

EFEITOS DO DEFLAZACORT NA CICATRIZAÇÃO DE ANASTOMOSES COLÔNICAS: ESTUDO EXPERIMENTAL EM RATOS

MAURO TOLEDO SIRIMARCO - TSBCP
SÉRGIO ZUCOLOTO
FRANCISCO APRILLI - TSBCP

SIRIMARCO MT, ZUCOLOTO S & APRILLI F - Efeitos do deflazacort na cicatrização de anastomoses colônicas: estudo experimental em ratos. *Rev bras Coloproct*, 1999; 19(1): 35-51

RESUMO: Com o objetivo de avaliar os possíveis efeitos do corticosteróide deflazacort sobre a cicatrização de anastomoses no intestino grosso, sessenta ratos foram estudados. Trinta ratos receberam, por gavagem, 1,5 mg/kg/dia da droga deflazacort desde sete dias antes da cirurgia até a data do sacrifício; e trinta ratos do grupo controle receberam solução de cloreto de sódio a 0,9%, em igual volume, durante o mesmo período. Os animais foram submetidos a ressecção segmentar do cólon distal e reconstituição do trânsito intestinal por anastomose término-terminal, em plano único, com pontos separados invaginantes de polipropileno 6-0. De acordo com o sorteio do subgrupo a que pertenciam, os animais foram sacrificados com três, sete e quatorze dias. O peso corporal dos animais, a evolução clínica, a cavidade abdominal, os aspectos macro e microscópicos da anastomose e a concentração tecidual de hidroxiprolina foram observados. A droga deflazacort levou à diminuição do peso corporal dos animais no período pré-operatório e no décimo quarto dia pós-operatório. A avaliação histopatológica mostrou que o deflazacort induziu uma resposta inflamatória exsudativa menos intensa e retardou a fase reparadora do processo cicatricial. Porém, a concentração de hidroxiprolina nas anastomoses colônicas dos ratos não se alterou sob a ação do deflazacort, não tendo ocorrido deiscências anastomóticas.

UNITERMOS: cicatrização intestinal; anastomoses; corticosteróides

A deiscência de anastomose tem sido apontada como a principal complicação das cirurgias do intestino grosso, uma vez que está acompanhada de elevada morbi-mortalidade (Beahrs, 1967; Goligher et al., 1970a; Debas & Thomson, 1972; Morgenstern et al., 1972; Fielding et al., 1980).

Pode ocorrer deiscência mesmo quando a anastomose é feita com todo rigor técnico, uma vez que fatores locais e sistêmicos são também considerados importantes quando se analisa a cicatrização (Hawley, 1973).

A técnica cirúrgica

Halsted (1887) afirmou que a submucosa é a camada intestinal mais importante a ser incluída na sutura. Este princípio continua aceito como verdadeiro por ser a submucosa a camada que possui maior teor de colágeno, proteína que confere sustentação à parede intestinal e que é fundamental no processo cicatricial (Lord et al., 1977; Klopper, 1986). Por conseguinte, qualquer que seja a técnica cirúrgica utilizada, o cirurgião deverá incluir a camada submucosa na sutura intestinal.

Diferentes procedimentos para a confecção de anastomoses intestinais têm sido propostos, fazendo surgir novos materiais e tecnologia. Em 1923, Kerr relatou que, àquela época, já haviam sido descritos cerca de duzentos e cinquenta diferentes métodos de sutura intestinal.

As variações técnicas utilizadas pelos cirurgiões na execução das anastomoses intestinais são objeto de pesquisas experimentais no ser humano e em animais, sobretudo abordando os seguintes aspectos:

1) *Técnica fechada (asséptica) e técnica aberta* (Halsted, 1887; Parker & Kerr, 1908; Halsted, 1922; Kerr, 1923; Gambee, 1951; Hamilton, 1967);

2) *Aproximação das bordas intestinais em eversão, inversão ou alinhadas* (Getzen, 1966; Getzen et al., 1966; Ravitch et al., 1967; Canalis & Ravitch, 1968; Trueblood et al., 1969; Rusca et al., 1969; Carril, 1970; Goligher et al., 1970b; Abramowitz & Butcher Jr., 1971; Irvin & Edwards, 1973; Necula & Mandache, 1974; Jennings Jr. et al., 1977; Ravitch et al., 1981);

3) *Anastomoses em plano único e em dois planos de sutura* (Gorodiche & Jourdan, 1951; Gambee et al., 1956; Abramowitz & McAlister, 1969; Guimarães, 1972; Irvin et al., 1973; Aprilli, 1975; Aprilli et al., 1975; Everett, 1975; Matheson & Irving, 1975; Mantovani et al., 1976; Leonardi et al., 1977; Mantovani et al., 1977; Goligher et al., 1977; Jonsell & Edelmann, 1978);

4) *Suturas contínuas versus pontos separados* (Kiss et al., 1976; Jiborn et al., 1978a; Jiborn et al., 1980b; Bailey et al., 1981; Bailey et al., 1984; Harder & Vogelbach, 1988; Skakun et al., 1988; Rocha, 1989);

5) *Anastomoses com grampeadores* (Nance, 1979; Dunn et al., 1980; Overy et al., 1980; Beart & Kelly, 1981; Bubrick

et al., 1981; Polglase et al., 1981; Ravitch et al., 1981; Scher et al., 1982; Waxman, 1983);

6) *Diversidade de materiais empregados nas suturas* (Cowley, 1969; Chaib et al., 1972; Rosenberg et al., 1973; Hastings et al., 1975; Clark et al., 1977; Deveney & Way, 1977; Fontaine & Dudley, 1978; Lord et al., 1978; Allen *apud* Bailey et al., 1984; Bornemissza et al., 1979; Motson et al., 1984).

A técnica fechada (asséptica) para confecção de anastomoses nunca alcançou popularidade. Seus defensores afirmavam que as deiscências resultavam de contaminação bacteriana que ocorreria durante a construção de anastomoses pela técnica aberta. Entretanto, não há evidências para sugerir que a técnica fechada reduz a incidência de deiscência de anastomoses (Wise comentando Ravitch et al., 1981).

Há uma menor incidência de vazamentos nas anastomoses confeccionadas com as bordas invertidas comparadas com as evertidas (Ravo, 1988). Ocorre também uma maior propensão às aderências peri-anastomóticas quando há eversão das bordas (Ballantyne, 1984). Porém, Irvin & Edwards (1973) não encontraram diferenças no teor de colágeno nas anastomoses do intestino grosso de coelhos, quando compararam as técnicas em eversão e inversão das bordas; embora tivessem concluído que as anastomoses em eversão apresentaram um resultado pior em relação à força de ruptura, incidência de vazamentos e aspectos histológicos da cicatrização.

Estudos sobre o número de planos de sutura nas anastomoses intestinais têm apresentado resultados conflitantes. Proponentes da sutura em dois planos argumentam que o segundo plano propicia maior segurança às anastomoses. Entretanto, este plano adicional provoca uma resposta inflamatória marcante devido à necrose isquêmica no tecido invertido. Provavelmente, devido a esta inflamação, há uma diminuição no teor de colágeno nas anastomoses em dois planos, quando comparada com um plano de sutura, na fase inicial da cicatrização (Ballantyne, 1984). Alguns autores citam vantagens nas anastomoses em plano único, porque apresentam menos estenose do lúmen, estrangulação tecidual mínima e maior resistência mecânica em relação às confeccionadas em dois planos de sutura (Khoury & Waxman, 1983). Em estudo clínico prospectivo randomizado, comparando as duas técnicas em anastomoses intestinais, Irvin et al. (1973) não observaram diferenças nos índices de deiscências. Contudo, em estudo clínico similar, Everett (1975) demonstrou que as anastomoses em um plano apresentaram melhores resultados do que as em dois planos, quando realizadas abaixo da reflexão peritoneal. Porém, Goligher et al. (1977) notaram um pequeno aumento na incidência de deiscências de anastomoses colorretais em um plano de sutura em relação às confeccionadas em dois planos, quer estivessem acima ou abaixo da reflexão peritoneal.

Desde que Connell (1892) propôs a sutura contínua em plano único para as anastomoses intestinais, esta técnica vem sendo cada vez mais utilizada pelos cirurgiões. Seus defensores argumentam que este método, simples, rápido e econômico, promove impermeabilidade e pouca reação inflamatória tecidual, o que o torna tão seguro quanto o realizado em um plano com pontos separados (Bailey et al., 1984; Skakun et al., 1988; Rocha, 1989).

O advento de grampeadores circulares propiciou a realização de anastomoses retais baixas com a mesma segurança das suturas convencionais para anastomoses altas (Scher et al., 1982; Waxman, 1983). Os grampeadores circulares, comercializados em diferentes diâmetros, propiciam a aproximação das bordas intestinais com duas fileiras de grampos metálicos. A principal desvantagem do método é o alto custo do grampeador, o que torna limitada sua utilização.

A escolha do material para sutura intestinal deve satisfazer três principais requisitos: manutenção da resistência mecânica, resposta inflamatória mínima e características de manuseio adequadas para produzir nós seguros (Fontaine & Dudley, 1978). Os materiais de sutura podem ser absorvíveis ou não-absorvíveis, multi ou monofilamentados. Os fios multifilamentados podem favorecer o surgimento de infecção pelo aumento da aderência bacteriana aos componentes trançados (Katz et al., 1981) aumentando, por conseguinte, a reação inflamatória. Os fios de aço inoxidável aproximam-se do material ideal por serem virtualmente inertes, mas são de difícil manejo. Com isso, os fios monofilamentados, tanto absorvíveis (polidioxanone ou poliglecaprone), quanto não-absorvíveis (polipropilene ou nylon), devem ser os preferidos para as suturas manuais na cirurgia intestinal (Khoury & Waxman, 1983).

Estudos em animais e em pacientes também têm demonstrado bons resultados com a utilização dos anéis biofragmentáveis para anastomoses (Hardy Jr. et al., 1985; Corman et al., 1989; Bublick et al., 1991). Os anéis são compostos por ácido poliglicólico e sulfato de bário, constituindo-se em mais uma alternativa para a execução de anastomoses intestinais.

Condições locais

Em condições ideais, uma anastomose deve ser bem vascularizada, realizada sem tensão e livre de contaminação bacteriana (Ravo, 1988).

A infecção peritoneal contribui para a deiscência de anastomoses por favorecer a inflamação e por alterar o metabolismo do colágeno (Schrock et al., 1973; Irvin, 1976; Ballantyne, 1984; Oliveira, 1995). A produção da enzima colagenase encontra-se aumentada na vigência de infecção, levando à degradação e diminuição do colágeno no intestino, retardando a cicatrização e propiciando a deiscência da sutura (Dunphy, 1970; Hawley et al., 1970a; Hawley et al., 1970b; Yamakawa et al., 1971; Hawley, 1973; Hesp et al., 1984).

Estudos experimentais têm demonstrado que os drenos potencializam infecção e provocam reação inflamatória intensa, principalmente quando colocados muito próximos à linha de sutura, devendo ser evitados em cirurgias intestinais (Berliner et al., 1967; Khoury & Waxman, 1983).

A presença de inflamação ou neoplasia nas bordas a serem anastomosadas propicia maior risco de deiscência (Schrock et al., 1973). Dependendo da dose utilizada, a radioterapia provoca alterações histopatológicas, podendo também ocasionar a ruptura de anastomoses (Bublick et al., 1982; Blake et al., 1984; Morgenstern et al., 1984). Portanto, as margens

intestinais a serem anastomosadas devem estar sadias para assegurarem uma melhor cicatrização.

