue-se uma fase farmacocinética, caracterizada pela transferência do corante das proteínas plasmáticas para as proteínas tissulares, fase em que o corante reflete a intensidade do processo vascular local.

Observe-se que, durante a primeira fase da cicatrização, há alteração da permeabilidade vascular, fator determinante da passagem do corante para os tecidos, condição que permite estimar a intensidade do processo inflamatório relacionado à cicatrização ⁽¹³⁾.

2 OBJETIVO

2 OBJETIVO

O objetivo deste trabalho reside na avaliação dos possíveis efeitos da hidrocortisona (glicocorticóide) e do diclofenaco potássico (AINH), na fase inflamatória da cicatrização colônica em ratos.

3 REVISÃO DA LITERATURA

3 REVISÃO DA LITERATURA

COLE, ORBISON, HOLDEN, HANDOCK e LINDSAY, em 1951, avaliaram a ação da hidrocortisona sobre a cicatrização de pele em cães, através de estudo histológico. Concluíram que altas doses de glicocorticoide retardam o desenvolvimento de todos os elementos do tecido conectivo.

Em 1955, CASTER, SIMON, e ARMSTRONG avaliaram a concentração tissular e plasmática do corante Azul de Evans em diferentes tecidos de ratos Wistar. Administraram 2ml do corante a 1% por via endovenosa e, em períodos pré-estabelecidos, recolheram amostras de diversos tecidos. Extraíram o corante e observaram-no em: 16% no plasma, 30% na pele, 13% no músculo, 12% no fígado, 9% no esqueleto e 20% nos demais tecidos. Estes resultados poderiam estimar o volume plasmático de uma determinada quantidade de tecido em ratos.

STEELE e WILHELM, em 1966, estudaram a permeabilidade vascular em reações inflamatórias de pele, produzidas por diversos agentes químicos em cobaias, através de administração endovenosa de Azul de Evans. Constataram: agentes agressores aumentavam a permeabilidade vascular e o eritema formado se relacionava à vasodilatação local e ao aumento da permeabilidade vascular, através da exsudação do corante.

Em 1967, REHDER e ENQUIST avaliaram a cicatrização de pele em ratos e cobaias, submetidos à terapia com corticosteróide, administrado por via subcutânea, nas doses de 2,5 e 25 mg/Kg, através de estudo histopatológico, força de tensão e dosagem de hidroxiprolina. Concluíram que as complicações pós-operatórias foram mais freqüentes em ratos, as alterações na força de tensão e na quantidade de colágeno na ferida foram semelhantes em ambas espécies.

Em 1968, CRONIN, JACKSON e DUNPHY, em estudo experimental, avaliaram a pressão de ruptura à insuflação e a quantidade de colágeno na cicatrização colônica. Concluíram que, ao 3.º dia pós-operatório, o colágeno e a pressão de ruptura à insuflação encontram-se diminuídos devido ao metabolismo do colágeno.

EHRlich e HUNT, em 1968, demonstraram, em ratos, que a vitamina A inibe os efeitos deletérios do corticosteróide sobre a cicatrização de pele e, em 1969, que o uso de esteróides anabolizantes inibe a ação de corticóides sobre a força de tensão de feridas.

WISE, McALISTER, STEIN e SCHUCK, em 1975, compararam a cicatrização de anastomoses em intestinos, delgado e grosso, quanto à pressão de ruptura à insuflação, vascularização e quantidade de colágeno. Concluíram que no cólon a quantidade de colágeno e a vascularização são inferiores às do intestino delgado, no local da anastomose.

Em 1978, JIBORN, AHONEN e ZEDERFELDT compararam a força de ruptura e de explosão e a quantidade de colágeno, em anastomoses colônicas realizadas em plano único, com suturas contínuas e interrompidas em ratos. Constataram, ainda, redução da pressão de ruptura à insuflação, da tensão de ruptura por estiramento e da quantidade de colágeno, ao 7.º dia de pós-operatório, nas suturas contínuas no cólon.

BERNAUER, em 1980, utilizou o Azul de Evans, devido à rapidez de sua difusão transcápicular em sua forma livre, com a finalidade de evidenciar áreas miocárdicas não isquêmicas, após a ligadura de vasos coronarianos. Perfundiram o sistema coronariano com Azul de Evans, submetem o miocárdio à extração do

corante com ácido clorídrico, benzalcônio e clorofórmio. Realizou o estudo espectrofotocolorimétrico da solução de extração e observou que as áreas isquêmicas tiveram coloração normal, sendo que o restante tingiu-se de azul escuro. Neste método, o Azul de Evans abandona os vasos rapidamente e se fixa nos tecidos, enquanto que no animal, enquanto tecido vivo, o corante liga-se a proteínas plasmáticas, de maneira que o extravasamento do complexo corante-albumina reflete a alteração da permeabilidade capilar.

Em 1983, GREEN, JOHNSON, MARCHESSAUT e GATTO avaliaram a farmacocinética de moléculas exógenas e o fluxo transcapilar do Azul de Evans, através de distribuição e concentração tissular do corante, em cobaias. Concluíram que a diminuição intravascular do Azul de Evans corresponde ao aumento da quantidade do corante nos compartimentos tissulares.

Em 1984, ASZODI e PONSKY avaliaram os efeitos dos corticosteróides sobre a cicatrização de anastomoses intestinais em ratos, através do estudo da pressão de ruptura à insuflação, da histologia e da microangiografia. Constataram que doses de 5 mg/Kg de peso corporal de corticosteróide reduziram a pressão de ruptura à insuflação nos segmentos intestinais, entre o 4.º e 7.º dias de observação pós-operatória.

DIWAN e KULKARNI, em 1986, compararam os efeitos de 5 AINHS (aspirina, fenilbumetasona, indometacina, ibuprofeno e ácido efenâmico) e da dexametasona sobre a cicatrização de feridas. Observaram que: a dexametasona retardou significativamente a contração e epitelização das feridas cirúrgicas, a aspirina e a indometacina comprometeram somente a contração, o ácido efenâmico reduziu o período de epitelização e alterou a concentração de colágeno marginalmente, os outros AINHS em nada alteraram, exceto a indometacina, a dexametasona e os

AINHs que reduziram o granuloma e a força de ruptura nas feridas, mas a dexametasona suprimiu significativamente a cicatrização, enquanto o efeito pró-epitelizante do ácido efenâmico pode ser benéfico na cicatrização de queimaduras e enxertos de pele.

GARDNER, em 1986, propôs a utilização de um micrométodo para a análise da concentração plasmática do corante Azul de Evans.

Em 1988, TODD e SORKIN estudaram as possíveis formas de administração do diclofenaco: oral, retal e intramuscular. Essa droga tem vida média curta, o que limita o seu potencial de acúmulo. Como analgésico tem rápida distribuição e longo período de ação, mas quando administrado por via intramuscular pode ser comparado a narcóticos e combinações antiespasmódicas no tratamento de cólica biliar e renal. Observaram que é bem tolerado quando comparado aos outros AINHs e raramente produz ulcerações gastrointestinais ou outros efeitos colaterais.

Em 1990, DOSTAL e GAMELLI avaliaram os efeitos de doses equipotentes de dexametasona, hidrocortisona e metilprednisolona sobre a cicatrização de pele em camundongos. O succinato de hidrocortisona foi utilizado em doses de 20, 100, 200 e 400 mg/Kg de peso corporal, o que equivale a doses humanas com variação entre 1,67 à 33,3 mg/Kg de peso corporal por dia. Sugeriram que apenas a hidrocortisona e a dexametasona reduzem a força de tensão das feridas.

KORUDA e ROLANDELLI, em 1990, publicaram revisão sobre o estudo experimental de cicatrização de anastomoses colônicas.

BRASKÉN, em 1991, demonstrou importante decréscimo do metabolismo local durante a cicatrização de cólon em ratos. Constatou que, até o 3.º dia de pós-operatório, as fibras colágenas não se acumulam dentro da linha de anastomose, mas há apenas cicatrização lenta da mucosa, com suscetibilidade maior à infecção neste período.

Em 1991, MASTBOOM, HENDRIKS, ELTEREN e BOER realizaram estudos experimentais com a finalidade de avaliar a influência de antiinflamatórios sobre a cicatrização intestinal em ratos. A metilprednisolona (2,5 e 10 mg/Kg de peso corporal por dia) favoreceu o aparecimento de abscessos peri-anastomóticos com maior frequência em íleo, porém não reduziu a pressão de ruptura à insuflação nem a dosagem de hidroxiprolina nos segmentos anastomóticos, tanto no cólon como no íleo. Concluíram que a administração a curto prazo de metilprednisolona não afeta a cicatrização intestinal aos 3.º e 7.º dias de observação pós-operatória. Com o uso de AINHS (piroxicam, ibuprofeno, aspirina e indometacina), observaram altas taxas de morbidade e mortalidade. Ainda constataram que o piroxicam e o ibuprofeno minimizaram a redução do colágeno no segmento intestinal, observada na amostra do grupo controle, ao 3.º dia de pós-operatório. Concluíram que os AINHS podem limitar a degradação de colágeno nas anastomoses colônicas, não obstante podem, concomitantemente, aumentar a suscetibilidade dos ratos à infecção.

Em 1991, SOUZA, SOARES e APRILLI avaliaram os efeitos do diclofenaco sódico sobre a cicatrização intestinal em coelhos. Administraram a droga (3mg/Kg de peso corporal por dia) por via intramuscular. O sacrifício foi realizado aos 3.º, 7.º, e 14.º dias de pós-operatório. Estudaram a cavidade peritoneal macroscopicamente, a força de ruptura, a concentração de hidroxiprolina e o

histopatológico das anastomoses. Observaram deiscência da anastomose, peritonite seguida de morte, somente nos grupos submetidos à terapia. O diclofenaco reduziu a força de ruptura no segmento anastomótico, ao 7.º dia de pós-operatório. Com base nestes resultados concluíram que este AINH prejudica a cicatrização de anastomoses intestinais.

Em 1992, HASS, NAKANISHI, Mac MILLAN e JORDAN utilizaram o Azul de Evans, para avaliar um modelo de inflamação orofacial aguda, pela ação do óleo de mostarda.

OBATA, KOBAYASHI, OKADA, NAKAGAWA, TERAWAKI e AISHITA, em 1992, estudaram a exsudação plasmática por dano vascular, nas vias aéreas e no pulmão de cobaias, através da dosagem do Azul de Evans. Constataram concentração aumentada de corante na presença da lesão.

Em 1994, CORVALÓN demonstrou a aplicação do micrométodo espectrofotocolorimétrico para determinação das concentrações em μg de Azul de Evans, em plasma e tecido colônico de ratos Wistar.

Em 1994, HAJAR utilizou o Azul de Evans para avaliar a permeabilidade vascular na colite induzida por ácido acético a 10% em ratos Wistar. Observou correlação das alterações histológicas encontradas no cólon, após instilação do ácido acético, com as concentrações tissulares do corante Azul de Evans, a partir do 7.º dia de pós-operatório.

FURST, STROMBERG, BLATCHFORD, CHRISTENSEN e THORSON, em 1994, estudaram a pressão de ruptura à insuflação de anastomoses colônicas em ratos, submetidos à terapia com corticosteróide. Ao 4.º dia de observação não

houve diferenças significativas entre o grupo controle e o experimento. Ao 6.º, 8.º e 20.º dias de pós-operatório, constataram redução significativa na pressão, suficiente para romper o cólon, nos grupos submetidos à terapia.

4 MATERIAL E MÉTODO

4. MATERIAL E MÉTODO:

O presente estudo foi desenvolvido no laboratório do Instituto de Pesquisa em Cirurgia Dr. Égas Penteado Izique, do Setor de Ciências da Saúde da Universidade Federal do Paraná e no laboratório de Imunologia e Microbiologia da Faculdade Evangélica de Medicina do Paraná.

Seguiu-se as normas da Nômina Anatômica e os Princípios Éticos de Experimentação Animal do International Council for Laboratory Animal Science (1990).

Foram utilizados 56 ratos machos (Rattus norvegicus, Rodentia mammalia), da cepa Wistar-Tecpar, pesando entre 250 e 385 g, fornecidos pelo biotério do Instituto de Tecnologia do Paraná (TECPAR-PR).