Condições gerais

Considerável número de pesquisas demonstra que vários fatores podem prejudicar o processo de cicatrização das anastomoses intestinais, tais como *hipotensão arterial e transfusão sangüínea intra-operatórias* (Schrock et al., 1973); *hipovolemia* (Gilmour et al., 1980); *isquemia intestinal* (Cohen et al., 1985; Ikeda et al., 1988); *baixa tensão de oxigênio* (Sheridan et al., 1987); *neoplasia maligna avançada* (Irvin & Goligher, 1973; Stewart, 1973); *desnutrição* (Daly et al., 1972; Irvin & Goligher, 1973; Irvin, 1978); *desidratação* (Hartmann et al., 1992); *fixação tumoral* (Irvin & Goligher, 1973); *uremia* (Colin et al., 1979; Vianna et al., 1981); *idade avançada do paciente* (Irvin & Goligher, 1973; Schrock et al., 1973) e *agentes farmacológicos*, entre outros.

Dentre os agentes farmacológicos, os antiinflamatórios têm despertado o interesse dos pesquisadores, porque esses agentes têm o potencial de interferir nas fases de inflamação e de fibroplasia do processo cicatricial.

Os antiinflamatórios não-esteroidais têm vasta utilização clínica, mas seus efeitos sobre a cicatrização de anastomoses intestinais têm sido pouco pesquisados. Brennan et al. (1984), estudando anastomoses colônicas em ratos, relataram que o flurbiprofen favorece a cicatrização, aumentando a produção de colágeno, sem ter efeito sobre a atividade colagenolítica. Todavia, Sousa (1989) e Sousa et al. (1991), verificando a cicatrização de anastomoses no intestino delgado de coelhos, encontraram maior número de deiscências nos animais tratados com diclofenaco sódico, sem que houvesse modificação do metabolismo do colágeno, avaliado pela concentração de hidroxiprolina nas anastomoses. Em estudo subsequente, Sousa (1994) concluiu que o diclofenaco sódico também prejudicou as anastomoses no intestino grosso de coelhos. Mastboom et al. (1991a) estudaram a influência de quatro drogas antiinflamatórias não-esteroidais (piroxicam, ibuprofen, ácido acetilsalicílico e indometacina) sobre anastomoses intestinais em ratos e verificaram um aumento na suscetibilidade às infecções, resultando em índices elevados de morbidade e mortalidade. Soares (1996), pesquisando os efeitos do ácido 5-aminossalicílico sobre as anastomoses colônicas de ratos, notou uma elevação da concentração de hidroxiprolina no sétimo e no décimo quarto dias pós-operatórios sem que ocorressem alterações no padrão histopatológico da cicatrização.

Os antiinflamatórios esteroidais (corticosteróides) também têm sido muito utilizados no tratamento de várias enfermidades. Eventualmente, pacientes portadores de doenças inflamatórias intestinais, em tratamento com corticosteróides, necessitam ser submetidos a cirurgias com ressecção e anastomoses intestinais. Os possíveis efeitos dos corticosteróides sobre a cicatrização de suturas intestinais têm sido pouco descritos na literatura e mostram resultados conflitantes. Alguns autores, estudando animais, observaram efeitos deletérios dos corticosteróides sobre a cicatrização de anastomoses intestinais (Rosenberg et al., 1976; Mantovani et al., 1970; Aszodi et al., 1984; González et al., 1984; Martins Júnior, 1987; Houston & Rotstein, 1988; Martins

Júnior et al., 1992; Phillips et al., 1992; Calli et al., 1993; Furst et al., 1994). Entretanto, Mastboom et al. (1991b) não encontraram diferenças na cicatrização de anastomoses intestinais de ratos sob efeito da metilprednisolona. Estudos clínicos retrospectivos também não registraram, em grandes séries, maior índice de deiscências de anastomoses intestinais em pacientes operados na vigência do uso de corticosteróides (Price; 1968; Schrock et al., 1973; Jex et al., 1987).

O deflazacort é um glicocorticóide sintético derivado da prednisolona. Sua potente ação antiinflamatória tem sido comparada com a prednisolona e com a prednisona, tendo o benefício de apresentar menos efeitos colaterais, tais como reduzido efeito diabético (Buniva et al., 1979; Criscuolo et al., 1980; Pagano et al., 1982; Cavallo-Perin et al., 1984; Bruno et al., 1987; Arizón et al., 1993), mínima compleição cushingóide (Ferraris et al., 1992) e menor risco de osteoporose (Gray et al., 1990; Gray et al., 1991). O deflazacort tem tido ampla utilização clínica, inclusive no tratamento das doenças inflamatórias intestinais.

Com o objetivo de estudar os possíveis efeitos do corticosteróide deflazacort sobre a cicatrização de anastomoses colônicas em ratos, foi idealizada esta investigação experimental.

MATERIAIS E MÉTODOS

Animal de experimentação

Foram utilizados sessenta ratos, *Rattus norvegicus*, linhagem Wistar, do sexo masculino, aparentemente sadios, com peso corporal inicial entre 280 e 346 gramas e com 60 a 80 dias de vida.

Os animais foram alimentados com dieta padrão de laboratório (Labina®, Ração para ratos, camundongos e hamsters - Ralston Purina do Brasil Ltda. - Paulínea - SP) e água à vontade.

Distribuição dos animais

Foram constituídos dois grupos com trinta animais:

Grupo D (= Grupo Deflazacort):

Os trinta ratos deste grupo receberam a droga Deflazacort (Calcort®, Merrel Lepetit Farmacêutica e Industrial Ltda. - Santo Amaro - SP), na dose de 1,5 mg/kg/dia. A medicação foi administrada por gavagem, uma vez ao dia, desde sete dias antes da cirurgia até o dia do sacrifício.

A solução para administração foi obtida pela dissolução e homogeneização de um comprimido de Deflazacort de 6 mg em 12 ml de Solução de Cloreto de Sódio a 0,9% (Fresenius Laboratórios Ltda. - Campinas - SP), o que perfazia uma dose-volume de 3 ml/kg/dia.

A gavagem foi realizada através de catéter plástico tipo Levine (Ibrasgamma, Ibras-CBO Indústrias Cirúrgicas e Ópticas S.A. - Campinas - SP), número 6, introduzido até o estômago por deglutição e adaptado a uma seringa de 3 ml que continha a solução.

O grupo D foi subdividido em três subgrupos, com dez animais em cada um, de acordo com o dia do sacrifício:

Subgrupo D3: animais sacrificados três dias após a cirurgia.

Subgrupo D7: animais sacrificados sete dias após a cirurgia.

Subgrupo D14: animais sacrificados quatorze dias após a cirurgia.

Grupo C (= Grupo controle):

Os trinta ratos deste grupo receberam o volume correspondente a 3 ml/kg/dia de Solução de Cloreto de Sódio a 0,9% (Fresenius Laboratórios Ltda. - Campinas - SP), mediante o mesmo procedimento de gavagem, uma vez ao dia, desde sete dias antes da cirurgia até o dia do sacrifício.

Este grupo foi subdividido em três subgrupos, com dez animais em cada um de acordo com o dia do sacrifício:

Subgrupo C3: animais sacrificados três dias após a cirurgia.

Subgrupo C7: animais sacrificados sete dias após a cirurgia.

Subgrupo C14: animais sacrificados quatorze dias após a cirurgia.

Pré-operatório

As cirurgias foram realizadas em sessões, nas quais lotes de seis animais eram operados. Os animais foram destinados aos grupos e subgrupos por sorteio, efetuado sete dias antes do ato cirúrgico, para que recebessem a droga Deflazacort (Grupo D) ou somente a Solução de Cloreto de Sódio a 0,9% (Grupo C). Foram preparadas seis fichas idênticas com as denominações D3, D7, D14, C3, C7 e C14. Um técnico do laboratório de cirurgia experimental efetuava o sorteio, fazia uma marca na orelha do animal para identificá-lo, pesava-o e iniciava a gavagem. Os seis animais permaneciam depois na mesma gaiola, recebendo água e ração à vontade.

No dia da cirurgia os animais também recebiam a droga ou a solução de Cloreto de Sódio a 0,9%. Após a gavagem, permaneciam em jejum por seis horas, até o momento do ato operatório.

Criteriosamente antes da anestesia, os animais tinham os seus pesos aferidos e anotados pelo técnico do laboratório de cirurgia experimental, que os preparava para a cirurgia, sem que o cirurgião soubesse a quais subgrupos pertenciam os animais.

Anestesia

Os animais foram submetidos à anestesia geral inalatória com éter sulfúrico, sendo considerados anestesiados quando apresentaram respiração regular e superficial, e flacidez da musculatura esquelética, com ausência de reflexos.

A anestesia foi mantida com a utilização de cone nasal contendo algodão embebido em éter (Figs. 1 e 2).

Técnica operatória

Para o procedimento operatório foi utilizado material cirúrgico limpo, não estéril. As Figs. 3, 4, 5 e 6 ilustram o procedimento cirúrgico.



Fig. 1 - Animal sendo anestesiado com éter sulfúrico.

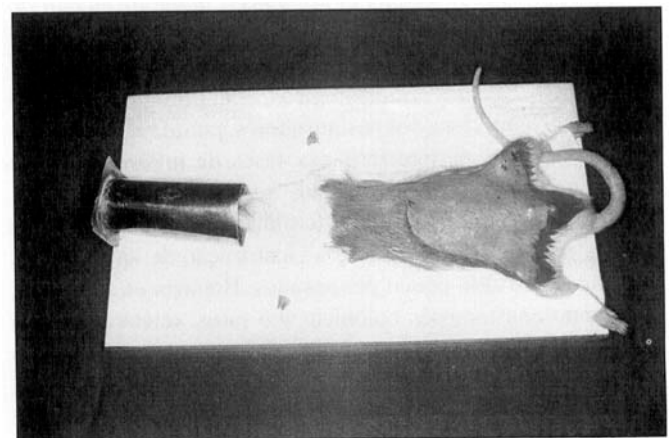


Fig. 2 - Animal anestesiado e imobilizado sobre placa de madeira.

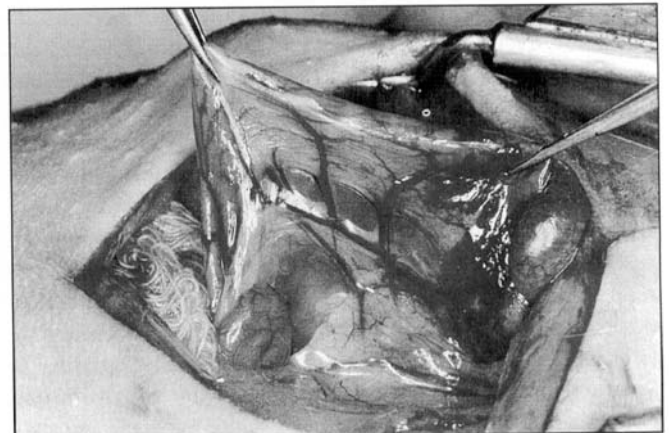


Fig. 3 - Exposição do segmento colônico a ser ressecado, com o auxílio de um afastador de parede abdominal e de uma gaze afastando o intestino delgado.

A intervenção cirúrgica foi realizada obedecendo à seguinte seqüência padronizada de etapas (Oliveira, 1989):

a) imobilização do animal em decúbito dorsal, sobre placa de madeira, pela fixação de seus membros com fita de esparadrapo;

b) depilação da parede abdominal anterior;

c) antissepsia da pele do abdome com solução de polivinilpirrolidona-iodo, com 1% de iodo ativo (Povidine® degermante, Johnson - Rio de Janeiro - RJ);



Fig. 4 - Ligadura e secção dos ramos terminais veno-arteriais do segmento colônico a ser ressecado.

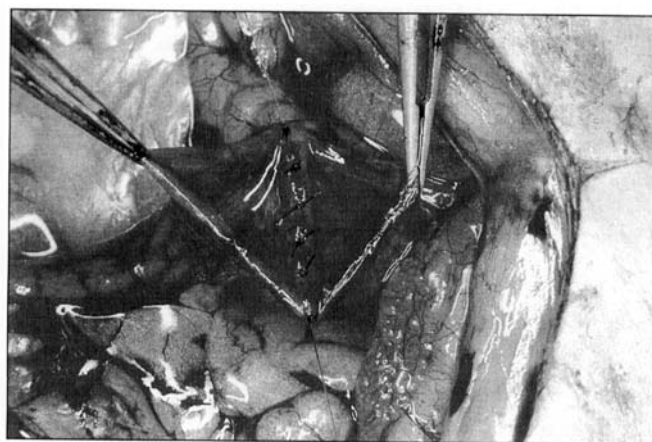


Fig. 5 - Sutura da hemicircunferência do cólon.



Fig. 6 - Anastomose colônica concluída.

- d) laparotomia mediana de 4 cm de extensão, com sua extremidade caudal a 0,5 cm da genitália externa do animal;
- e) colocação de afastador auto-estático na parede abdominal;
- f) afastamento das vísceras com gaze embebida em solução de cloreto de sódio a 0,9% para exposição do cólon distal;
- g) malaxação divergente, caso o segmento intestinal a ser operado apresentasse conteúdo fecal;
- h) ligadura e secção distal dos ramos terminais veno-arteriais de um segmento colônico compreendido entre 2,5 e 3,5 cm, cranialmente à reflexão peritoneal;

i) ressecção de um segmento colônico de 1 cm, por secção com tesoura reta, estando a borda distal da ressecção a 2,5 cm da reflexão peritoneal;

j) reconstituição do trânsito colônico com anastomose término-terminal, em plano único, com pontos separados, englobando todas as camadas da parede intestinal, distantes entre si de 1 a 2 mm, com nós voltados para dentro da luz intestinal, exceto o último ponto, em que o nó foi deixado na superfície serosa, utilizando-se fio de polipropileno 6-0 com agulha cilíndrica de 1,3 cm (Prolene®, Ethicon - São José dos Campos - SP);

k) síntese da parede abdominal em dois planos - o primeiro, incluindo o peritônio, músculo e aponeurose da linha média, com sutura contínua simples; e o segundo, o tecido subcutâneo e a pele, com sutura contínua em barra grega - ambos com fio de nylon monofilamentar 4-0 com agulha cilíndrica de 2,5 cm (Mononylon®, Ethicon - São José dos Campos - SP).

Pós-operatório

Após a recuperação anestésica, os animais foram colocados em gaiolas, em grupos de seis, com água e ração à vontade. Uma vez ao dia, eram submetidos à gavagem para receberem o Deflazacort ou a Solução de Cloreto de Sódio até a data do sacrifício.

Procurou-se observar a ocorrência de apatia, diarreia ou distensão abdominal entre os animais.

Reoperação e estudo macroscópico

Os animais foram reoperados nos dias previamente determinados pelo sorteio, ou seja, com três, sete ou quatorze dias após a cirurgia. Imediatamente antes da anestesia, o peso de cada animal foi aferido e anotado.

Após a anestesia geral inalatória com éter sulfúrico e imobilização do animal em decúbito dorsal sobre placa de madeira, a parede abdominal era aberta amplamente. A cavidade abdominal era, então, estudada com o objetivo de serem identificadas eventuais deiscências de sutura da anastomose, vazamentos, aderências, abscessos ou peritonite generalizada.

Após o inventário da cavidade abdominal, era ressecado um segmento intestinal de aproximadamente 2 cm, contendo a anastomose em sua porção central. O segmento era aberto longitudinalmente na porção mesentérica e fixado em papel cartão. A seguir, nova secção longitudinal dividia o segmento preparado em duas partes semelhantes. Aleatoriamente, uma parte do intestino era imersa em solução de cloreto de sódio a 0,9% e congelado a -20°C para ser utilizado posteriormente para estudo da concentração de hidroxiprolina. A outra parte era fixada em solução de formol tamponado a 10% para estudo histopatológico.

Em seguida, ainda anestesiados, os animais foram sacrificados pela abertura da cavidade torácica e secção da veia cava inferior.

Estudo histopatológico

Após a fixação em formol tamponado a 10%, as peças foram coradas pela hematoxilina-eosina e pelo tricrômico de

Masson. A avaliação histológica foi realizada por microscopia ótica por um observador que desconhecia a que grupo ou subgrupo pertencia o animal.

As condições de cicatrização foram analisadas considerando-se os seguintes indicadores (Oliveira, 1989; Sousa, 1989):

- crosta fibrino-leucocitária;
- necrose focal;
- depósitos de fibrina;
- exsudato neutrofílico;
- edema;
- dilatação linfática;
- congestão vascular;
- hemorragia focal;
- exsudato eosinofílico;
- regeneração mucosa;
- infiltrado mononuclear;
- infiltração macrofágica;
- granulomas;
- neoformação vascular;
- proliferação fibroblástica;
- fibrose.

Cada indicador foi analisado e classificado em escores:

- () ausente
- (+) leve
- (++) moderado
- (+++) intenso

Estudo bioquímico

As concentrações de hidroxiprolina nos segmentos que continham a anastomose foram determinadas após a retirada cuidadosa dos fios de sutura.

Extração da hidroxiprolina

O processo de extração da hidroxiprolina foi realizado segundo a técnica proposta por Stegemann & Stalder (1967) e modificada por Medugorac (1980), suprimindo-se a fase de secagem em estufa a vácuo. O tecido passou pelas seguintes etapas:

- a) pesagem e permanência em estufa a 90°C por quatro horas;
- b) nova pesagem, agora com o tecido seco;
- c) hidrólise em ampola fechada contendo HCl 6N (1 ml para cada 10 mg de tecido seco), em estufa à temperatura entre 107 a 110°C por 18 horas;
- d) adição de 100 mg de carvão ativado puro e 20 ml de tampão citrato/acetato com pH 6.0;
- e) adição de água deionizada, completando-se até 50 ml, seguindo-se agitação vigorosa em agitador de tubos;
- f) filtragem da solução.

Dosagem da hidroxiprolina

A dosagem da hidroxiprolina foi efetuada segundo a técnica de Stegemann & Stalder (1967), que utiliza a cloramina T como agente oxidante da hidroxiprolina, na presença de solução

tampão, pH quase neutro e solução de para-amino-benzaldeído perclórico (aldeído/HClO₄), como indutor do acoplamento do cromógeno formado (vermelho).

O extrato passou, então, pelas seguintes etapas de processamento:

a) em um tubo de ensaio contendo 2 ml do extrato obtido foi adicionado, à temperatura ambiente, 1 ml de cloramina T, agitando-se em agitador de tubos;

b) após 20 minutos, adicionou-se 1 ml de para-amino-benzaldeído perclórico (Aldeído/HClO₄), agitando-se vigorosamente em agitador de tubos por 30 segundos;

c) banho-maria a 60°C durante 15 minutos;

d) resfriamento em água corrente por 10 minutos;

e) após ajuste do aparelho com o "blank" e teste com solução padrão de concentração conhecida, procedeu-se à leitura espectrofotométrica.

Foi lida a absorbância para cada amostra, no comprimento de onda de 550 nm, e calculada a concentração.

Para cada amostra de tecido foram realizadas duas leituras.

A concentração de hidroxiprolina em microgramas para cada cem miligramas de tecido seco foi obtida pela seguinte fórmula:

$$CH = \frac{\bar{x}C \cdot 4}{PS} \cdot 100$$

Sendo:

CH = concentração de hidroxiprolina em µg/100 mg de tecido seco;

x̄C = média das concentrações obtidas nas duas leituras espectrofotométricas;

PS = peso seco do tecido expresso em mg;

4 = fator de correção para a diluição utilizada;

100 = fator de correção para a unidade empregada.

Análise estatística

As variações dos pesos dos animais, os achados histopatológicos e as diferentes concentrações de hidroxiprolina foram analisados estatisticamente.

O efeito da droga no peso dos animais do início do experimento até o dia da cirurgia foi analisado pelo teste t de Student. Este mesmo teste foi utilizado na análise do efeito da droga sobre o peso, no período entre o dia da cirurgia e o sacrifício em cada subgrupo.

Os escores dos indicadores histopatológicos das anastomoses nos subgrupos sacrificados com o mesmo período de evolução pós-operatória foram comparados utilizando-se o teste exato de Fisher.

Para comparar as variações nas concentrações de hidroxiprolina entre animais de subgrupos sacrificados com o mesmo período de evolução pós-operatória, utilizamos o teste t de Student.

Em todos os testes, o nível de significância adotado foi de 5%.

RESULTADOS

Evolução clínica dos animais

Todos os sessenta ratos sobreviveram até as datas estabelecidas para o sacrifício. Os animais apresentaram boa evolução pós-operatória, não sendo constatadas apatia, diarreia ou distensão abdominal.

Avaliação do peso corporal

As Tabelas 1, 2 e 3 exibem a distribuição dos pesos dos animais nos diferentes subgrupos.

Tabela 1 - Distribuição dos animais dos subgrupos C3 e D3 segundo seu peso.

Subgrupo C3				Subgrupo D3			
Nº do animal	Inicial	Peso (g) cirurgia	Final	Nº do animal	Inicial	Peso (g) cirurgia	Final
C3- 1	305	315	307	D3- 1	315	292	270
C3- 2	295	298	287	D3- 2	313	298	268
C3- 3	290	292	277	D3- 3	315	265	228
C3- 4	290	300	285	D3- 4	295	275	256
C3- 5	330	364	345	D3- 5	297	295	280
C3- 6	290	303	298	D3- 6	280	285	220
C3- 7	293	315	270	D3- 7	330	315	304
C3- 8	285	300	280	D3- 8	320	300	295
C3- 9	280	302	285	D3- 9	320	295	288
C3- 10	285	289	273	D3- 10	294	280	266
Média	294,3	307,8	290,7	307,9	290,0	267,5	

Tabela 2 - Distribuição dos animais dos subgrupos C7 e D7 segundo seu peso.

Subgrupo C7				Subgrupo D7			
Nº do animal	Inicial	Peso (g) cirurgia	Final	Nº do animal	Inicial	Peso (g) cirurgia	Final
C7- 1	290	300	292	D7- 1	327	321	258
C7- 2	290	295	303	D7- 2	305	292	232
C7- 3	280	287	290	D7- 3	300	285	250
C7- 4	310	330	340	D7- 4	315	303	280
C7- 5	290	305	307	D7- 5	305	275	265
C7- 6	340	355	345	D7- 6	323	300	245
C7- 7	320	337	330	D7- 7	300	276	262
C7- 8	290	297	300	D7- 8	300	287	268
C7- 9	330	345	335	D7- 9	280	270	250
C7- 10	290	305	302	D7- 10	307	295	270
Média	303,0	315,6	314,4	306,2	290,4	258,0	

A droga provocou uma perda significativa de peso nos animais durante o período pré-operatório. A média de peso do grupo controle aumentou em 12,3 g entre o início do experimento e o dia da cirurgia, enquanto que no grupo teste houve uma queda média de 20,4 g no peso corporal dos animais, como está mostrado na Fig. 7.

Após a cirurgia, não houve diferença na perda de peso entre os subgrupos C e D, tanto para animais sacrificados no

terceiro, quanto no sétimo dia pós-operatório (Figs. 8 e 9). Entretanto, no décimo quarto dia pós-operatório, a perda de peso do subgrupo que recebeu a droga foi significativa, quando comparada com o subgrupo controle, como mostra a Fig. 10.

Tabela 3 - Distribuição dos animais dos subgrupos C14 e D14 segundo seu peso.