Os animais foram observados, durante 10 dias, quanto às suas condições gerais de saúde, recebendo ração para ratos (Nuvilab CR1, Nuvital Nutrientes Ltda.) e água ad libitum.

4.1 DIVISÃO DOS GRUPOS:

Os animais foram, aleatoriamente, divididos em três grupos:

Grupo C (controle): 17 animais, os quais foram submetidos a uma injeção IM diária de soro fisiológico, pelo período de 10 dias. A posteriori divididos em dois subgrupos: Ca, com 8 animais, sacrificados ao 3.º dia pós-operatório e Cb, com 9 animais, sacrificados ao 7.º dia pós-operatório.

Grupo E1 (glicocorticóide): com 18 animais, que receberam hidrocortisona por via intraperitoneal, no quadrante inferior direito do abdome, em dose de 10 mg/Kg/dia, durante 10 dias. A posteriori subdividido em dois subgrupos: E1a, com 9 animais, sacrificados ao 3.º dia pós-operatório e E1b, com 9 animais, sacrificados ao 7.º dia pós-operatório.

Grupo E2 (diclofenaco potássico): com 21 animais, que receberam diclofenaco potássico por via intramuscular, em dose de 5 mg/Kg/dia, durante 10 dias. O grupo foi subdividido em dois subgrupos: E2a, com 11 animais, sacrificados ao 3.º dia pós-operatório e E2b, com 10 animais, sacrificados ao 7.º dia pós-operatório.

4.2 JEJUM PRÉ-OPERATÓRIO:

Todos os ratos foram submetidos a jejum para sólidos, pelo período de 24 horas antes da operação.

4.3 PREPARO MECÂNICO DO CÓLON:

Foi realizada administração de 20 ml de solução de manitol a 20%, 12 horas antes do ato operatório, através de sonda orogastrica (Fig 2). Sob anestesia geral, ato contínuo, foi realizada lavagem intestinal retrógrada, por meio de sonda, com 40 ml de soro fisiológico, antes do início do experimento (Fig. 3).



Fig.2 Administração de solução de manitol a 20%, por meio de sonda orogástrica

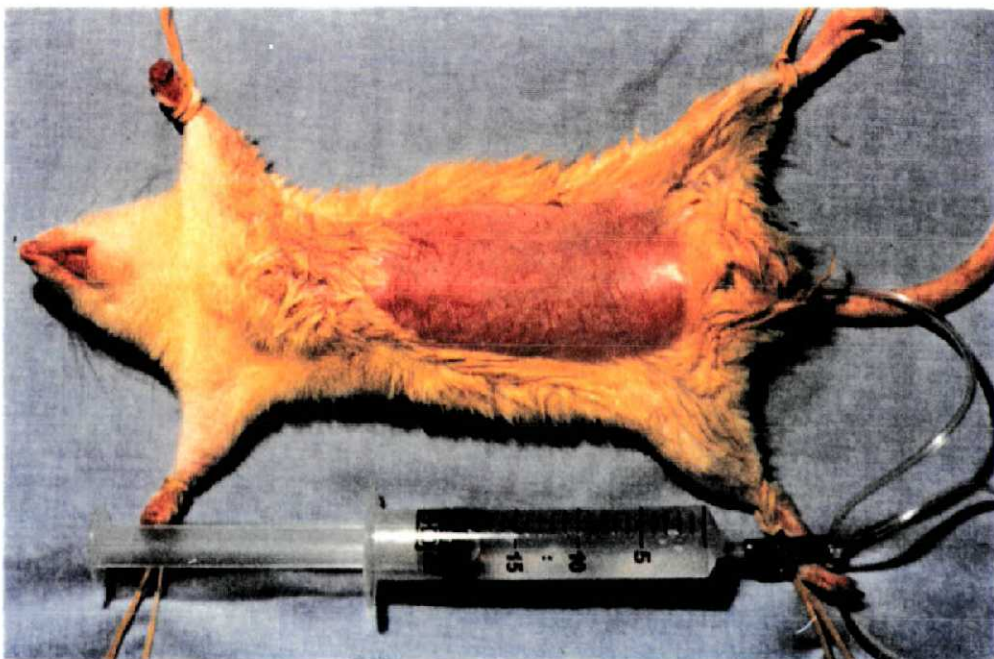


Fig.3 Lavagem mecânica do cólon, por via retrógrada

4.4 ANTIBIOTICOPROFILAXIA:

Usou-se cefoxitina sódica (Mefoxin®), por via intraperitoneal, em dose de 15 mg/kg peso, uma hora antes da operação.

4.5 ANESTESIA:

Os ratos foram anestesiados com tiopental sódico (Thionembutal®) a 2,5%, por via intraperitoneal, em dose de 0.15 ml/100g de peso.

4.6 PROCEDIMENTO CIRÚRGICO:

Após a anestesia, os animais foram submetidos à tricotomia da região abdominal e à pesagem. Imobilizados em decúbito dorsal, sobre uma prancha de madeira, procedeu-se à laparotomia mediana em condições assépticas (Fig. 4). Após inspeção cavitária, identificação e isolamento do intestino grosso, seccionou-se o cólon a 5cm da borda anal (Fig.5). A reconstituição do trânsito intestinal foi feita com anastomose término-terminal em plano total de sutura, com 10 pontos separados (Fig. 6). O fio utilizado para sutura foi a poliglactina 5-0.

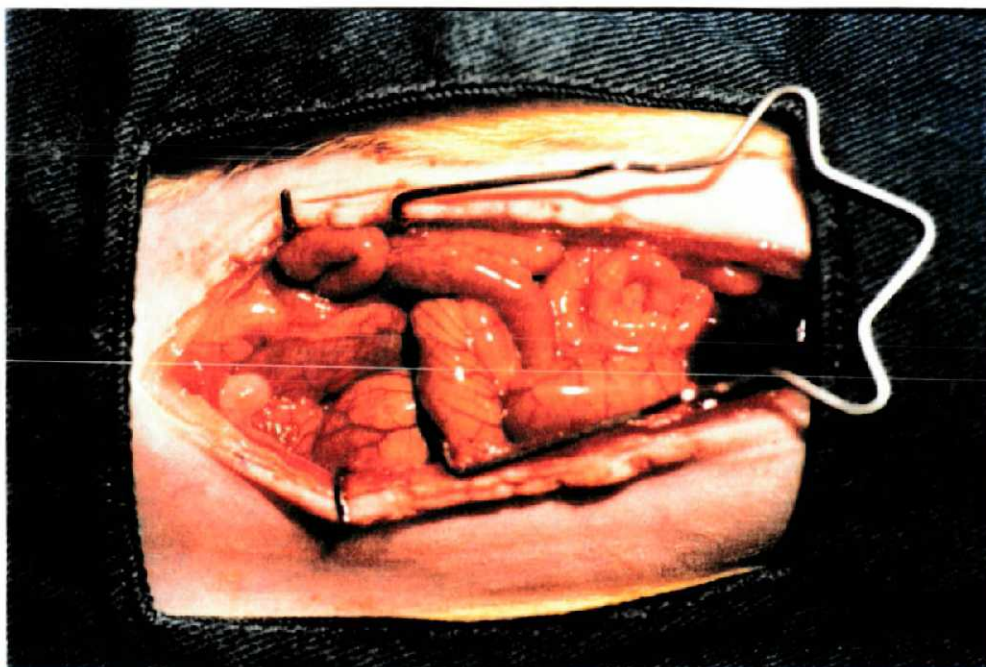


Fig.4 Incisão mediana com exposição da cavidade

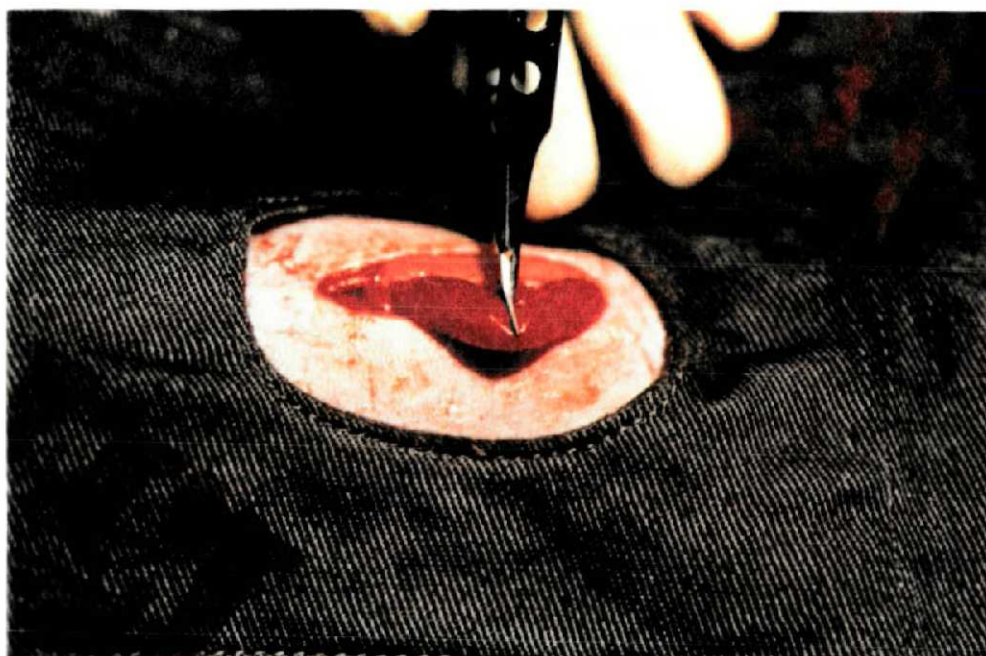


Fig.5 Secção do cólon a 5 cm da borda anal

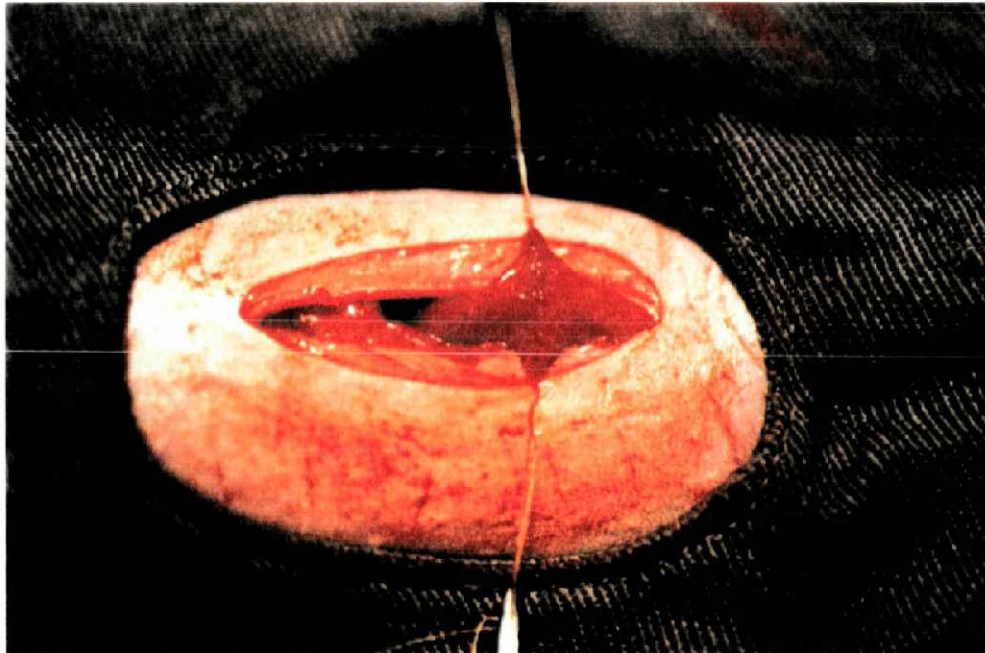


Fig.6 Anastomose colo-cólica término- terminal

Após a revisão da cavidade, procedeu-se à síntese da parede abdominal com pontos totais de polipropileno 4-0, seguida de curativo seco oclusivo.