Subgrupo C14				Subgrupo D14			
Nº do animal	Inicial	Peso (g) cirurgia	Final	Nº do animal	Inicial	Peso (g) cirurgia	Final
C14- 1	300	300	320	D14- 1	340	310	275
C14- 2	310	330	310	D14- 2	303	280	270
C14- 3	310	320	320	D14- 3	330	298	260
C14- 4	290	290	307	D14- 4	290	268	255
C14- 5	315	330	312	D14- 5	305	275	270
C14- 6	310	325	330	D14- 6	340	310	310
C14- 7	300	306	297	D14- 7	335	305	300
C14- 8	330	342	360	D14- 8	317	299	285
C14- 9	310	330	355	D14- 9	318	290	272
C14- 10	290	300	322	D14- 10	346	316	288
Média	306,5	317,3	323,3	322,4	295,1	278,5	

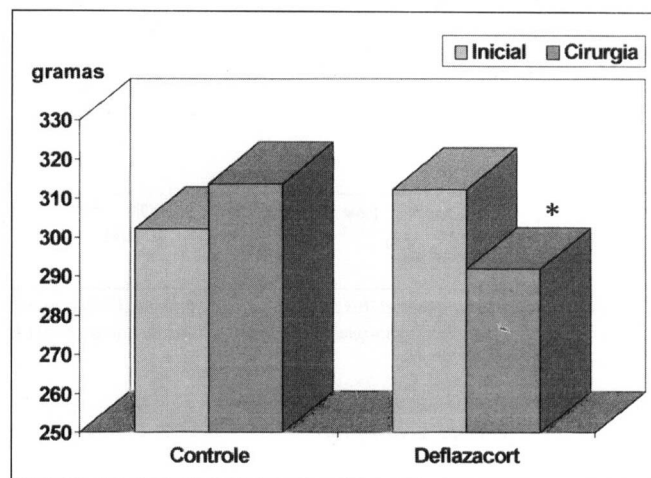


Fig.7 - Média dos pesos dos animais nos grupos controle (n = 30) e Deflazacort (n = 30) no início do experimento e no dia da cirurgia. *p < 0,01 (teste t de Student).

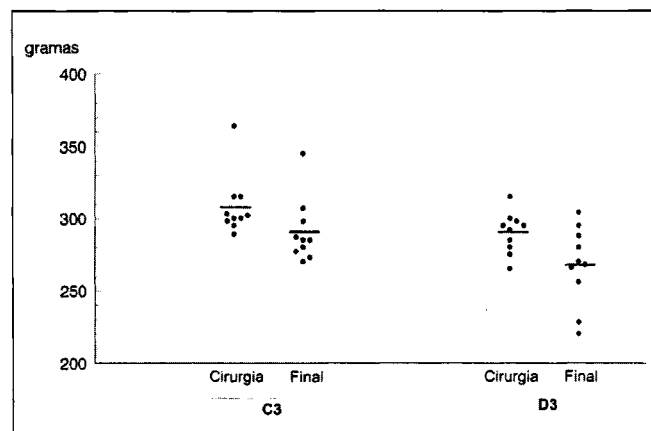


Fig. 8 - Distribuição ponderal dos animais sacrificados no terceiro dia e as respectivas médias dos subgrupos controle (C3) e Deflazacort (D3).

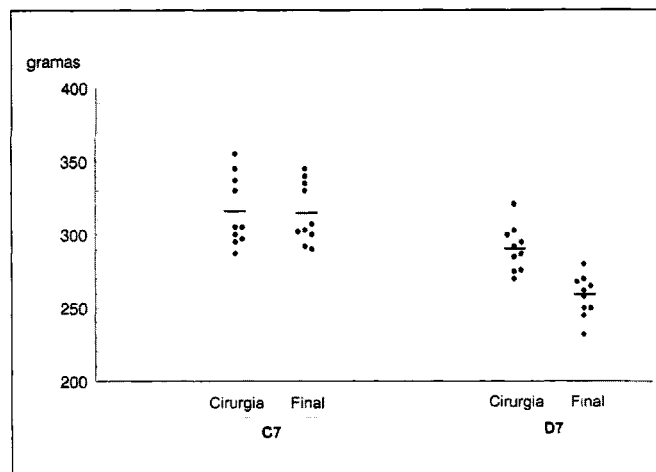


Fig. 9 - Distribuição ponderal dos animais sacrificados no sétimo dia e as respectivas médias dos subgrupos controle (C7) e Deflazacort (D7).

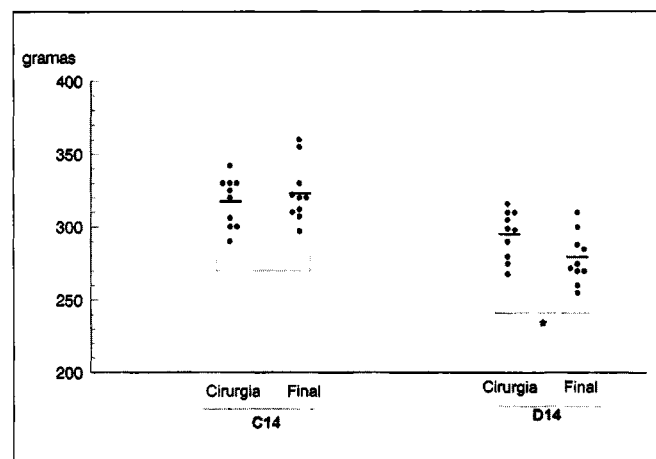


Fig. 10 - Distribuição ponderal dos animais sacrificados no décimo quarto dia e as respectivas médias dos subgrupos controle (C14) e Deflazacort (D14).
* $p < 0,01$ (teste t de Student).

Estudo da cavidade abdominal

A observação macroscópica da cavidade abdominal à reoperação não revelou sinais de deiscências ou vazamentos anastomóticos. Nenhum animal apresentou abscesso local ou peritonite generalizada.

Havia aderências firmes, entre as anastomoses e vesículas seminais, gordura e alças intestinais, em quatro animais do subgrupo D7, em três animais do subgrupo C3, em dois animais dos subgrupos C7, C14 e D14 e em um animal do subgrupo D3. Entretanto, após desfeitas as aderências, não foram observadas deiscências macroscópicas.

Avaliação histopatológica

Os resultados do estudo histopatológico estão demonstrados de forma comparativa entre os subgrupos de animais sacrificados no mesmo dia de evolução pós-operatória nas Tabelas 4, 5 e 6.

As microfotografias das Figs. 11 a 16 e as Tabelas 1, 2 e 3 do anexo ilustram os achados histopatológicos.

Tabela 4 - Influência do Deflazacort sobre os indicadores histopatológicos do processo cicatricial nas anastomoses intestinais dos animais sacrificados no terceiro dia após a cirurgia.

	Subgrupo controle (C3)				Subgrupo Deflazacort (D3)			
	n = 10				n = 10			
	()	(+)	(++)	(+++)	()	(+)	(++)	(+++)
Crosta fibrino-leucocitária	2	0	1	7	3	0	0	7
Necrose focal	0	0	3	7	1	0	2	7
Depósitos de fibrina	1	0	1	8	2	0	0	8
Exsudato neutrofílico*	0	0	0	10	6	2	1	1
Edema	0	0	1	9	0	1	5	4
Dilatação linfática*	2	8	0	0	0	0	8	2
Congestão vascular*	0	0	2	8	0	0	8	2
Hemorragia focal	0	3	4	3	1	1	8	0
Exsudato eosinofílico*	0	0	4	6	1	7	2	0
Regeneração mucosa	2	8	0	0	3	5	2	0
Infiltrado mononuclear*	0	9	1	0	6	4	0	0
Infiltração macrofágica*	0	9	1	0	8	2	0	0
Granulomas	10	0	0	0	10	0	0	0
Neoformação vascular*	1	9	0	0	0	3	7	0
Proliferação fibroblástica*	0	2	7	1	6	4	0	0
Fibrose	0	9	1	0	3	7	0	0

() = ausente; (+) = leve; (++) = moderado; (+++) = intenso.

* $p < 0,05$ (teste exato de Fisher).

Tabela 5 - Influência do Deflazacort sobre os indicadores histopatológicos do processo cicatricial nas anastomoses intestinais dos animais sacrificados no sétimo dia após a cirurgia.

	Subgrupo controle (C7)				Subgrupo Deflazacort (D7)			
	n = 10				n = 10			
	()	(+)	(++)	(+++)	()	(+)	(++)	(+++)
Crosta fibrino-leucocitária	8	1	1	0	5	2	1	2
Necrose focal	9	1	0	0	5	2	1	2
Depósitos de fibrina	9	1	0	0	6	1	1	2
Exsudato neutrofílico*	1	8	1	0	5	2	2	1
Edema	0	6	4	0	2	4	4	0
Dilatação linfática	0	7	3	0	0	7	3	0
Congestão vascular*	0	0	8	2	0	5	5	0
Hemorragia focal	7	3	0	0	9	1	0	0
Exsudato eosinofílico*	1	3	6	0	3	7	0	0
Regeneração mucosa	0	0	9	1	0	0	9	1
Infiltrado mononuclear*	0	1	9	0	0	9	1	0
Infiltração macrofágica	0	8	2	0	1	8	1	0
Granulomas*	7	1	2	0	1	4	3	2
Neoformação vascular*	0	0	5	5	1	9	0	0
Proliferação fibroblástica*	0	0	4	6	0	2	8	0
Fibrose	0	0	9	1	0	2	8	0

() = ausente; (+) = leve; (++) = moderado; (+++) = intenso.

* $p < 0,05$ (teste exato de Fisher).

Animais sacrificados no terceiro dia pós-operatório

A avaliação histopatológica do processo inflamatório nas anastomoses intestinais dos subgrupos C3 e D3 mostrou diferenças estatisticamente significativas para os indicadores: exsudato neutrofílico, dilatação linfática, congestão vascular, exsudato eosinofílico, infiltrado mononuclear, infiltração macrofágica, neoformação vascular e proliferação fibroblástica. Excetuando-

Tabela 6 - Influência do Deflazacort sobre os indicadores histopatológicos do processo cicatricial nas anastomoses intestinais dos animais sacrificados no décimo quarto dia após a cirurgia.

	Subgrupo controle (C14)				Subgrupo Deflazacort (D14)			
	n = 10				n = 10			
	()	(+)	(++)	(+++)	()	(+)	(++)	(+++)
Crosta fibrino-leucocitária	9	1	0	0	8	2	0	0
Necrose focal	10	0	0	0	8	2	0	0
Depósitos de fibrina	10	0	0	0	10	0	0	0
Exsudato neutrofílico	5	5	0	0	7	2	1	0
Edema	3	6	1	0	3	6	1	0
Dilatação linfática	0	8	2	0	2	7	1	0
Congestão vascular	0	3	6	1	0	6	4	0
Hemorragia focal	9	1	0	0	10	0	0	0
Exsudato eosinofílico	1	6	3	0	5	5	0	0
Regeneração mucosa	1	0	4	5	0	0	5	5
Infiltrado mononuclear	1	4	5	0	1	8	1	0
Infiltração macrofágica	1	8	1	0	1	7	2	0
Granulomas*	1	0	2	7	4	1	4	1
Neoformação vascular	0	4	6	0	1	5	4	0
Proliferação fibroblástica	1	2	6	1	0	5	5	0
Fibrose*	0	0	7	3	0	4	6	0

() = ausente; (+) = leve; (++) = moderado; (+++) = intenso.
*p < 0,05 (teste exato deFisher).

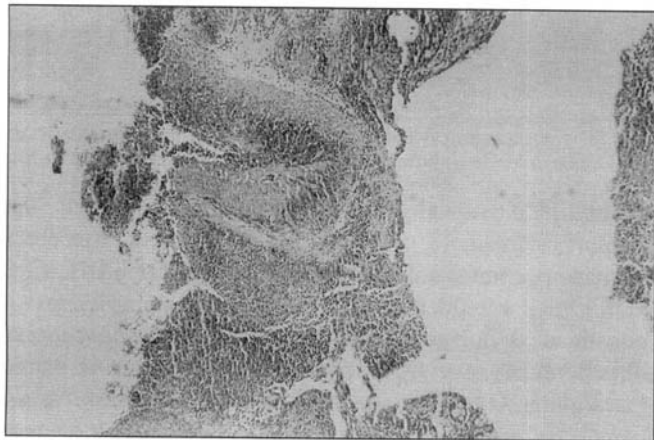


Fig. 11 - Aspecto microscópico da anastomose no terceiro dia pós-operatório em um animal do grupo controle (C3-01). Crosta fibrino-leucocitária com intenso exsudato neutrofílico (HE; 90X).

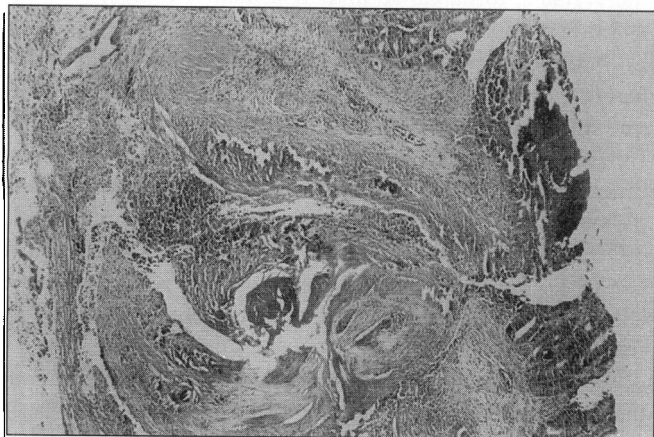


Fig. 12 - Aspecto microscópico da anastomose no terceiro dia pós-operatório em um animal do grupo deflazacort (D3-06). Presença de infiltrado inflamatório agudo (HE; 180X).

se os indicadores “dilatação linfática” e “neoformação vascular”, todos foram mais exuberantes no subgrupo controle.

Animais sacrificados no sétimo dia pós-operatório

A avaliação histopatológica do processo inflamatório nas anastomoses intestinais dos subgrupos C7 e D7 mostrou



Fig. 13 - Aspecto microscópico da anastomose no sétimo dia pós-operatório em um animal do grupo controle (C7-02). Destaque para a intensa neoformação vascular e proliferação fibroblástica (HE; 180X).



Fig. 14 - Aspecto microscópico da anastomose no sétimo dia pós-operatório em um animal do grupo deflazacort (D7-01). Tecido de granulação evidente e áreas de regeneração mucosa (HE; 180X).



Fig. 15 - Aspecto microscópico da anastomose no décimo quarto dia pós-operatório em um animal do grupo controle (C14-04). Presença de intensa fibrose e recomposição muscular (tricroômico de Masson; 180X).

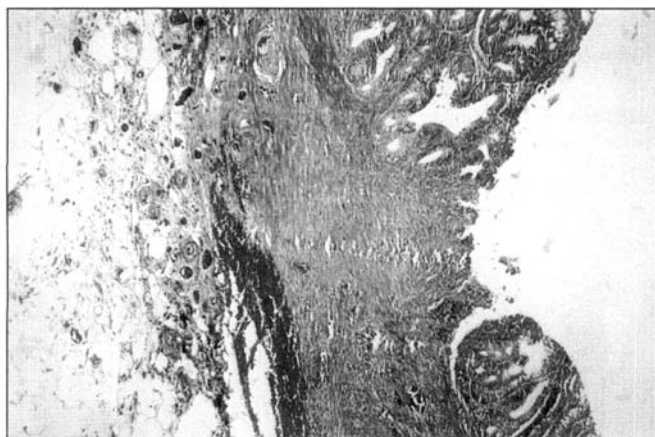


Fig. 16 - Aspecto microscópico da anastomose no décimo quarto dia pós-operatório em um animal do grupo deflazacort (D14-05). Presença de fibrose, congestão vascular e áreas de regeneração mucosa (tricroômico de Masson; 90X).

diferenças estatisticamente significativas para os indicadores: exsudato neutrofílico, congestão vascular, exsudato eosinofílico, infiltrado mononuclear, granulomas, neoformação vascular e proliferação fibroblástica. Os indicadores “exsudato neutrofílico” e “granulomas” foram proeminentes no subgrupo que recebeu a droga, enquanto que os demais indicadores tiveram maior intensidade no subgrupo controle.

Animais sacrificados no décimo quarto dia pós-operatório

A avaliação histopatológica do processo inflamatório nas anastomoses intestinais dos subgrupos C14 e D14 mostrou diferenças estatisticamente significativas para os indicadores “granulomas” e “fibrose”, que apresentaram-se mais intensos no subgrupo controle.

Análise bioquímica

As concentrações de hidroxiprolina nas anastomoses dos subgrupos de animais sacrificados nos dias preestabelecidos estão mostradas na Tabela 7 e ilustradas na Fig. 17.

A aplicação de testes t de Student, comparando as concentrações de hidroxiprolina nos subgrupos de animais sacrificados no mesmo período de evolução pós-operatória, não demonstrou diferença significativa.

DISCUSSÃO

A cicatrização é o processo pelo qual um tecido lesado é substituído por um tecido conjuntivo vascularizado. Os fenômenos envolvidos no processo são desencadeados pela ação de vários fatores sintetizados por macrófagos, plaquetas, células endoteliais e linfócitos T (Pereira, 1993).

Muitos conceitos referentes à cicatrização têm sido formulados com base em observações de feridas na pele: o primeiro passo é a instalação de uma reação inflamatória cujo exsudato de células fagocitárias reabsorve o sangue extravasado e os produtos da destruição tecidual. Em seguida, há proliferação fibroblástica e endotelial que dá origem ao tecido

Tabela 7 - Concentração de hidroxiprolina em microgramas para cada 100 miligramas de tecido seco.

Número do animal	Controle			Deflazacort		
	C3	C7	C14	D3	D7	D14
1	82	200	149	121	172	187
2	151	130	147	150	107	224
3	141	177	184	76	170	231
4	160	146	207	205	180	150
5	135	166	216	118	125	140
6	122	124	189	120	115	257
7	148	140	222	144	128	267
8	148	114	159	138	102	224
9	140	106	141	95	91	185
10	152	132	183	120	124	190
Média	137,9	143,5	179,7	128,7	131,4	205,5

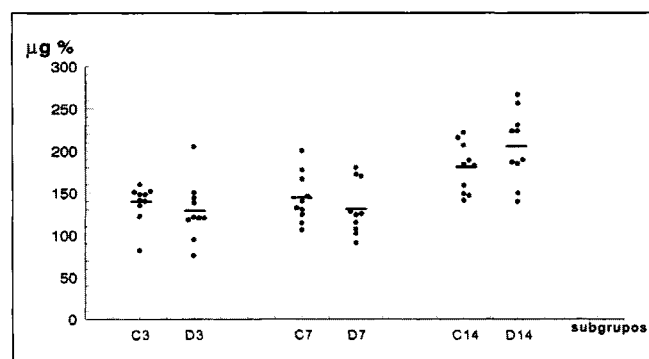


Fig. 17 - Concentração de hidroxiprolina em microgramas para cada cem miligramas de tecido seco nos diversos subgrupos com as respectivas médias.

conjuntivo cicatricial. O tecido conjuntivo frouxo, rico em capilares sanguíneos, contém leucócitos e matriz extracelular formada por fibras colágenas finas (colágeno tipo III), ácido hialurônico e moderada quantidade de proteoglicanos. A quantidade de colágeno aumenta com o tempo e com cerca de duas semanas suas fibras passam a predominar na matriz extracelular. O colágeno do tipo I, tendo fibras mais grossas e compactas, adquire proeminência em relação ao tipo III. Esse tecido cicatricial permanece dinâmico nas semanas seguintes: o colágeno vai sendo remodelado, com aumento das ligações transversais, tornando-se mais resistente e estável (Forrest, 1983; Pereira, 1993).

A resposta celular na cicatrização é similar nos diversos tecidos, mas a duração e a magnitude de cada fase da sequência cicatricial podem variar (Ballantyne, 1983; Hendriks & Mastboom, 1990). Há também significativas diferenças no metabolismo do colágeno quando se comparam cicatrizações da pele e do intestino (Hastings et al., 1975; Klein & Chandrarajan, 1977). As discrepâncias entre os tecidos suscitam o crescente número de pesquisas sobre a ação de variados agentes na cicatrização de anastomoses intestinais.

Na presente investigação foram estudados os efeitos de um glicocorticóide sintético, o deflazacort, sobre a cicatrização de anastomoses no intestino grosso de ratos. Os parâmetros avaliados foram a evolução clínica dos animais, o peso corporal, os aspectos da cavidade abdominal, os achados macro

e microscópicos das anastomoses e a concentração tecidual de hidroxiprolina.

Muitos autores têm escolhido o rato como animal de experimentação para o estudo de anastomoses intestinais (Cronin et al., 1968a; Cronin et al., 1968b; Jiborn et al., 1978b; Jiborn et al., 1978c; Högström & Haglund, 1985; Leite et al., 1993; Naresse et al., 1993; Oliveira et al., 1994; Oliveira, 1995; Soares, 1996; Regazzini, 1996). Tal escolha deve-se ao fato de o rato ser de fácil padronização quanto à raça, sexo e peso, além de ser resistente às infecções, dispensando a adoção de técnica cirúrgica asséptica.

No intestino grosso do rato, além da histologia ser diversificada (Lindström et al., 1979), a concentração e o metabolismo do colágeno mostram-se variáveis nos diferentes segmentos (Jiborn et al., 1978a; Jiborn et al., 1980a). Nos coelhos, a atividade da collagenase varia ao longo do trato gastrointestinal após anastomoses colônicas (Hawley et al., 1970b). Tendo em vista estes estudos prévios, as ressecções e anastomoses foram realizadas em segmento colônico distal, padronizado pela distância fixa em relação à reflexão peritoneal.

Apesar de seu pequeno tamanho, o rato oferece condições para ressecções e anastomoses colônicas seguras. Durante a evolução clínica nenhum dos animais observados apresentou apatia, distensão abdominal ou qualquer outro sinal que denunciasse complicações. Nos sessenta ratos operados não houve deiscência de anastomoses, formação de abscesso, peritonite ou óbito; fatos semelhantes observados também em outras grandes séries (Houdart et al., 1985; Mastboom et al., 1991b).

A perda de peso no grupo que recebeu o deflazacort foi significativa no período de sete dias que antecedeu a cirurgia e também no período pós-operatório de quatorze dias. Aszodi & Ponsky (1984), estudando os efeitos da hidrocortisona sobre a cicatrização de anastomoses do intestino delgado de ratos, observaram que, no período pré-operatório de quatorze dias, a perda de peso era significativa e que, quanto maior a dose do corticosteróide, maior era a perda ponderal dos ratos. Apesar da continuidade da corticoterapia até o dia do sacrifício (quatro, cinco, sete e dez dias), os autores não se referiram à variação de peso no pós-operatório. Por outro lado, Mastboom et al. (1991b), estudando a influência da metilprednisolona sobre a cicatrização de anastomoses intestinais em ratos, não se referiram à variação do peso no período pré-operatório, mesmo iniciando a terapia com o corticosteróide dois dias antes da cirurgia. Os autores mantiveram a droga até a data do sacrifício (três e sete dias após o ato cirúrgico), mas não encontraram diferenças nas alterações de peso entre os grupos no período pós-operatório: tanto o grupo teste, quanto o grupo controle, apresentaram perda de peso entre o segundo e o quarto dia após a cirurgia. No sétimo dia pós-operatório, os ratos alcançaram os níveis ponderais do período pré-operatório.

Na presente pesquisa, os ratos também perderam peso nos primeiros dias pós-operatórios nos dois grupos. Todavia, no décimo quarto dia, os animais do subgrupo controle ganharam peso, ultrapassando os valores iniciais, enquanto que os ratos do subgrupo que receberam o deflazacort continuaram perdendo peso, estabelecendo-se uma diferença significativa.