O procedimento cirúrgico teve um tempo médio de 20 minutos, por animal, após a recuperação anestésica, os animais foram mantidos em gaiolas, permanecendo em jejum por 12 horas, quando então passaram a ter livre acesso à água. A ingestão de ração padrão se deu 24 horas após o procedimento cirúrgico.

Os animais foram observados diariamente.

4.7 INOCULAÇÃO DO CORANTE AZUL DE EVANS:

Aos 3.º e 7.º dias de pós-operatório, os animais foram submetidos à inoculação do corante vital Azul de Evans, na concentração de 20 mg/Kg de peso, por punção da veia dorsal do pênis, 8 horas antes do sacrifício, (10,26). Este procedimento foi feito sob anestesia inalatória com éter dietílico (Fig.7).

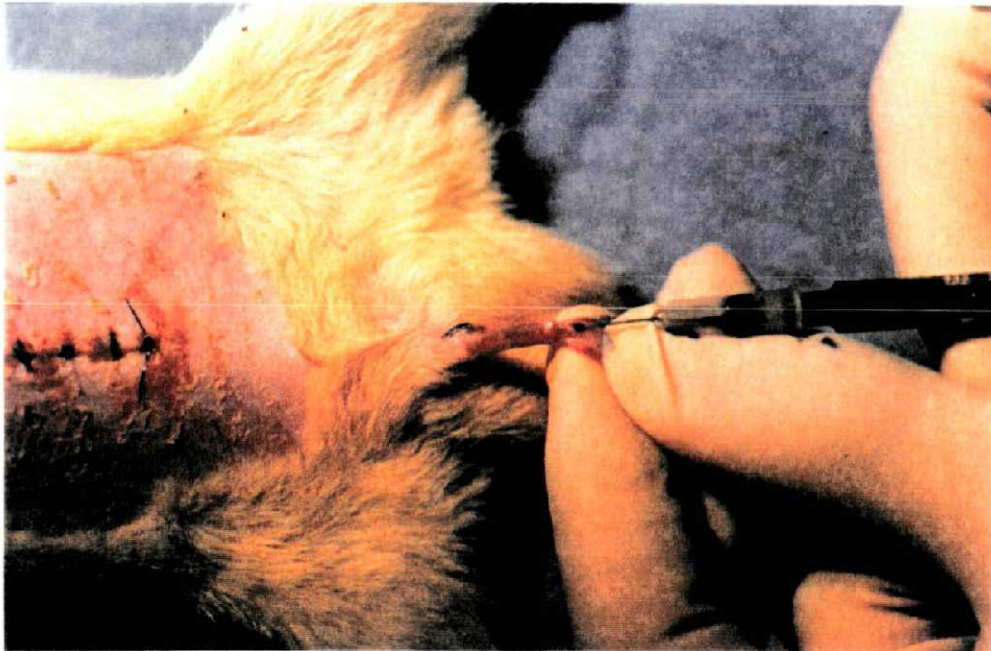


Fig.7 Inoculação do corante Azul de Evans

4.8 SACRIFÍCIO:

Sob anestesia inalatória, nos dias estipulados para o sacrifício, os animais foram submetidos à relaparotomia. Alterações, como bloqueios inflamatórios, abscessos ou deiscências foram cuidadosamente pesquisados.

Isolado o cólon e identificada a área de anastomose, foi retirado um segmento com 4 cm de comprimento, interessando anastomose em sua região central (Fig.8).



Fig.8 Peça cirúrgica contendo a anastomose

4.8.1 Pressão de ruptura à insuflação:

As peças cirúrgicas foram submetidas ao estudo da resistência à força de explosão; o processo consistiu na oclusão da extremidade proximal da alça intestinal, sendo a extremidade distal adaptada a um cateter conectado a um sistema com fluxo contínuo, de 0.5 l/min de ar comprimido, e a uma coluna de mercúrio, para aferir a pressão de explosão_(18,33) (Fig.9 e 10).

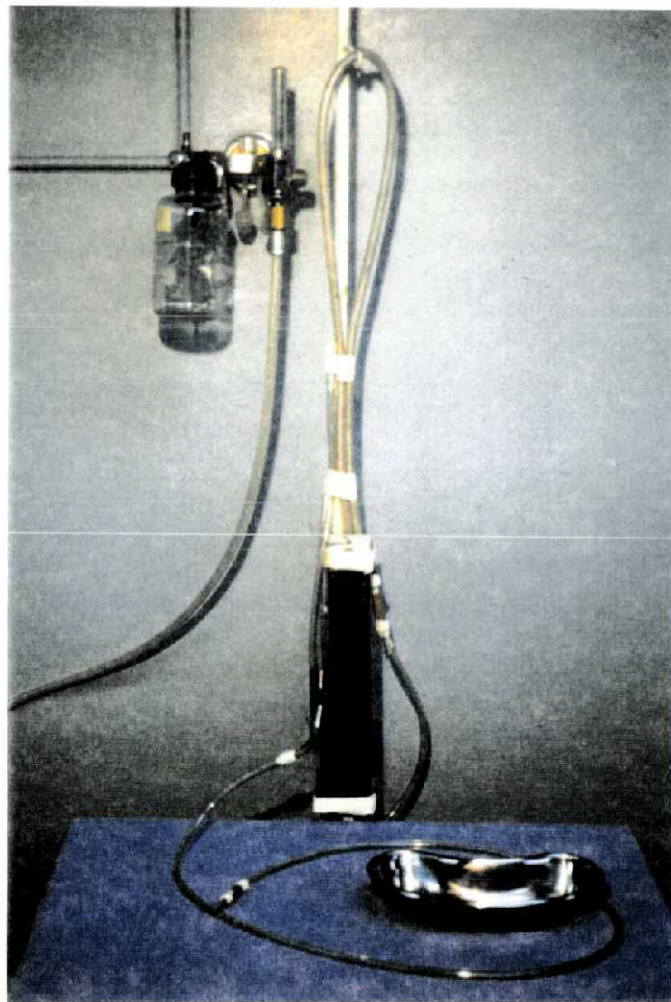


Fig.9 Sistema para aferir a pressão de ruptura da amostra

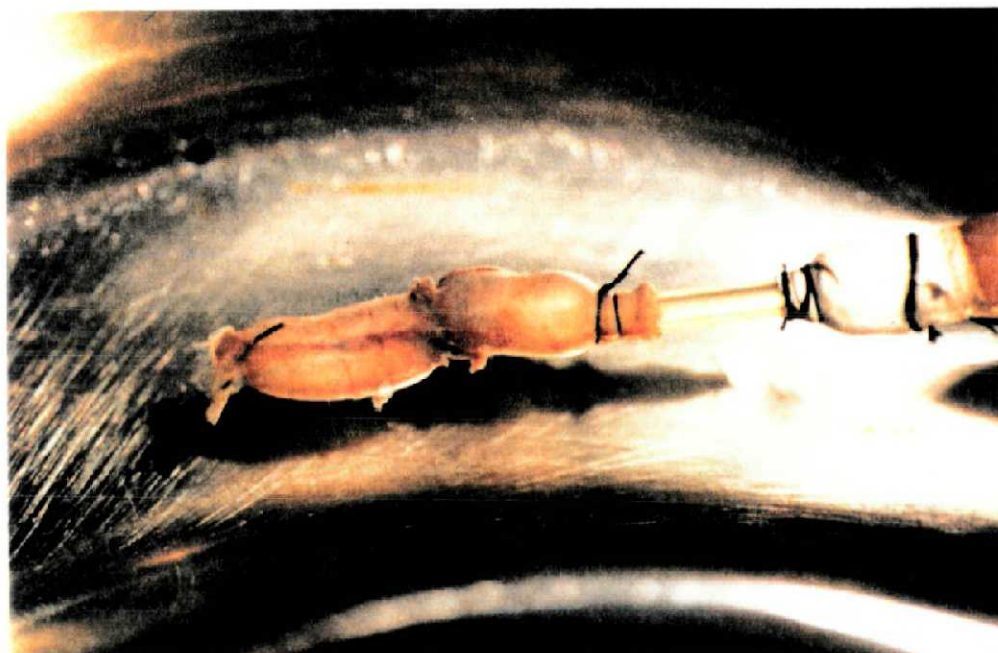


Fig.10 Peça cirúrgica preparada para determinação da pressão de ruptura por distensão

4.9 ESTUDO FOTOCOLORIMÉTRICO:

Tabulados os valores obtidos, as peças foram envoltas em papel alumínio e enviadas ao laboratório, para determinação da concentração do corante Azul de Evans. As peças foram pesadas para estipular a quantidade de formamida necessária à extração do corante (Formamida= 4ml/g de peso da peça). Os fragmentos foram colocados na formamida e levados à estufa a 22° C, pelo período de 24 horas.

O produto da extração foi submetido a estudo espectrofotocolorimétrico. Obteve-se a concentração do corante em $\mu\text{g/g}$ de tecido, após realização do cálculo de regressão linear, para a leitura das amostras (10,,26).

4.10 ANÁLISE ESTATÍSTICA:

Os resultados das amostras foram submetidos à análise estatística com:

1-Teste de **Mann-Whitney**, para duas amostras independentes(Lewis,1978), com o intuito de comparar os resultados do 3.º com o 7.º dias de pós-operatório das variáveis: pressão de ruptura à insuflação (PRI) e concentração do corante Azul de Evans (AE), nos grupos controle, experimento E1 e experimento E2.

É pertinente especificar que o uso deste tipo de teste se justifica pelo número de amostras diferentes, embora não se pudesse afirmar que a distribuição delas fosse normal.

2- Análise de variância por postos " H " de **Kruskall-Wallis** (Lewis, 1978) , para comparar os resultados obtidos ao 3.º com os de 7.º dias de pós-operatório, separadamente, com relação às variáveis: pressão de ruptura à insuflação (PRI) e

concentração de Azul de Evans (AE) nos grupos controle , experimento E1 e experimento E2.

Uma vez obtidos os $H_{(s)}$ como significantes, utilizou-se, complementarmente, de um teste de comparações múltiplas.

3- Estabeleceram-se os níveis de significância dos testes a partir dos valores calculados para " U " (Mann-Whitney) e " H " (Krulall-Wallis).

5 RESULTADOS

5 RESULTADOS

Na observação pós-operatória dos vários grupos para este estudo não houve, clinicamente, sinais de complicações e não ocorreram óbitos.

Tab.I Ratos, dos grupos controle (C), glicocorticoide (E1) e diclofenaco (E2), submetidos à anastomose de cólon, segundo os valores de pressão de ruptura à insuflação (PRI), em mmHg, e concentração do Azul de Evans (AE), em $\mu\text{g/g}$ de tecido

C				E1				E2			
3.º		7.º		3.º		7.º		3.º		7.º	
PRI	AE	PRI	AE	PRI	AE	PRI	AE	PRI	AE	PRI	AE
70	63,38	130	44,18	30	46,83	50	34,13	60	88,03	210	34,54
30	66,72	205	48,75	25	52,11	110	22,65	10	40,93	240	35,20
90	64,79	180	36,60	32	42,25	130	21,31	0	41,78	140	27,81
30	49,29	170	35,32	20	31,51	115	28,33	0	54,99	170	39,08
80	20,77	170	31,54	15	38,73	90	23,06	20	91,24	200	38,73
30	33,79	180	56,30	10	28,86	130	22,02	0	42,80	140	32,56
70	28,34	190	59,24	30	15,68	50	31,21	10	52,79	160	35,73
40	35,03	170	28,80	10	21,82	150	12,67	20	43,13	190	49,29
		170	42,64	5	22,35	120	16,96	20	47,54	190	53,87
								40	52,25	120	40,49
								70	48,75		

5.1 GRUPO CONTROLE

Nos animais sacrificados ao 3.º dia de pós-operatório, evidenciou-se, durante inspeção da cavidade abdominal, a presença de intensa formação de aderências na área da anastomose, com a participação do epíplon, vesícula seminal e alças intestinais. Ao 7.º dia pós-operatório, evidenciou-se a presença de aderências em menor intensidade em relação ao 3.º dia (Fig. 11 e 12).