Os métodos frequentemente utilizados para estudo das anastomoses intestinais têm sido mecânicos, bioquímicos e histológicos. Dentre os parâmetros mecânicos, as medidas da pressão de ruptura e da força de ruptura têm sido muito empregadas pelos pesquisadores. O fator limitante à medida da pressão de ruptura (ou resistência à insuflação) de anastomoses intestinais é a Lei de Laplace aplicada ao cilindro: a tensão circular é o produto da pressão pelo raio. Uma vez que a tensão dentro de um segmento intestinal é semelhante à de um cilindro, torna-se difícil a padronização do método, pois o raio se modifica conforme os diferentes calibres de um segmento intestinal para outro (Nelsen & Anders, 1966). Por outro lado, a medida da força de ruptura (ou resistência à tração) depende do material de sutura, sobretudo nos primeiros dias da anastomose. Portanto, a técnica cirúrgica pode afetar radicalmente a força necessária para romper a anastomose (Ballantyne, 1983). Categoricamente, Ravitch et al. (1981) afirmaram que a pressão de ruptura e a força de ruptura, apresentados em vários experimentos em valores tão mais altos do que os níveis clínicos, deixam dúvidas quanto à eficácia destes métodos como avaliação de cicatrização de anastomoses. Assim, decidiu-se por não empregar métodos mecânicos no presente estudo.

A quantificação do colágeno é um método de avaliação bioquímica da evolução cicatricial de anastomoses. O fibroblasto, a partir dos aminoácidos metionina e cisteína, sintetiza mucopolissacarídeos e colágeno. Por sua vez, o colágeno, proteína presente na matriz extracelular, tem sido considerada a substância responsável pela resistência mecânica da cicatriz (Hendriks & Mastboom, 1990). A hidroxilação da prolina e da lisina, aminoácidos vitais na síntese do colágeno, ocorre na presença de oxigênio, ácido ascórbico, ferro iônico, cetoglutarato e zinco, que podem prejudicar a síntese do colágeno quando estiverem deficientes (Ravo, 1988). Com a modificação bioquímica da prolina, o colágeno passa a ter em suas cadeias um aminoácido exclusivo que é a hidroxiprolina, compreendendo aproximadamente um terço dos aminoácidos da proteína (Wise et al., 1975; Ballantyne, 1983). A mensuração da hidroxiprolina torna-se então uma estimativa do colágeno e, por isso, tem sido usada como um parâmetro bioquímico de avaliação cicatricial.

A análise da concentração tecidual de hidroxiprolina, em tecido seco, não mostrou diferenças estatisticamente significativas nas anastomoses dos subgrupos que receberam o deflazacort em relação às anastomoses dos subgrupos controle. De modo semelhante, Mastboom et al. (1991b) analisando o conteúdo de hidroxiprolina em anastomoses colônicas de ratos, sob ação da metilprednisolona, também não encontraram diferenças em relação ao grupo controle e, mesmo quando a dose era elevada (10 mg/kg/dia), não houve deiscências. Todavia, Cali et al. (1993) observaram uma redução nos níveis de hidroxiprolina no décimo dia pós-operatório nas anastomoses colônicas de ratos tratados com acetato de cortisona, mas não se referiram à ocorrência de deiscências de anastomoses no trabalho publicado.

Alterações na qualidade e quantidade do colágeno, presente no intestino sobretudo na camada submucosa, influenciam

profundamente a integridade da anastomose. O colágeno não é uma proteína inerte, pois está em constante equilíbrio entre lise e síntese (Hawley, 1973; Pérez-Tamayo, 1978). Este balanço não foi alterado pelo deflazacort no que diz respeito à quantidade de colágeno presente nas anastomoses, todavia não analisamos a quantidade desta proteína.

O estudo histopatológico à microscopia ótica foi realizado por examinador que desconhecia a que subgrupo pertencia o material examinado. Quantificando-se os indicadores histológicos de acordo com a sua intensidade, este estudo, submetido à análise estatística, constitui-se num importante método para avaliação da evolução cicatricial das anastomoses.

Herrmann et al. (1964) estudaram a cicatrização de anastomoses colônicas em duzentos e vinte ratos sacrificados a intervalos desde três horas até um ano após a cirurgia. Os eventos histológicos do processo cicatricial apresentaram três fases justapostas, a saber:

- 1) Fase exsudativa (0 a 4 dias): resposta inflamatória aguda;
- 2) Fase proliferativa (3 a 14 dias): predomínio da fibroplasia;
- 3) Fase de reorganização e remodelagem (10 a 180 dias ou mais): maturidade do colágeno.

Para que houvesse a representatividade das três fases acima descritas, as datas de sacrifício dos animais, no presente estudo, recaíram sobre o terceiro, sétimo e décimo quarto dias após a cirurgia.

O deflazacort como droga antiinflamatória foi eficaz, pois a resposta inflamatória aguda nas anastomoses foi menos intensa do que no grupo controle. Pela avaliação histológica, o corticosteróide também provocou retardo na evolução da fibroplasia, todavia sem alterar a concentração tecidual de hidroxiprolina, não tendo ocorrido deiscências das anastomoses.

Phillips et al. (1992), estudando os efeitos da dexametasona nas anastomoses dos intestinos delgado e grosso de coelhos, também não observaram deiscências, embora houvesse retardo no processo cicatricial das anastomoses sob o ponto de vista histológico. Rosenberg et al. (1976) e Martins Júnior et al. (1992), pesquisando respectivamente os efeitos da betametasona e da dexametasona em anastomoses do intestino delgado de cães, notaram retardo no processo de fibroplasia, apesar de, em cada estudo, terem verificado somente a formação de uma pequena fístula bloqueada, não tendo havido deiscências livres. Também Mantovani et al. (1979) encontraram retardo da cicatrização em anastomoses do intestino grosso de cães sob ação da hidrocortisona, porém não observaram deiscências, mesmo usando concomitantemente a azatioprina (droga imunossupressora) no experimento. É surpreendente notar que Aszodi & Ponsky (1984) não encontraram diferenças na evolução histológica das anastomoses intestinais de ratos tratados com hidrocortisona, apesar de referirem maior número de deiscências diretamente relacionadas ao aumento da dose administrada do corticosteróide. Em contrapartida, Cali et al. (1993) não encontraram diferenças nos parâmetros histológicos das anastomoses de ratos tratados com

acetato de cortisona, porém, como já foi salientado, não se referiram à ocorrência de deiscências de anastomoses no estudo.

Portanto, a maioria dos trabalhos experimentais tem demonstrado atraso na evolução histológica cicatricial em anastomoses intestinais sob efeito de corticosteróides, porém sem que ocorra número significativamente maior de deiscências. Há uma correlação clínica com estes achados de laboratório, uma vez que, pelo menos três grandes séries retrospectivas (Price, 1968; Schrock et al., 1973; Jex et al., 1987) não evidenciaram diferenças significativas nos índices de deiscências em pacientes operados na vigência de corticosteróides. É necessário, porém, que estudos clínicos prospectivos randomizados confirmem que os corticosteróides não aumentam as taxas de deiscências de anastomoses intestinais.

Todavia, é importante salientar que os mecanismos de ação dos corticosteróides na inflamação ainda encontram vasto campo de estudo.

Os glicocorticóides diminuem a migração de leucócitos para áreas lesadas, além de inibirem a capacidade destas células em elaborar diversas substâncias quimiotáticas (Fauci et al., 1975; Haynes Jr., 1990).

Atualmente, sabe-se que os corticosteróides provocam redução na liberação do ácido araquidônico através da inibição da atividade da fosfolipase A₂. A inibição da fosfolipase A₂ é induzida indiretamente pelos corticosteróides através da síntese de uma proteína inibitória identificada como lipocortina ou macrocortina. Em última análise, portanto, os corticosteróides inibem a formação de prostaglandinas, tromboxane e leucotrienos, importantes mediadores inflamatórios (Lewis, 1977; Haynes Jr., 1990; Vane & Botting, 1995).

Outro mecanismo antiinflamatório em que os corticosteróides atuam é na ativação de receptores glicocorticóides citoplasmáticos, que regulam a transcrição de alguns genes de resposta primária, resultando na inibição de mediadores inflamatórios, tais como a ciclooxigenase-2 (COX-2) e a óxido nítrico sintase imunológica (iNOS). O complexo esteróide-receptor também inibe a transcrição de citocinas envolvidas em respostas inflamatórias, como a interleucina 1 e o fator de necrose tumoral (HAYNES Jr., 1990; VANE & BOTTING, 1995).

Apesar do deflazacort ter diminuído a intensidade da resposta inflamatória aguda e retardado a fase reparativa do processo cicatricial das anastomoses colônicas dos ratos, sem ter provocado deiscências e sem ter alterado a concentração tecidual de hidroxiprolina, os efeitos deste corticosteróide sobre o processo cicatricial como um todo, e sobre as anastomoses intestinais em especial, devem continuar sendo estudados, uma vez que os corticosteróides atuam sistemicamente, com mecanismos de ação que dependem de muitas variáveis.

CONCLUSÕES

Nas condições utilizadas nesta investigação experimental, os resultados obtidos permitem concluir que o corticosteróide deflazacort:

Tabela 1 - Influência do deflazacort sobre os indicadores histopatológicos do processo cicatricial nas anastomoses dos animais sacrificados no terceiro dia após a cirurgia.

	Animais do subgrupo controle (C3)										Animais do subgrupo deflazacort (D3)									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Crosta fibrino-leucocitária	+++	+++	+++	+++	++	+++	+++	+++	++		+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	+++	+++	+++
Necrose focal	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++		+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	+++	+++	+++
Depósitos de fibrina	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++		+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	+++	+++	+++
Exsudato neutrofilico	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++		+	+++	+++	+++	+++	+++	++	+++	+++	+++
Edema	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++		+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	+++	+++	+++
Dilatação linfática	+	+	+	+	+	+	+	+	+		+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	+++	+++	+++
Congestão vascular	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++		+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
Hemorragia focal	+	+	+	+	+	+	+	+	+		+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
Exsudato eosinofílico	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++		+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
Regeneração mucosa	+	+	+	+	+	+	+	+	+		+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Infiltrado mononuclear	+	+	+	+	+	+	+	+	+		+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Infiltração macrofágica	+	+	+	+	+	+	+	+	+		+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Granulomas																				
Neoformação vascular	+	+	+	+	+	+	+	+	+		++	++	++	++	++	++	++	++	++	++
Proliferação fibroblástica	+	+	+	+	+	+	+	+	+		+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Fibrose	+	++	+	+	+	+	+	+	+		+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

() = ausente; (+) = leve; (++) = moderada; (++++) = intensa.

ANEXOS

Tabela 2 - Influência do deflazacort sobre os indicadores histopatológicos do processo cicatricial nas anastomoses dos animais sacrificados no sétimo dia após a cirurgia.

	Animais do subgrupo controle (C7)										Animais do subgrupo deflazacort (D7)									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Crosta fibrino-leucocitária	++		+								+	+++				++	+	+++		
Necrose focal	+										+	+++				++	+	+++		
Depósitos de fibrina	+										+	+++				++	+	+++		
Exsudato neutrofilico	++	+	+	+		+	+	+	+		++	++			++	++	+	+++		+
Edema	++	+	++	++	+	+	+	++	++		++	++			++	++	+	+++		++
Dilatação linfática	+	++	+	++	+	+	+	++	++		++	++			++	++	+	+++		++
Congestão vascular	++	++	++	++	++	++	++	++	++		++	++			++	++	+	+++		++
Hemorragia focal	+										+	++			+	+	+	+++		+
Exsudato eosinofílico	++	++	++	++	++	++	++	++	++		++	++			++	++	+	+++		++
Regeneração mucosa	++	++	++	++	++	++	++	++	++		++	++			++	++	+	+++		++
Infiltrado mononuclear	++	++	++	++	++	++	++	++	++		++	++			++	++	+	+++		++
Infiltração macrofágica	++	++	++	++	++	++	++	++	++		++	++			++	++	+	+++		++
Granulomas																				
Neoformação vascular	++	+++	++	+++	++	++	+++	+++	+++		++	++			++	++	+	+++		++
Proliferação fibroblástica	+++	++	++	+++	++	++	+++	+++	+++		++	++			++	++	+	+++		++
Fibrose	++	+++	++	+++	++	++	+++	+++	+++		++	++			++	++	+	+++		++

() = ausente; (+) = leve; (++) = moderada; (++++) = intensa.