Fig.11 G.C. 3° P.O. Aspecto macroscópico



Fig.12 G.C. 7° P.O. Aspecto macroscópico

5.1.1 PRESSÃO DE RUPTURA À INSUFLAÇÃO

A força necessária, para promover a ruptura do segmento, contendo a anastomose, tanto ao 3.º dia (grupo Ca) como ao 7.º dia (grupo Cb) pós-operatório, consta da tabela II.

Tab.II Ratos, dos grupos controle Ca e Cb, submetidos à determinação da pressão de ruptura à insuflação no segmento da anastomose, em mmHg

Rato nº	Ca	Cb
1	70	130
2	30	205
3	90	180
4	30	170
5	80	170
6	30	180
7	70	190
8	40	170
9		170

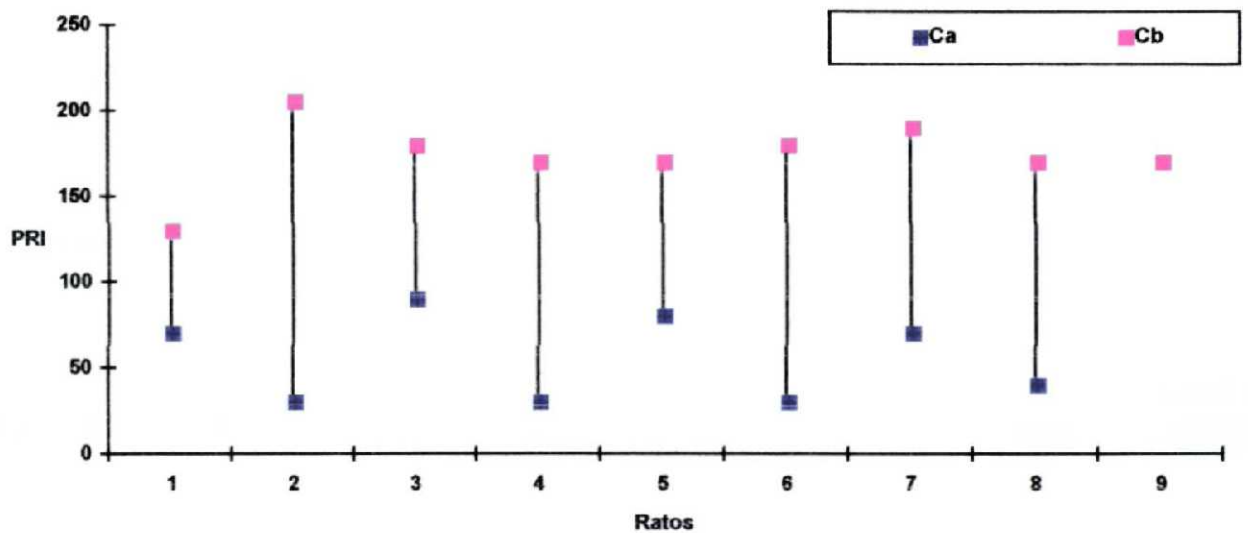


Fig.13 Pressão de ruptura à insuflação (PRI), em mmHg, no grupo controle (Ca e Cb)

Utilizado teste de **Mann-Whitney**, a pressão de ruptura à insuflação para **U** calculado= 0,0 ($p < 0,001$) resultou do 7.º > 3.º dia de pós-operatório.

5.1.2 CONCENTRAÇÃO DE AZUL DE EVANS

A dosagem do corante Azul de Evans, ao 3.º dia (grupo Ca) e ao 7.º dia (grupo Cb) pós-operatório, consta da tabela III.

Tab.III Ratos, dos grupos controle Ca e Cb, submetidos à determinação da concentração de Azul de Evans, em $\mu\text{g/g}$, no segmento da anastomose

Rato nº	Ca	Cb
1	63,38	44,18
2	66,72	48,75
3	64,79	36,60
4	49,29	35,32
5	20,77	31,54
6	33,79	56,30
7	28,34	59,24
8	35,03	28,80
9		42,64

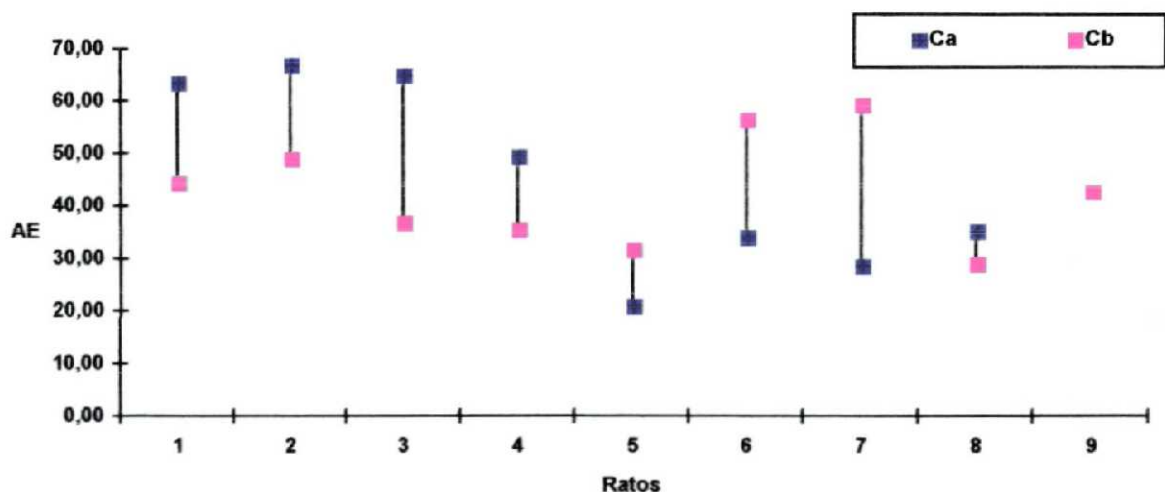


Fig.14 Concentração Azul de Evans (AE), em $\mu\text{g/g}$ de tecido, no grupo controle (Ca e Cb)

Aplicado o teste de **Mann-Whitney**, a concentração de Azul de Evans, para **U** calculado=34, não houve diferença significativa.

5.2 GRUPO SUBMETIDO À TERAPIA COM GLICOCORTICÓIDE

Evidenciou-se, na inspeção da cavidade dos animais sacrificados do grupo experimento(E1a), ao 3.º dia de pós-operatório, a presença de aderências frouxas em grande intensidade (Fig.15).

No grupo (E1b), sacrificado ao 7.º dia pós-operatório, a mostragem de aderências frouxas se apresentaram em menor intensidade, diferente porém, com características mais firmes em relação ao grupo (E1a) (Fig. 16).

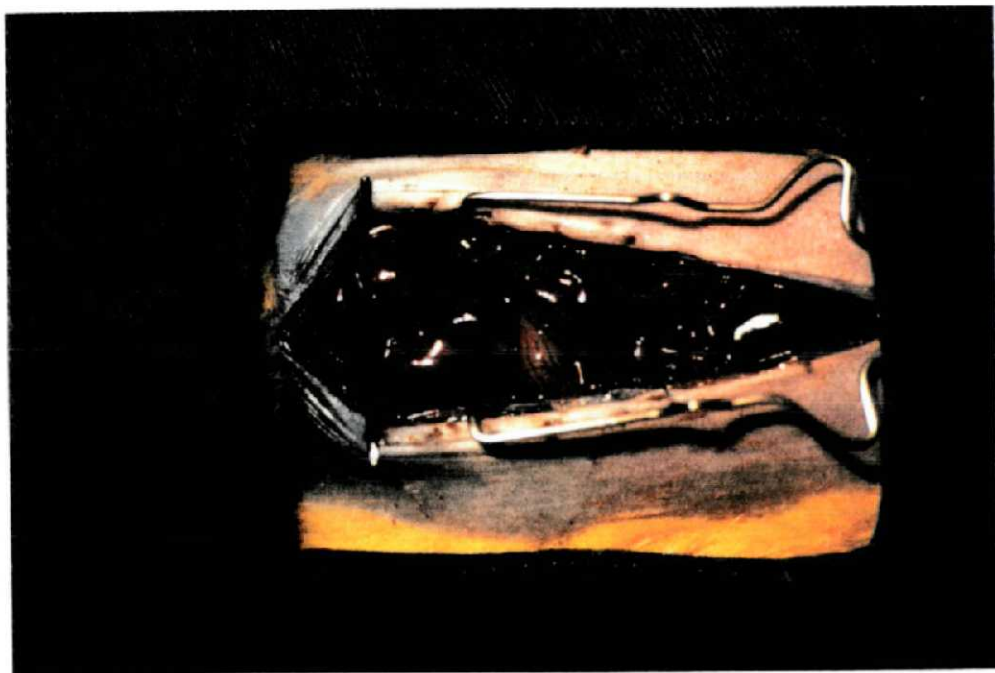


Fig.15 G.E1a. 3º P.O. Aspecto macroscópico

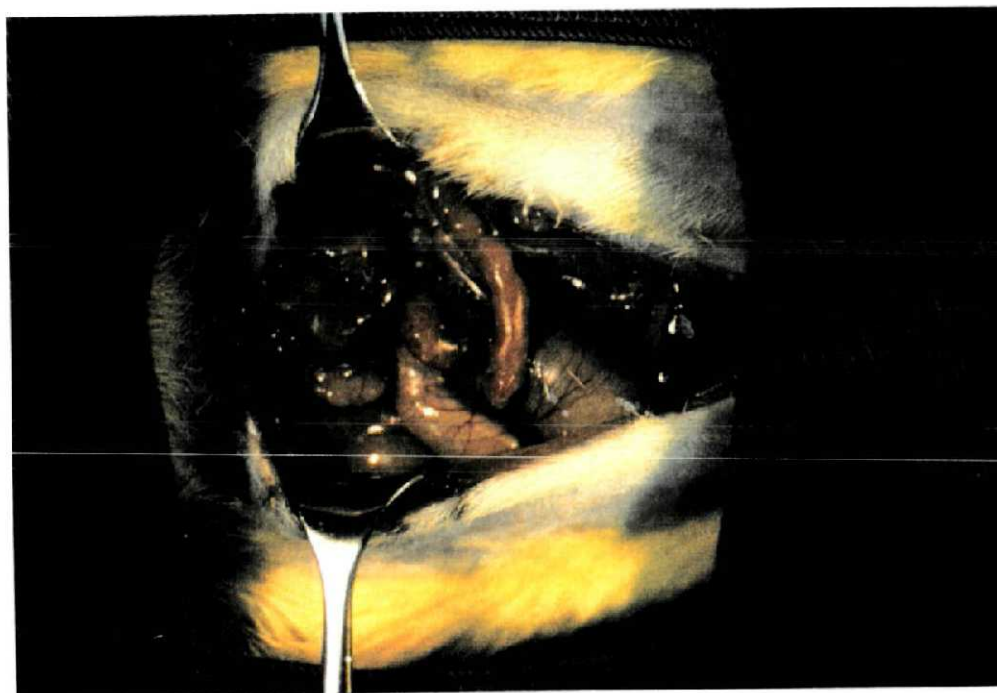


Fig.16 G.E1b. 7.º P.O. Aspecto macroscópico

5.2.1 PRESSÃO DE RUPTURA À INSUFLAÇÃO

A força necessária, para promover a ruptura do segmento, contendo a anastomose, tanto ao 3.º dia de P.O. (grupo E1a) como ao 7.º dia de P.O. (grupo E1b) consta da tabela IV.

Tab.IV Ratos, dos grupos experimento E1a e E1b (glicocorticóide), submetidos à determinação da pressão de ruptura à insuflação, em mmHg, nos segmentos contendo a anastomose

Rato nº	E1a	E1b
1	30	50
2	25	110
3	32	130
4	20	115
5	15	90
6	10	130
7	30	50
8	10	150
9	5	120

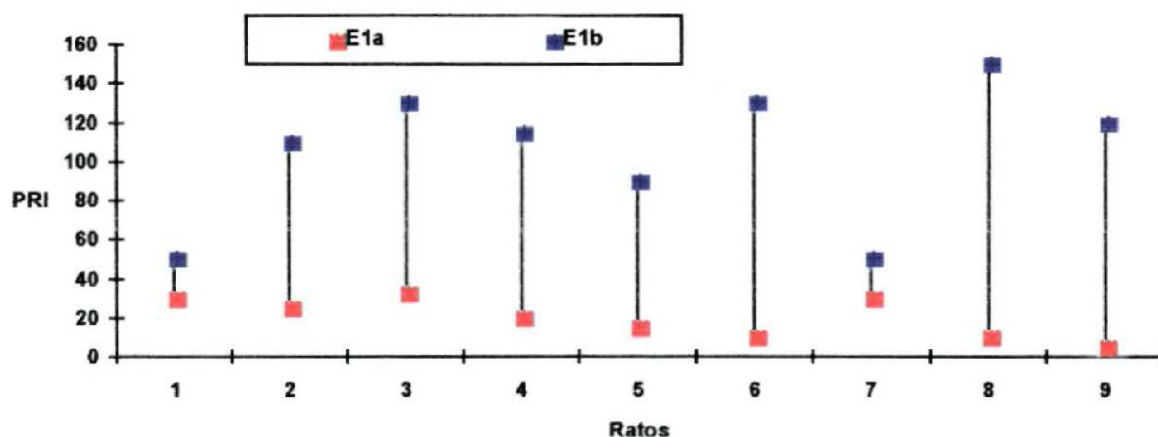


Fig.17 Pressão de ruptura à insuflação (PRI), em mmHg, no grupo experimento (E1a e E1b)

Empregado o teste de **Mann-Whitney**, a pressão de ruptura à insuflação, para **U** calculado=0,0 ($p < 0,001$) resultou do 7.º > 3.º dia de pós-operatório.

5.2.2 CONCENTRAÇÃO DE AZUL DE EVANS

A concentração do corante Azul de Evans, tanto ao 3.º dia (grupo E1a) como ao 7.º dia (grupo E1b) de pós-operatório, consta da tabela V.

Tab.V Ratos, dos grupos experimento E1a e E1b (glicocorticóide), submetidos à determinação da concentração de Azul de Evans, em $\mu\text{g/g}$ de tecido, no segmento contendo a anastomose

Rato nº	E1a	E1b
1	46,83	34,13
2	52,11	22,65
3	42,25	21,31
4	31,51	28,33
5	38,73	23,06
6	28,86	22,02
7	21,82	31,21
8	15,68	12,67
9	22,35	16,96

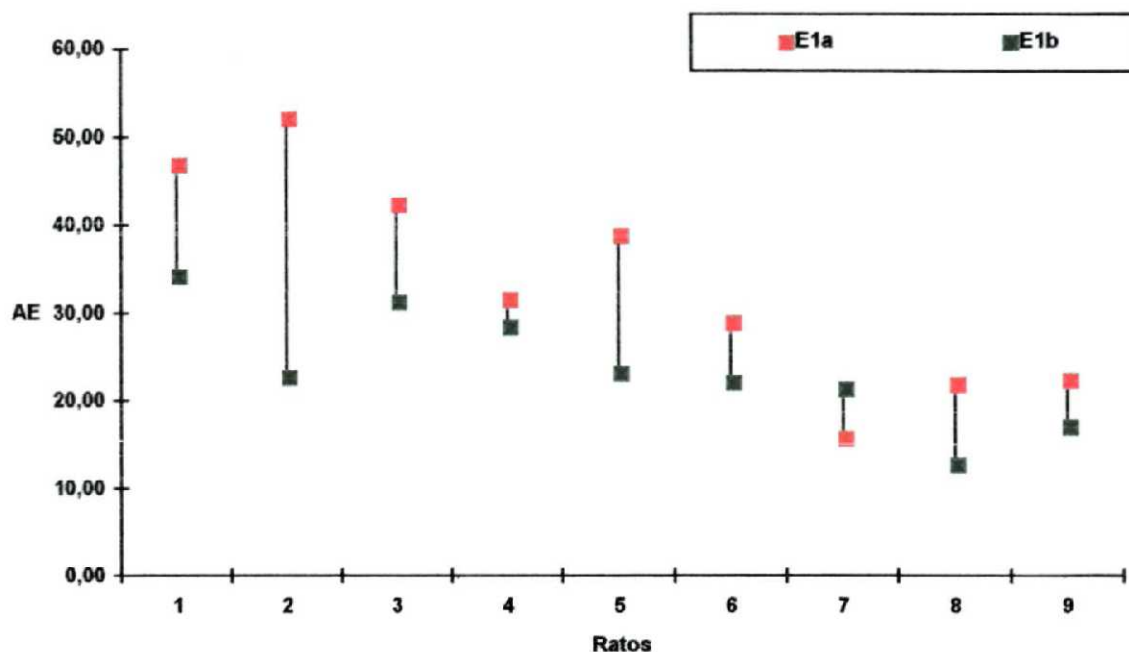


Fig.18 Concentração de Azul de Evans (AE), em $\mu\text{g/g}$ de tecido, no grupo experimento (E1a e E1b)

Utilizado o teste de **Mann-Whitney**, a concentração de Azul de Evans, para U calculado=22, não apresentou diferença significante.

5.3 GRUPO SUBMETIDO À TERAPIA COM DICLOFENACO

Evidenciou-se, na inspeção da cavidade dos animais sacrificados do grupo (E2a), ao 3.º dia de pós-operatório, a presença de aderências frouxas em grande intensidade (Fig.19).

Entretanto, no grupo sacrificado ao 7.º dia de pós-operatório (E2b), as aderências, embora frouxas, se apresentaram com menor intensidade; diferentes, porém firmes em relação ao grupo (E2a) (Fig. 20).



Fig.19 G. E2a. 3.º P.O. Aspecto macroscópico

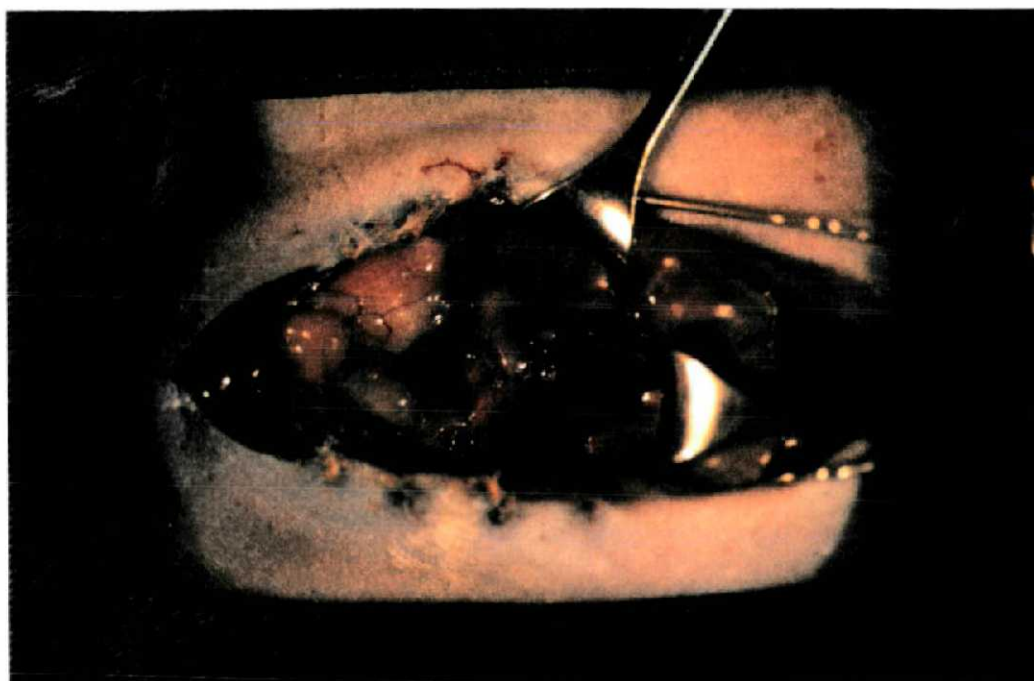


Fig.20 G. E2b. 7.º P.O. Aspecto macroscópico

5.3.1 PRESSÃO DE RUPTURA À INSUFLAÇÃO

A força necessária, para promover a ruptura do segmento, contendo a anastomose, tanto ao 3.º dia (grupo E2a) como ao 7.º dia (grupo E2b) de pós-operatório, consta da tabela VI.

Tab.VI Ratos, dos grupos experimento E2a e E2b (diclofenaco), submetidos à determinação da pressão de ruptura à insuflação, em mmHg, no segmento contendo a anastomose

Rato nº	E2a	E2b
1	60	210
2	10	240
3	0	140
4	0	170
5	20	200
6	0	140
7	10	160
8	20	190
9	20	190
10	40	120
11	70	-

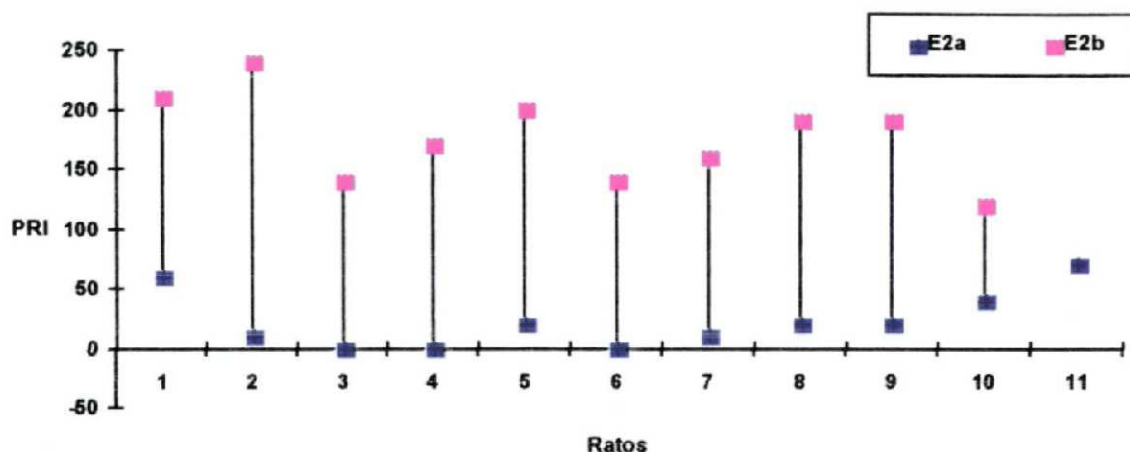


Fig.21 Pressão de ruptura à insuflação (PRI), em mmHg, no grupo experimento (E2a e E2b).

Utilizado o teste **Mann-Whitney**, a pressão de ruptura à insuflação, para U calculado=0,0 ($p < 0,001$) resultou do 7º > 3º dia de pós-operatório.

5.3.2 CONCENTRAÇÃO DE AZUL DE EVANS

A concentração do corante, em $\mu\text{g/g}$ de tecido, tanto ao 3.º dia (grupo E2a) como ao 7.º dia (grupo E2b) de pós-operatório, consta da tabela VII.