Tabela 3 - Influência do deflazacort sobre os indicadores histopatológicos do processo cicatricial nas anastomoses dos animais sacrificados no décimo quarto dia após a cirurgia.

	Animais do subgrupo controle (C14)										Animais do subgrupo deflazacort (D14)									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Crosta fibrino-leucocitária										+										
Necrose focal																				
Depósitos de fibrina																				
Exsudato neutrofilico		+	+		+	+				+					+	+				++
Edema		+	++	+	+	+				+	+		+	+	+	+			++	+
Dilatação linfática	+	+	++	+	+	++	+	+	+	+	+		+	+		++	+	+	+	+
Congestão vascular	+	++	++	++	++	++	++	+++	+	+	+	+	++	+	++	++	+	++	+	+
Hemorragia focal		+																		
Exsudato eosinofílico	+	+	++	+	++	++		+	+	+			+	+		+	+		+	
Regeneração mucosa	+++	+++	++	+++	++	++		+++	+++	++	+++	+++	+++	++	++	++	+++	+++	++	++
Infiltrado mononuclear	+	+	++	+	++	++		+	++	++		+	+	+	+	+	+	+	++	+
Infiltração macrofágica	+	+	++	+	+	+		+	+	+	++	+	+	+	+	+	+	+	++	+
Granulomas	+++	+++	+++	+++	++		+++	+++	+++	++	+++	++	+			++	++			++
Neoformação vascular	+	++	++	+	++	++	++	++	+	+		+	++	+	++	+	+	++	+	++
Proliferação fibroblástica	++	++	+++	+	++	++		++	+	++	+	++	++	+	++	++	+	+	+	++
Fibrose	++	+++	+++	+++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	+	++	++	+	+	+	++

() = ausente; (+) = leve; (++) = moderado; (+++) = intenso.

1 - diminuiu o peso corporal dos animais no período pré-operatório e no período pós-operatório de quatorze dias;

2 - modificou os indicadores histopatológicos da cicatrização, diminuindo os fenômenos exsudativos da inflamação e retardando os fenômenos reparativos do processo cicatricial;

3 - não alterou a concentração tecidual de hidroxiprolina nas anastomoses colônicas;

4 - não provocou deiscências nas anastomoses.

macro- and microscopic aspects of the anastomosis, and tissue hydroxyproline concentrations were recorded. Deflazacort led to a reduction in animal weight during the preoperative period and during the fourteen-day postoperative period. Histopathological analysis showed that deflazacort induced a less intense exsudative inflammatory response and delayed the repair phase of the healing process. However, hydroxyproline concentration in the colonic anastomosis of the rats was not altered by the action of deflazacort, and no anastomotic dehiscence was observed.

KEY WORDS: intestinal healing; anastomoses; corticosteroids

REFERÊNCIAS

Abramowitz HB, McAlister WH. A comparative study of small-bowel anastomosis by angiography and microangiography. *Surgery* 1969; 66: 564-9.

Abramowitz HB, Butcher Jr. HR. Everting and inverting anastomosis. An experimental study of comparative safety. *Am J Surg* 1971; 121: 52-6.

Aprilli F. Estudo comparativo da segurança de anastomoses intestinais em um e dois planos de sutura: trabalho experimental em cães. Ribeirão Preto, 1975. 64p. Tese (Doutorado) - Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo.

Aprilli F, Carril CF, Guimarães AS, Ferreira AL. Estudo comparativo da segurança de três tipos de anastomoses intestinais: trabalho experimental no intestino delgado do cão. *Rev Assoc Med Bras* 1975; 21: 307-8.

Arizón JM, Anguta M, Vallés F, Montero A, Sancho M, López-Rubio F, Latre JM, Calleja F, Casares J, Román M, Segura C, Concha M. Preliminary experience with deflazacort, a new synthetic steroid with fewer

- undesirable side effects, in heart transplant patients. *J Heart Lung Transplant* 1993; 12: 445-9.
- Aszodi A, Ponsky JL. Effects of corticosteroid on the healing bowel anastomosis. *Am Surg* 1984;50: 546-8.
- Bailey HR, La Voo JW, Max E, Smith KW, Hampton JM. Single-layer continuous colorectal anastomosis. *Aust NZJ Surg* 1981; 51: 473-6.
- Bailey HR, La Voo JW, Max E, Smith KW, Butts DR, Hampton JM. Single-layer polypropylene colorectal anastomosis. Experience with 100 cases. *Dis Colon Rectum* 1984; 27: 19-23
- Ballantyne GH. Intestinal suturing. Review of the experimental foundations for traditional doctrines. *Dis Colon Rectum* 1983; 26: 836-43.
- Ballantyne GH. The experimental basis of intestinal suturing. Effect of surgical technique, inflammation, and infection on enteric wound healing. *Dis Colon Rectum* 1984; 27: 61-71.
- Beahrs OH. Complications of colonic surgery. *Surg Clin North Am* 1967; 47: 983-8.
- Beart RW, Kelly KA. Randomized prospective evaluation of the EEA stapler for colorectal anastomoses. *Am J Surg* 1981; 141: 143-7.
- Berliner SD, Burson LC, Lear PE. Intraperitoneal drains in surgery of the colon. Clinical evaluation of 454 cases. *Am J Surg* 1967; 113: 646-7.
- Blake DP, Bubrick MP, Kochsiek GG, Feeney DA, Johnston GR, Strom RL, Hitchcock CR. Low anterior anastomotic dehiscence following preoperative irradiation with 6.000 rads. *Dis Colon Rectum* 1984; 27: 176-81.
- Bornemissza G, Szentkereszty B, Furka I, Mikó I. Comparison of suture materials for intestinal anastomosis. *Acta Chir Acad Scient Hung* 1979; 20: 29-39.
- Brennan SS, Foster ME, Morgan A, Leaper DJ. Prostaglandins in colonic anastomotic healing. *Dis Colon Rectum* 1984; 27: 723-5.
- Bruno A, Cavallo-Perin P, Cassader M, Pagano G. Deflazacort vs prednisone. Effect on blood glucose control in insulin-treated diabetics. *Arch Intern Med* 1987; 147: 679-80.
- Bubrick MP, Lundeen JW, Hitchcock CR. A comparative radiographic study of low anterior colon anastomosis in dogs. *Surgery* 1981; 89: 454-9.
- Bubrick MP, Rolfsmeier ES, Schauer RM, Feeney DA, Johnston GR, Strom RL, Hitchcock CR. Effects of high-dose and low-dose preoperative irradiation on low anterior anastomosis in dogs. *Dis Colon Rectum* 1982; 25: 406-15.
- Bubrick MP, Corman ML, Cahill CJ, Hardy Jr. TG, Nance FC, Shatney CH, Bar Investigational Group. Prospective, randomized trial of the biofragmentable anastomosis ring. *Am J Surg* 1991; 161: 136-43.
- Buniva G, Dubini A, Sassella D. Human bioassay of corticotropin-suppressing, eosinopenic and hyperglycaemic potencies of deflazacort and prednisone. *Curr Ther Res* 1979; 26: 69-81.
- Cali RL, Smyrk TC, Balachford GJ, Thorson AG, Christensen MA. Effect of prostaglandin E1 and steroid on healing colonic anastomosis. *Dis Colon Rectum* 1993; 36: 1148-51.
- Canalis F, Ravitch MM. Study of healing of inverting and everting intestinal anastomosis. *Surg Gynecol Obstet* 1968; 126: 109-14.
- Carril CF. Anastomoses intestinais: métodos invaginantes e métodos por aposição em mesmo alinhamento. Estudo experimental comparativo com apresentação de um processo original. Ribeirão Preto, 1970. 75p. Tese (Livre-docência) - Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo
- Cavallo-Perin P, Bruno A, Ozzello A, Dall'Omo AM, Lombardi A, Cassader M, Imbimbo B, Pagano G. Comparison of acute and subacute effects of deflazacort and prednisone on glucose metabolism in man. *Eur J Clin Pharmacol* 1984; 26: 357-62
- Charb AS, Ling WS, Vasconcelos E. Avaliação experimental dos fios na sutura em um só plano. *Rev Paul Med* 1972; 80: 217-26.
- Clark CG, Wyllie JH, Haggie SJ, Renton P. Comparison of catgut and polyglycolic acid sutures in colonic anastomosis. *World J Surg* 1977; 1: 501-6.
- Cohen SR, Cornell CN, Collins MH, Sell JE, Blanc WA, Altman RP. Healing of ischemic colonic anastomosis in the rat: role of antibiotic preparation. *Surgery* 1985; 97: 443-6.
- Colin JF, Elliot P, Ellis H. The effect of uraemia upon wound healing: an experimental study. *Br J Surg* 1979; 66: 793-7.
- Connell ME. An experimental contribution looking to an improved technique in enterorrhaphy, whereby the number of knots is reduced to two, or even one. *Med Rec* 1982; 42: 335-7.
- Corman ML, Prager ED, Hardy Jr. TG, Bubrick MP, Valtrac (BAR) Study Group. Comparison of the Valtrac biofragmentable anastomosis ring with conventional suture and stapled anastomosis in colon surgery. Results of a prospective, randomized clinical trial. *Dis Colon Rectum* 1989; 32: 183-7
- Cowley LL. One layer end-on intestinal anastomosis using fine monofilament steel sutures. *Am J Surg* 1969; 118: 177-81.
- Criscuolo D, Fraioli F, Bonifacio V, Paolucci D, Isidori A. Effects of a new glucocorticoid, deflazacort, on pituitary-adrenal function in man: a comparison with prednisone. *Int J Clin Pharmacol Ther Toxicol* 1980; 18: 37-41
- Cronin K, Jackson DS, Dunphy JE. Changing bursting strength and collagen content of the healing colon. *Surg Gynecol Obstet* 1968a; 126: 747-53.
- Cronin K, Jackson DS, Dunphy JE. Specific activity of hydroxyproline-tritium in healing colon. *Surg Gynecol Obstet* 1968b; 126: 1061-5.
- Daly JM, Vars HM, Dudrick SJ. Effects of protein depletion on strength of colonic anastomosis. *Surg Gynecol Obstet* 1972; 134: 15-21.
- Debas HT, Thomson FB. A critical review of colectomy with anastomosis. *Surg Gynecol Obstet* 1972; 135: 747-52.
- Deveney KE, Way LW. Effect of different absorbable sutures on healing of gastrointestinal anastomosis. *Am J Surg* 1977; 133: 86-94.
- Dunn DH, Decanini CO, Delaney JP. Colonic anastomosis: inverted and everted, sutured and stapled. *Surg Forum* 1980; 31: 159-61.
- Dunphy JE. The cut gut. *Am J Surg* 1970; 119: 1-8.
- Everett WG. A comparison of one layer and two layer techniques for colorectal anastomosis. *Br J Surg* 1975; 62: 135-40.
- Fauci AS, Dale DC, Balow JE. Glucocorticosteroid therapy: mechanisms of action and clinical considerations. *Ann Intern Med* 1976; 84: 304-15.
- Ferraris JR, Day PF, Gutman R, Granillo E, Ramirez J, Ruiz S, Pasqualini T. Effect of therapy with a new glucocorticoid, deflazacort, on linear growth and growth hormone secretion after renal transplantation. *J Pediatr* 1992; 121: 809-13.
- Fielding LP, Stewart-Brown S, Blesovsky L, Kearney G. Anastomotic integrity after operations for large-bowel cancer: a multicentre study. *Br Med J* 1980; 281: 411-4.
- Fontaine CJ, Dudley HAF. Assessment of suture materials for intestinal use by an extramucosal implant technique and a quantitative histological evaluation. *Br J Surg* 1978; 65: 288-90.
- Forrest L. Current concepts in soft connective tissue wound healing. *Br J Surg* 1983; 70: 133-40.
- Furst MB, Stromberg BV, Blatchford GJ, Christensen MA, Thorson AG. Colonic anastomosis: bursting strength after corticosteroid treatment. *Dis Colon Rectum* 1994; 37: 12-5.
- Gambée LP. A single layer open intestinal anastomosis applicable to the small as well as the large intestine. *Western J Surg Obstet Gynecol* 1951; 59: 1-5.
- Gambée LP, Garnjobst W, Hardwick CE. Ten years' experience with a single layer anastomosis in colon surgery. *Am J Surg* 1956; 92: 222-7.
- Getzen LC. Clinical use of everted intestinal anastomosis. *Surg Gynecol Obstet* 1966; 123: 1027-36.
- Getzen LC, Roe RD, Holloway CK. Comparative study of intestinal anastomotic healing in inverted and everted closures. *Surg Gynecol Obstet* 1966; 123: 1219-27.
- Gilmur DG, Aitkenhead AR, Hothersall AP, Ledingham IM. The effect of hypovolaemia on colonic blood flow in the dog. *Br J Surg* 1980; 67: 82-4.
- Goligher JC, Graham NG, Dombal FT de. Anastomotic dehiscence after anterior resection of rectum and sigmoid. *Br J Surg* 1970a; 57: 109-18.
- Goligher JC, Lee PWG, Simpkins KC, Lintott DJ. A controlled comparison of one- and two-layer techniques of suture to high and low colorectal anastomosis. *Br J Surg* 1977; 609-14
- Goligher JC, Morris C, McAdam WAF, Dombal FT de, Johnston D. A controlled trial of inverting versus everting intestinal suture in clinical large-bowel surgery. *Br J Surg* 1970b; 57: 817-22.
- González E, Robles DC, González LL, Cataldo J, Barreiro LM, Deira S, Amenábar JM, Abba M, Lamy R. Efectos de los corticoides en anastomosis colónicas en ratas. *Rev Argent Cir* 1984; 46: 290-2.
- Gorodiche J, Jourdan P. Anastomoses digestivas en un plan de suture. *Sem Hop Paris* 1951; 27: 3740-7.
- Gray R, Harrington L, Coulton L, Calloway J, Broe M de, Kanis J. Long-term treatment of chronic inflammatory disorders with deflazacort. *J Orthop Rheumatol* 1990; 3: 15-27.
- Gray RES, Doherty SM, Galloway J, Coulton L, Broe M de, Kanis JA. A double-blind study of deflazacort and prednisone in patients with chronic inflammatory disorders. *Arthritis Rheum* 1991; 34: 287-95.