Tab.VII Ratos, dos grupos experimento E2a e E2b (diclofenaco), submetidos à determinação da concentração de Azul de Evans, em $\mu\text{g/g}$ de tecido, no segmento contendo anastomose

Rato nº	E2a	E2b
1	88,03	34,54
2	40,93	35,20
3	41,78	27,81
4	54,99	39,08
5	91,24	38,73
6	42,80	32,56
7	52,79	35,73
8	43,13	49,29
9	47,54	53,87
10	52,45	40,49
11	48,75	-

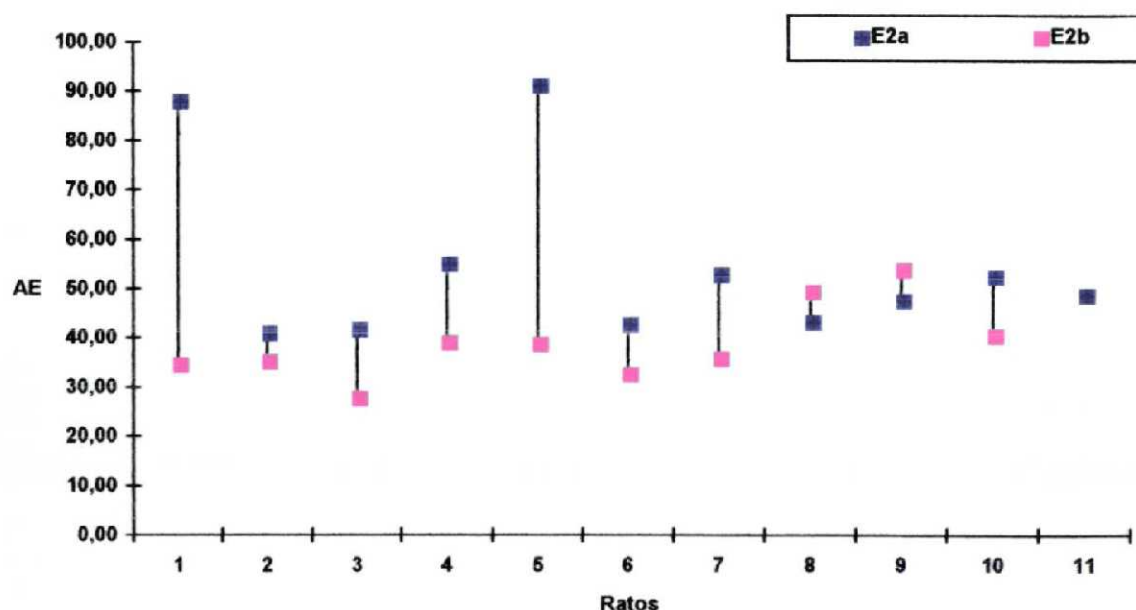


Fig.22 Concentração de Azul de Evans (AE), em $\mu\text{g/g}$ de tecido, grupo experimento (E2a e E2b)

Aplicado o teste de **Mann-Whitney**, a concentração de Azul de Evans, para **U** calculado=14 ($p < 0,001$) resultou do 3.^o>7.^o dia de pós-operatório.

5.4 COMPARAÇÃO ENTRE OS GRUPOS CONTROLE E OS SUBMETIDOS À TERAPIA COM GLICOCORTICÓIDE E DICLOFENACO

5.4.1 PRESSÃO DE RUPTURA À INSUFLAÇÃO

A ruptura do segmento, contendo a anastomose, ocorreu na linha de sutura, tanto no grupo controle (Ca) como no grupo experimento (E1a e E1b), ao 3.^o dia de pós-operatório. (Tab.VIII, Fig.23).

Tab.VIII Ratos, dos grupos controle (Ca) e experimento (E1a e E2a), submetidos à determinação da pressão de ruptura à insuflação (PRI), em mmHg, nos segmentos contendo a anastomose

Rato nº	Ca	E1a	E2a
1	70	30	60
2	30	25	10
3	90	32	0
4	30	20	0
5	80	15	20
6	30	10	0
7	70	30	10
8	40	10	20
9		5	20
10			40
11			70

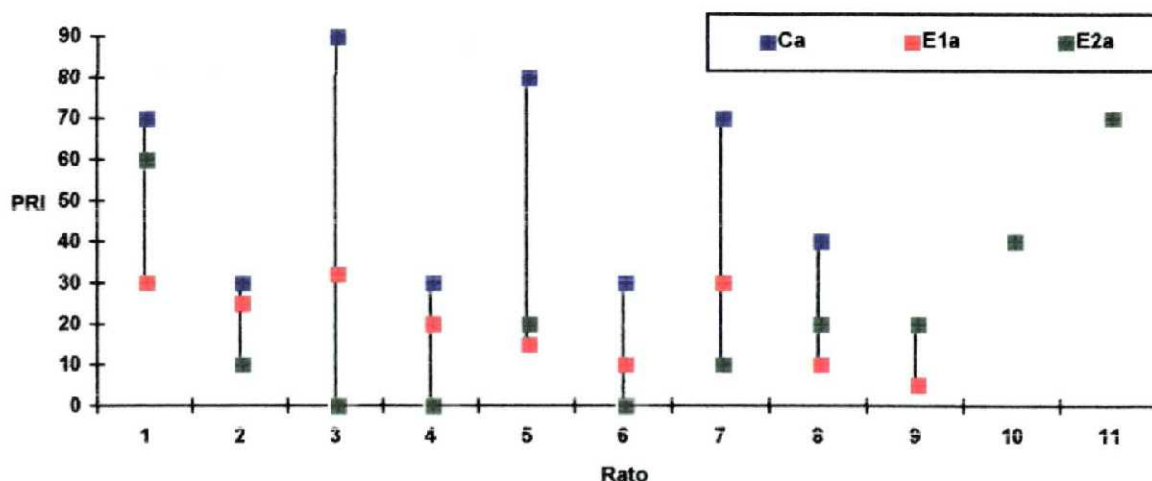


Fig.23 Pressão de ruptura à insuflação (PRI) nos grupos Ca, E1a e E2a (mm Hg) nos segmentos contendo as anastomose

Aplicada a análise de variância por postos de **Kruskal-Wallis**, a pressão de ruptura à insuflação para **H** calculado=9,80 ($p < 0.01$), com teste de comparações múltiplas, demonstrou que $Ca > E1a$ e $E2a$.

Ao 7.º dia, observou-se ruptura fora da linha de anastomose em 7 animais e, na anastomose, em 2 animais (Tab.IX, Fig. 24).

Tab.IX Ratos, dos grupos controle (Cb) e experimento (E1b e E2b), submetidos à determinação da pressão de ruptura à insuflação (PRI), em mmHg, nos segmentos contendo a anastomose

Rato nº	Cb	E1b	E2b
1	130	50	210
2	205	110	240
3	180	130	140
4	170	115	170
5	170	90	200
6	180	130	140
7	190	50	160
8	170	150	190
9	170	120	190
10			120

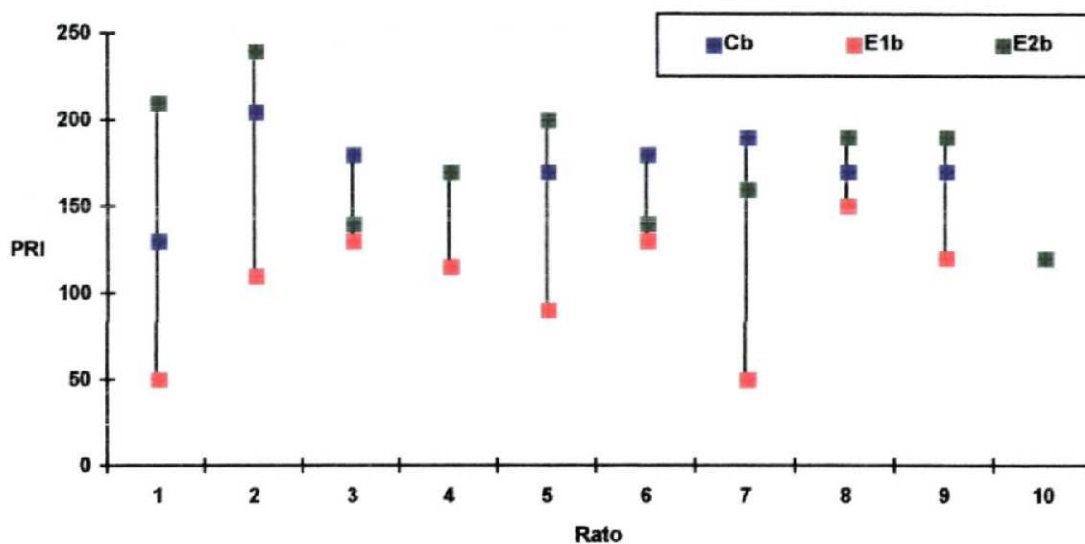


Fig.24 Pressão de ruptura à insuflação (PRI) nos grupos Cb, E1b e E2b (mm Hg), nos segmentos contendo a anastomose

Utilizada a análise de variância por postos de **Kruskal-Wallis**, a pressão de ruptura à insuflação, para **H** calculado=14,72 ($p < 0,001$), com teste de comparações múltiplas, resultou que: $E1b < Cb$ e $E2b$.

5.4.2 CONCENTRAÇÃO DE AZUL DE EVANS

Tab.X Ratos, dos grupos controle (Ca) e experimento (E1a e E2a), submetidos à determinação da concentração de Azul de Evans (AE), em $\mu\text{g/g}$ de tecido, nos segmentos contendo a anastomose

Rato nº	Ca	E1a	E2a
1	63,38	46,83	88,03
2	66,72	52,11	40,93
3	64,79	42,25	91,24
4	49,29	31,51	54,99
5	33,79	38,73	41,78
6	20,77	28,86	42,80
7	28,34	15,68	52,79
8	35,03	21,82	43,13
9		22,35	47,54
10			52,25
11			48,75

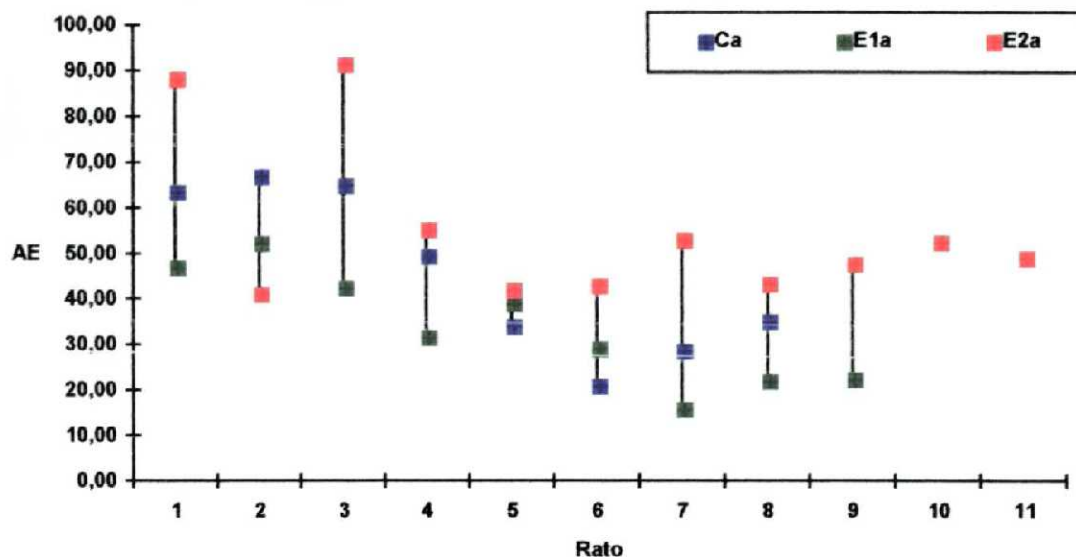


Fig.25 Concentração de Azul de Evans nos grupos Ca, E1a e E2a ($\mu\text{g/g}$), nos segmentos contendo a anastomose

Aplicada a análise de variância por postos de **Kruskal-Wallis**, a concentração de Azul de Evans, para H calculado=7,35 ($p < 0,05$), com teste de comparações múltiplas, demonstrou que: $\text{Ca e E1a} < \text{E2a}$.

Tab.XI Ratos, dos grupos controle (Cb) e experimento (E1b e E2b), submetidos à determinação da concentração de Azul de Evans (AE), em $\mu\text{g/g}$ de tecido, nos segmentos contendo a anastomose

Rato nº	Cb	E1b	E2b
1	44,18	22,65	34,54
2	48,75	28,33	35,20
3	36,60	31,21	27,81
4	35,32	23,06	39,08
5	31,54	34,13	38,73
6	56,30	22,02	32,56
7	59,24	21,31	35,73
8	28,80	12,67	49,29
9	42,64	16,96	53,87
			40,49

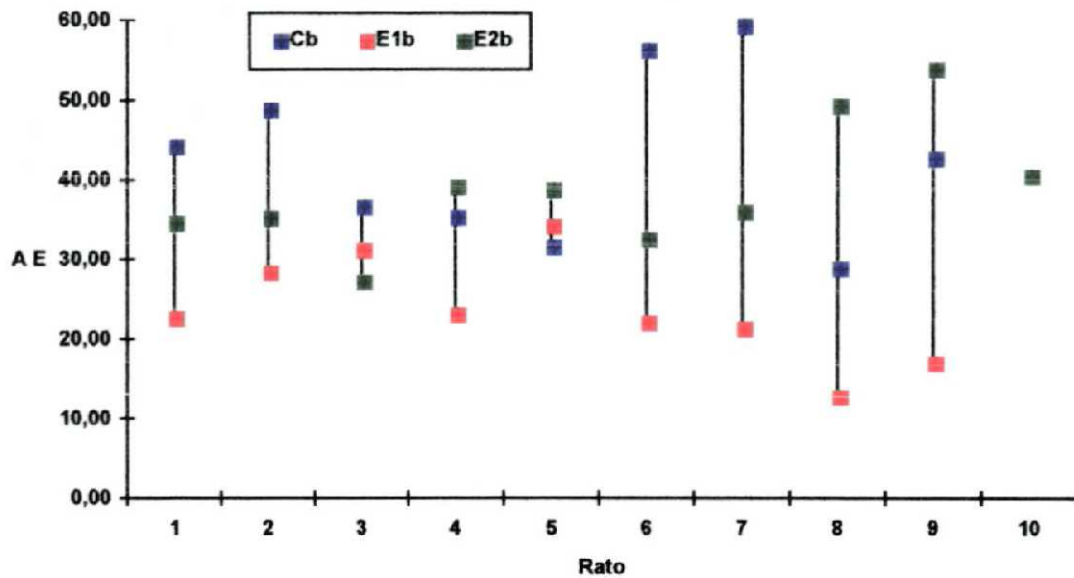


Fig.26 Concentração de Azul de Evans (AE) nos grupos Cb, E1b e E2b, em $\mu\text{g/g}$ de tecido, nos segmentos contendo a anastomose

Utilizada a análise de variância, por postos de **Kruskal-Wallis**, a concentração do Azul de Evans, para H calculado=15,24 ($p < 0,001$), com teste de comparações múltiplas, resultou que: $E1b < Cb$ e $E2b$.

6 DISCUSSÃO

No presente estudo, utilizou-se como animal de experimentação o rato da linhagem Wistar-TECPAR por: apresentar baixo custo; ser de fácil obtenção e manuseio; necessitar de pequena área de confinamento e permitir o uso de grande número de animais. Além disso, na literatura existem modelos experimentais definidos para avaliação de cicatrização colônica em ratos (2,3,5,12,18,28,33,35,43,44,46,52). Outro fator determinante desta opção deve-se a CORVALÁN (1994) e HAJAR (1994) por terem avaliado, respectivamente, a concentração plasmática e tissular do corante Azul de Evans, em cólon de ratos Wistar, e a permeabilidade vascular na colite induzida com ácido acético a 10% em ratos, também através do uso do corante.

Revisou-se a literatura e não se encontrou relatos da utilização do Azul de Evans, na avaliação do componente vascular da cicatrização colônica, em ratos, após a terapia com antiinflamatórios.

Optou-se por este método para o estudo do componente vascular da cicatrização colônica em ratos, com bases na capacidade do Azul de Evans em se combinar à albumina plasmática, formando um complexo capaz de ultrapassar a barreira endotelial, durante as alterações de permeabilidade vascular no processo inflamatório, como demonstraram os estudos de STEELE e WILHEM (1966), OBATA, KOBAYASHI, OKADA, NAKAGAWA, TERAWAKI e AISHITA (1992) e pela avaliação da concentração deste corante, em diversos tecidos, realizada por CASTER, SIMON e ARMSTRONG (1955).

A via de administração do corante, o período para a retirada das amostras e o método para a determinação do Azul de Evans, aqui utilizados, foram preconizados por CORVALÁN (1994).

O processo cicatricial da anastomose colônica foi avaliado indiretamente, pela mensuração de pressão de ruptura do segmento intestinal à insuflação. É significativo o fato de este método de avaliação ser de fácil execução, baixo custo e bastante referido na literatura (2,11,17,33,42,43).

De acordo com CRONIN, JACKSON e DUNPHY (1968), a quantidade de colágeno na cicatrização da anastomose colônica correlaciona-se com a pressão de ruptura do segmento intestinal à insuflação.

A escolha dos fármacos utilizados neste estudo justificou-se pelo fato de seus efeitos, sobre a cicatrização colônica, estarem pouco documentados na literatura (2,17,42,43,51). Há referência apenas da ação dos glicocorticóides e dos AINHs sobre a cicatrização de pele (7,9,12,13,14,15,16,19,37,38,44,45,47).

Ao 3.º dia de pós-operatório, constatou-se em todos os grupos, ao avaliar-se a cavidade abdominal, bloqueio inflamatório com participação de epíplon, vesícula seminal e alças delgadas. Enquanto que, ao 7.º dia de pós-operatório, os animais apresentaram bloqueio inflamatório de menor intensidade e de aspecto mais firme em todos os grupos.

Neste estudo experimental, não foram observados macroscopicamente abscessos perianastomóticos, o que está de acordo com o relato de MASTBOOM, HENDRIKS, ELTEREN e BOER (1991).

Ao contrário dos experimentos descritos por outros autores, deiscências de anastomoses e óbitos não foram observadas no presente trabalho (43,52). Acredita-se que esta resposta se deva ao fato de que elevadas doses de medicamento, capazes de causar graves intoxicações, não foram utilizadas neste estudo e, também, devido

ao uso de técnica cirúrgica precisa, a fim de reduzir o trauma cirúrgico, promovendo melhor cicatrização.

Apurados os resultados da pressão de ruptura à insuflação (PRI), aos 3.º e 7.º dias de pós-operatório, e analisados os valores pelo teste de **Mann-Whitney**, observaram-se diferenças significantes, tanto no grupo controle quanto para os grupos experimento. Os valores, ao 7.º dia pós-operatório, foram significativamente maiores do que os ao 3.º dia de pós-operatório, o que está de acordo com a literatura^(17,32). Entretanto SOUSA, SOARES e APRILLI, em estudo experimental em coelhos, concluíram que o diclofenaco reduz a tensão de ruptura por estiramento da anastomose colônica, ao 7.º dia de pós-operatório. Todavia, BRASKÉN (1991) demonstrou que até o 3.º dia de pós-operatório, as fibras colágenas não se acumulam dentro da linha de sutura, havendo apenas cicatrização lenta da mucosa. Essa condição sugere que a estabilidade da anastomose colônica, neste período, deve-se à presença apenas do fio de sutura, que por sua vez explica sua maior fragilidade, ocorrendo sempre a ruptura neste local. De outro modo, ao 7.º dia de pós-operatório, as alterações no metabolismo do colágeno garantem a resistência da sutura, de maneira que a ruptura do segmento colônico ocorra quase sempre fora da linha de anastomose.

Para os valores da concentração de Azul de Evans (AE), o mesmo teste mostrou diferença significativa apenas para o grupo experimento que recebeu diclofenaco, evidenciando que os valores ao 3.º dia foram significativamente maiores do que ao 7.º dia. Esse fato se caracteriza como resposta que se pode explicar pela forma de ação do diclofenaco na cadeia do ácido araquidônico, por ser um inibidor da ciclooxigenase. Este fato resulta na não produção de prostaglandinas, fator de

possível aumento da formação de leucotrienos com aumento da permeabilidade capilar. Desta forma se explica a maior presença de corante na região da anastomose, como ficou demonstrado ao 3.º dia de P.O.⁽²¹⁾.

Observados os resultados da pressão de ruptura à insuflação (PRI), ao comparar os três grupos, a análise de variância de **Kruskal-Wallis** mostrou que os valores do grupo controle foram significativamente maiores do que os dos grupos experimento, ao 3.º dia pós-operatório. Este fato coincidiu com os experimentos de ASZODI e PONSKI (1984), quando estudaram os efeitos dos glicocorticóides na cicatrização, mas esses estudos não corresponderam aos demais encontrados na literatura^(17,43). O grupo experimento que recebeu diclofenaco apresentou também PRI significativamente menor que o grupo controle, durante o mesmo período de observação. A mesma comparação, ao 7.º dia, mostrou que os valores do grupo experimento, que recebeu glicocorticóide, foram significativamente menores que os do grupo controle e do grupo experimento, que recebeu diclofenaco, coincidindo com os resultados obtidos por FURST, STROMBERG, BLATHFORD, CHRISTENSEN e THORSON (1994), ao realizarem estudo com glicocorticóide.

No grupo que recebeu glicocorticóide, houve ruptura fora da linha de anastomose em 7 animais e, em 2 animais, ocorreu ruptura na anastomose. Sugere-se que este fato se deva a um retardo mais acentuado na fase inflamatória do processo cicatricial.

Observados os resultados da concentração de Azul de Evans, ao 3.º dia, os valores do grupo experimento, que recebeu glicocorticóide, foram significativamente menores do que os do grupo que recebeu diclofenaco. Com relação ao controle, os valores foram menores, porém sem serem significantes. Ao 7.º dia, esses foram,

também, significativamente menores do que os do grupo experimento, que recebeu diclofenaco, e também menores que os do controle. A menor concentração do corante, no grupo que recebeu glicocorticóide, sugeriu a presença de alterações vasculares mais acentuadas em relação aos demais grupos, o que não foi evidenciado por ASZODI e PONSKI (1984), através de microangiografia. Supõe-se que o diclofenaco atue sobre a fase inflamatória da cicatrização, pois interfere na vasodilatação e altera a permeabilidade vascular (21). Observando-se contudo que na literatura não foram encontrados relatos que servissem de parâmetros para comparações.

Essas razões são bastantes para acreditar-se que a atuação do diclofenaco ocorra devida a atuação das duas drogas em vias diferentes. Pois, enquanto o glicocorticóide interfere na cadeia do ácido araquidônico, agindo sobre a fosfolipase A2, fator de diminuição à formação de prostaglandinas e leucotrienos, o diclofenaco interfere na cicloxigenase, alterando apenas a formação de prostaglandinas(21, 22,23,33,35,36,40,53).

Com efeito, norteados pelos resultados obtidos, pode-se afirmar que o glicocorticóide interfere com maior intensidade na fase inflamatória da cicatrização do que o diclofenaco, em virtude de sua ação farmacológica, alterando a distribuição dos leucócitos periféricos, inibindo a função de macrófagos e leucócitos nos tecidos e atuando sobre a fosfolipase A2. O bloqueio desta enzima faz com que não ocorra a formação de endoperóxidos cíclicos e leucotrienos, razão de não haver dilatação e aumento da permeabilidade capilar, enquanto que o diclofenaco interfere apenas na formação de prostaglandinas, agindo apenas na constrição capilar(1,16,21,22,24,33,35,36,37,39,40,53,54). Tal hipótese fica reforçada pela comparação da

concentração tissular do Azul de Evans e da pressão de ruptura à insuflação, nos segmentos colônicos dos grupos submetidos à terapia medicamentosa.

Como perspectivas futuras há a possibilidade de estudar os efeitos destas drogas administradas durante todas as fases do processo de cicatrização, bem como a associação de outras variáveis, como a infecção e choque.

7 CONCLUSÃO

7. CONCLUSÃO

Pelo estudo dos efeitos da hidrocortisona e do diclofenaco, na fase inflamatória da cicatrização de anastomoses colônicas de ratos, julga-se poder concluir que:

1 A hidrocortisona proporcionou acentuada diminuição da concentração tissular do corante Azul de Evans e da pressão de ruptura à insuflação, no segmento anastomótico, ao 3.º e 7.º dias de P.O., o que evidenciou sua interferência na fase inflamatória da cicatrização colônica em ratos.

2 O diclofenaco potássico aumenta a concentração tissular do corante Azul de Evans e reduz a força de ruptura à insuflação do segmento, que contém a anastomose ao 3.º dia de P.O. Ao 7.º dia, nenhuma alteração foi observada, o que demonstra menor efeito deletério dessa droga, na fase inflamatória da cicatrização colônica em ratos.

3 A pressão de ruptura à insuflação foi maior ao 7.º dia que ao 3.º dia, em todos os grupos.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1 ABRAMSON, S.; EDÉLSON, H.; KAPLAN, H.; GIVEN, W.; WEISSMAN, G. The inactivation of the polymorphonuclear leukocyte by nonsteroidal anti-inflammatory drugs. **Inflammation.**, 8(suppl), p. 103-8, 1984.
- 2 ASZODI, A.; PONSKY, J.L. Effects of corticosteroid on the healing bowel anastomosis. **Am Surg.** v.50, p. 546-8, 1984.
- 3 BALLANTYNE, G.H. The experimental basis of intestinal suturing: effect of surgical technique, inflammation, and infection on enteric wound healing. **Dis Colon Rectum.**, v.27, p.61- 71, 1984.
- 4 BERNAUER, W. Effects of glucocorticosteroids in rats with acute myocardial infarction. **Arch Int Pharmacodyn Ther.**, Ghent, v.244, p. 86-99, 1980.
- 5 BRASKÉN, P. Healing of experimental colon anastomosis. **Eur J Surg.**, Turku, Suppl. 556, 1991.
- 6 BRENNAN, S.S; FOSTER, M.E.; MORGAN, A.; LEAPER, D.J. Prostaglandins in colonic anastomotic healing. **Dis Colon Rectum.**, v.27, p.551-4, 1980.
- 7 CARRICO, T.J.; MEHRHOF, A.I.; COHEN, K. , Biology of wound healing. **Surg Clin N Am.**, v. 64., p.721-33, 1986.
- 8 CASTER, W.O. , et.al. Evans Blue in tissues of the rat. **Am J Physiol.**, Bethesda, v.183,p.317-21, 1955.
- 9 COLE, j.W.; ORBISON, J.L.; HOLDEN, W.D.; HANCOCK, T.J.; LINDSAY, J.F. A histological study of the effect of cortisone on wounds healing per primam. **Surg Gyn Obst.**, p. 321-6, 1951.
- 10 CORVALÁN, A.C.B. **Aplicação do micrométodo espectrofotocolorimétrico para a determinação de Azul de Evans em plasma e tecido colônicos de ratos Wistar.** Curitiba, 1994, 70p. Dissertação (Mestrado) Universidade Federal do Paraná.
- 11 CRONIN, K.; JACKSON, D.S.; DUNPHY, J.E., Changing bursting strength and collagen content of the healing colon. **Surg Gyn Obst.** p.747-53, 1968.
- 12 DIWAN, P.V.; KULKARNI, D.R. Effects of nonsteroidal antiinflammatory agents (NSAIDs) on wound healing. **Indian J Exp Biol.**, v.24, p. 640-43, October, 1986.
- 13 DOSTAL, G.H., GAMELLI, R.L. Differential effect of corticosteroids on wound disruption strength in mice. **Arch Surg** . v. 125, p. 636-40, 1990.
- 14 EHRLICH , H. P., HUNT, T.K. Effects of cortisone and vitamin A on wound healing, **Ann Surg.** v. 167, p. 324-8, 1968.

- 15 EHRlich , H. P., HUNT, T.K. Effects of cortisone and anabolic steroids on the tensile strength of healing wounds. **Ann Surg** . v.170, p.203-6, 1969.
- 16 FANG, C; ALEXANDER, J.W.; MACMILLAN, BG.; AUSTIN, LS. Failure of topical prostaglandin inhibitors to improve wound healing following deep partial-thickness burns. **J Trauma.**, v.23, p.300-4, 1983.
- 17 FURST,M.B.; STROMBERG,B.V.; BLATCHFORD,G.J.; CHRISTENSEN,M.A.; THORSON,A.G.,Colonic anastomoses: bursting strength after corticosteoid treatment. **Dis Colon Rectum.**, v.37, p.12-5, 1994.
- 18 GABELLA, G. The cross-ply arrangement of collagen fibres in the submucosa of the mammalian small intestine. **Cell Tissue Res.**, v.248, pag. 491-7, 1987.
- 19 GADACZ, T.; MENGUY, R.B. Effects of anti-inflammatory drug oxyphenbutazone on the rate of wound healing and the biochemical composition of wound tissue. **Surg Forum.**, v.18, p.58-60, 1967.
- 20 GARDNER, M. J., Micromethod for the analysis of Evans Blue in plasma using ion pair high - performance liquid chromatography. **J Chromatogr.** v.381, p. 295-303. 1986.
- 21 GOODMAN e GILMAN, Alfred. **As Bases Farmacológicas da Terapeutica** 8.^a edição, Rio de Janeiro: Guanabara Koogan S.A., 1991 p. 377,440,951-9.
- 22 GOODWIN, J.S. Immunologic effects of nonsteroidal antiinflammatory drugs. **Am Med.**, v.77, p. 7-15, 1984.
- 23 GOZZANI, J.L.; TARDELLI, M.A. **Uso de antiinflamatórios não hormonais em pós-operatório.** São Paulo, 1991. 26p. Dissertação (Mestrado)-Faculdade de Medicina Universidade de São Paulo.
- 24 GREEN, T.P.; JOHNSON, D.E.; MARCHESSAULT, R.P; GATTO, C.W. Transvascular flux and tissue accrual of Evans Blue: Effects of endotoxin and histamine. **J Lab Clin Med.**, Saint louis, v.111, p. 173-83, 1983.
- 25 GUYTON, Arthur C. , **Tratado de Fisiologia Médica** 7.^a edição, Rio de Janeiro: Guanabara Koogan S.A, 1989 45p.
- 26 HAAS, D.A.; NAKANISHI, O.; MACMILLAN, R.E.; JORDAN, R.C.; HU, J.W. Development of an orofacial model of acute inflammation in the rat. **Arch Oral Biol.**, Oxford, v.37,p. 417-22, 1992.
- 27 HAJAR, N. **O uso do Azul de Evans para avaliar a permeabilidade vascular na colite induzida por ácido acético a 10% em ratos Wistar.** Curitiba, 1994, 73p. Dissertação (Mestrado) Universidade Federal do Paraná.

- 28 HENDRIKS, T.; VEREECKEN, T.H.; HESP, W.L.; SCHILLINGS, P.H.; DE BOER, H.H. Loss of collagen from experimental intestinal anastomoses: early events. **Exp Mol Pathol.**, v.42, p. 411-8, 1985.
- 29 HÖGSTROM ,H.; HAGLUND, U. Postoperatie decrease in suture holding capacity in laparotomy wounds and anastomoses. **Acta Chir Scand.**, v.151, p. 533-5, 1985.
- 30 HORWITZ, A.L.; HANCE, A.J.; CRYSTAL, R.G. Granulocyte collagenase: selective digestion of type I relative to type III collagen. **Proc Natl Acad Sci USA.**, v.1977, p. 897-901, 1977.
- 31 HUNT, T.K. et al. Colon repair: the collagenous equilibrium. In: Hunt, T.K., ed. **Wound healing and wound infection.**, New York: Appelton-Century-Crofts, p. 153-9, 1980.
- 32 IRVIN, T.T., GOLIGHER, J.K. Aetiology of disruption of intestinal anastomoses. **Brit J Surg.**, v. 60, p. 461-4, 1973.
- 33 JIBORN, H.; AHONEN,J.; ZEDERFELDT,B. Healing of experimental colonic anastomoses. **Am J Surg.**, v. 136, p. 587-94, 1978.
- 34 KATZUNG, Betram G. , **Basic e Clinical Pharmacology** 6.^a edition Chicago: Appleton. p. 191-202
- 35 KORUDA, M.J.; ROLANDELLI, R.H. Current research review experimental studies on the healing of colonic anastomoses. **J Surg Res.**, v.48, p. 504-15, 1990.
- 36 KU, E.C.; WASVARY, J.M.; CASH, W.D. Diclofenac sodium (GP 45840, Voltarem), a potent inhibitor of prostaglandin synthetase. **Biochem Pharmacol.**, v.24,p.641-3, 1984.
- 37 KU, E.C.; LEE,W.; KOTHARI,H.V.; SCHOLER,D.W. Diclofenac sodium on the arachidonic acid cascade. **Am J Med.**, v. 80, p.18-23, 1986.
- 38 LEE, K.H. Studies on the mechanism of action of salicylates. III. Effect of vitamin a on the wound healing retardation action of aspirin. **J Pharm Sci.**, v.57, p.1238-40, 1968.
- 39 LEE, K.H.; TONG, T.G. Mechanism of action of retinoic acid on wound healing retardation action of a few anti-inflammatory agents. **J Pharm Sci.**, v.59, p.1036-1038, 1970.
- 40 LEVINSON, Warren E. ; JAWETZ, E., **Medical Microbiology e Immunology** 3.^a edition Chicago: Appleton e Lange, 1994 34p.

- 41 LEWIS, Jack. **Estatística Aplicada a Ciências Humanas**. 2º edição. Editora Harper & Row do Brasil Ltda, 1985, pg 233-241 e 244-261.
- 42 MALMSTEN, C.L., Prostaglandins, thromboxanis, and leukotrienes in inflammation. **Am J Med.**, v.80, p. 11-5, 1968.
- 43 MASTBOOM, W.J.B.; HENDRIKS,T; van ELTEREN,P.h.; BOER,H.H.M. The Influence of NSAIDs on experimental intestinal anastomose. **Dis Colon Rectum.**, Nijmegen, v. 34, p. 236-43, March, 1991.
- 44 MASTBOOM, W.J.B.; HENDRIKS,T; MAN,B.M.; BOER,H.H.M. Influence of methylprednisolone on the healing of intestinal anastomoses in rats. **Br J Surg.** v. 78, p. 54-6, 1991.
- 45 MCNAMARA, J.J.; LAMBORN,P.J.; MILLS,D.; AABY,G.V. Effect of short-term pharmacologic doses of adrenocorticosteroid therapy on wound healing. **Ann Surg.**, v.170, p.199-202, 1969.
- 46 MORGENSTEN,L.;YAMAKAWA,T.;BEN-SHOSHAN,M.;LIPPMAN,H. Anastomotic leakage after low colonic anastomosis. **Am J Surg.**, v.123, p.104-8. 1972.
- 47 OBATA,T.;KOBAYASHI,T;OKADA,Y.;NAKAGAWA,N.;TERAWAKI,T.; AISHITA,H. Effect of a peptide leukotriene antagonist, Ono-1078 on antigen-induced airway microvascular leakage in actively sensitized Guinea pigs. **Life Sciences**, Oxford, v.51, p.1577-83, 1992.
- 48 REHDER, E., ENQUIST,I.F., Species differences in response to cortisone in wounded animals. **Arch Surg.**, v. 94, p. 74-8, 1967.
- 49 ROBBINS, Stanley L. et cols. , **Patologia Estrutural e Funcional** 4ª edição Rio de Janeiro: Guanabara Koogan S.S, 1991 34p.
- 50 SALLMANN, A.R. The history of diclofenac. **Am J Med.**, v.80, p.29-33,1986.
- 51 SCHROCK, T.R.; DEVENEY,C.W.; DUNPHY,J.E. Factors contributing to leakage of colonic anastomoses. **Ann Surg.**, v. 177, p. 513-8, 1972.
- 52 SOUZA, J.B.; SOARES,E.G.; APRILLI,F. Effects of diclofenac sodium on intestinal anastomotic healing. **Dis Colon Rectum.**, Ribeirão Preto, v.34, n.7, p. 613-17, Jul. 1992.
- 53 STEELE, R.H., WILHELM, D.L., The inflammatory reaction in chemical injury.I. Increased vascular permeability and erythema induced by various chemicals. **Br Jf Exp Path.**, London, v.47, p.612-23, 1966.
- 54 TODD, P.A.; SORKIN, E.M. Diclofenac sodium: a reappraisal of its pharmacodynamic and pharmacokinetic properties, and therapeutic efficacy. **Drugs.**, v.35, p.244-85, 1988.

- 55 WERB, Z.; GORDON, S. Secretion of a specific collagenase by stimulated macrophages. **J Exp Med.**, v.142, p. 346-60, 1975.
- 56 WISE, L.; McALISTER, W.; STEIN, T.; SCHUCK, P. Studies on the healing of anastomosis of small and large intestines. **Surg Gyn Obst.**, Saint Louis, v.141, p. 190-4, Aug., 1975.