- Guimarães AS. Estudo comparativo da rede vascular sanguínea e da cicatrização em anastomoses intestinais em 1 e 2 planos de sutura. trabalho experimental no intestino delgado do cão. Ribeirão Preto, 1972. 64p. Tese (Doutorado) - Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo.
- Halsted WS. Circular suture of the intestine: an experimental study. *Am J Med Sci* 1887; 94: 436-61.
- Halsted WS. Blind-end circular suture of the intestine, closed ends abutted and the double diaphragm punctured with a knife introduced per rectum. *Ann Surg* 1922; 75: 356-64.
- Hamilton JE. Reappraisal of open intestinal anastomosis. *Ann Surg* 1967; 165: 917-24.
- Harder F, Vogelbach P. Single-layer end-on continuous suture of colonic anastomosis. *Am J Surg* 1988; 155: 611-4.
- Hardy Jr. TG, Pace WG, Maney JW, Katz AR, Kaganov AL. A biofragmentable ring for sutureless bowel anastomosis: an experimental study. *Dis Colon Rectum* 1985; 28: 484-90.
- Hartmann M, Jonsson K, Zederfeldt B. Importance of dehydration in anastomotic and subcutaneous wound healing: an experimental study in rats. *Eur J Surg* 1992; 158: 79-82.
- Hastings JC, Van Winkle Jr W, Barker E, Hines D, Nichols W. Effect of suture materials on healing wounds of the stomach and colon. *Surg Gynecol Obstet* 1975; 140: 701-7.
- Hawley PR. Causes and prevention of colonic anastomotic breakdown. *Dis Colon Rectum* 1973; 16: 272-7.
- Hawley PR, Hunt TK, Dunphy JE. Etiology of colonic anastomotic leaks. *Proc R Soc Med* 1970a; 63: 28-30.
- Hawley PR, Faulk WP, Hunt TK, Dunphy JE. Collagenase activity in the gastro-intestinal tract. *Br J Surg* 1970b; 57: 896-900.
- Haynes Jr RC. Adrenocorticotropic hormone: adrenocortical steroids and their synthetic analogs; inhibitors of the synthesis and actions of adrenocortical hormones. *In: Gilman AG, Rall TW, Nies AS, Taylor P (ed.). The pharmacological basis of therapeutics.* 8 ed. New York, McGraw-Hill, 1990; cap. 60, pp. 1431-62
- Hendriks T, Mastboom WJB. Healing of experimental intestinal anastomosis. Parameters for repair. *Dis Colon Rectum* 1990; 33: 891-901.
- Herrmann JB, Woodward SC, Pulaski EJ. Healing of colonic anastomosis in the rat. *Surg Gynecol Obstet* 1964; 119: 269-75.
- Hesp FLEM, Hendriks T, Lubbers EC, Boer HHM de. Wound healing in the intestinal wall. Effects of infection on experimental ileal and colonic anastomosis. *Dis Colon Rectum* 1984; 27: 462-7.
- Högström H, Haglund U. Postoperative decrease in suture holding capacity in laparotomy wounds and anastomosis. *Acta Chir Scand* 1985; 151: 53-5.
- Houdart R, Lavergne A, Valleur P, Villet R, Hautefeuille P. Vascular evolution of single-layer end-on colonic anastomosis. A microangiographic study of 180 anastomosis in the rat from two to 180 days. *Dis Colon Rectum* 1985; 28: 475-80.
- Houston KA, Rotstein OD. Fibrin sealant in high-risk colonic anastomosis. *Arch Surg* 1988; 123: 230-4.
- Ikeda S, Itoh H, Oohata Y, Nakayama F. Effect of a new prostacyclin analogue on anastomosis of ischemic colon in dogs. *Dis Colon Rectum* 1988; 31: 541-5.
- Irvin TT. Collagen metabolism in infected colonic anastomosis. *Surg Gynecol Obstet* 1976; 143: 220-4.
- Irvin TT. Effects of malnutrition and hyperalimentation on wound healing. *Surg Gynecol Obstet* 1978; 146: 33-7.
- Irvin TT, Edwards JP. Comparison of single-layer inverting, two-layer inverting, and everting anastomosis in the rabbit colon. *Br J Surg* 1973; 60: 453-7.
- Irvin TT, Goligher JC. Aetiology of disruption of intestinal anastomosis. *Br J Surg* 1973; 60: 461-4.
- Irvin TT, Goligher JC, Johnston D. A randomized prospective clinical trial of single-layer and two-layer inverting intestinal anastomosis. *Br J Surg* 1973; 60: 457-60.
- Jennings Jr. WD, Vaughan BL, Moretz WH, Rhode CM, Collins JG. The mucosal factor in intestinal anastomosis. *Am Surg* 1977; 43: 55-9.
- Jex RK, Van Heerden JA, Wolff BG, Ready RL, Ilstrup DM. Gastrointestinal anastomosis. factors affecting early complications. *Ann Surg* 1987; 206: 138-41.
- Jiborn H, Ahonen J, Zederfeldt B. Healing of experimental colonic anastomosis. The effect of suture technic on collagen concentration in the colonic wall. *Am J Surg* 1978a; 135: 333-40.
- Jiborn H, Ahonen J, Zederfeldt B. Healing of experimental colonic anastomosis. I. Bursting strength of the colon after left colon resection and anastomosis. *Am J Surg* 1978b; 136: 587-94.
- Jiborn H, Ahonen J, Zederfeldt B. Healing of experimental colonic anastomosis. II. Breaking strength of the colon after left colon resection and anastomosis. *Am J Surg* 1978c; 136: 595-9.
- Jiborn H, Ahonen J, Zederfeldt B. Healing of experimental colonic anastomosis. III. Collagen metabolism in the colon after left colon resection. *Am J Surg* 1980a; 139: 398-405.
- Jiborn H, Ahonen J, Zederfeldt B. Healing of experimental colonic anastomosis. IV. Effect of suture technique on collagen metabolism in the colonic wall. *Am J Surg* 1980b; 139: 406-13.
- Jonsell G, Edelmann G. Single-layer anastomosis of the colon: a review of 165 cases. *Am J Surg* 1978; 135: 630-2.
- Katz S, Izhar M, Mirelman D. Bacterial adherence to surgical sutures: a possible factor in suture induced infection. *Ann Surg* 1981; 194: 35-41.
- Kerr HH. The development of intestinal surgery. *JAMA* 1923; 81: 641-7.
- Khoury GA, Waxman BP. Large bowel anastomosis. I. The healing process and sutured anastomosis. A review. *Br J Surg* 1983; 70: 61-3.
- Kiss DR, Bocchini SF, Nahas P, Vasconcelos E. Anastomose em plano único de sutura na cirurgia cólica eletiva. *Rev Paul Med* 1976; 87: 64-6.
- Klein L, Chandrarajan J. Collagen degradation in rat skin but not in intestine during rapid growth: effect on collagen types I and III from skin. *Proc Natl Acad Sci USA* 1977; 74: 1436-9.
- Klopper PJ. Collagen in surgical research. *Eur Surg Res* 1986; 18: 218-23.
- Leite CVS, Naresse LE, Kobayasi S, Mionssi JG, Burini RC, Curi PR, Hossne WS. Efeito da desnutrição protéica na anastomose do cólon distal no rato. Estudo da força de ruptura e do colágeno tecidual. *Acta Cir Bras* 1993; 8(4): 145-50.
- Leonardi LS, Mantovani M, Alcântara FG, Hadler WA. Estudo comparativo entre suturas em plano único e em dois planos no intestino delgado na vigência de peritonite: trabalho experimental no cão. *Rev Paul Med* 1977; 89: 5-11.
- Lewis GP. A review. Prostaglandins in inflammation. *J Reticuloendothel Soc* 1977; 22: 389-402.
- Lindström CG, Rosengren JE, Fork FT. Colon of the rat. An anatomic, histologic and radiographic investigation. *Acta Radiol Diagn* 1979; 20: 523-36.
- Lord MG, Valies P, Broughton AC. A morphologic study of the submucosa of the large intestine. *Surg Gynecol Obstet* 1977; 145: 55-60.
- Lord MG, Broughton AC, Williams HTG. A morphologic study on the effect of suturing the submucosa of the large intestine. *Surg Gynecol Obstet* 1978; 146: 211-6.
- Mantovani M, Leonardi LS, Alcântara FG de. Evolução da cicatrização em anastomoses do intestino grosso em condições de normalidade e sob a ação de drogas imunossupressoras: estudo comparativo em cães. *Rev Paul Med* 1979; 94: 118-26.
- Mantovani M, Leonardi LS, Alcântara FG, Hadler WA. Estudo comparativo entre suturas em plano único e em dois planos no intestino delgado na vigência de isquemia: trabalho experimental no cão. *Rev Paul Med* 1976; 87: 56-63.
- Mantovani M, Leonardi LS, Alcântara FG, Hadler WA. Estudo comparativo entre sutura em um e dois planos no intestino delgado na vigência do uso de drogas imunossupressoras: trabalho experimental no cão. *Rev Paul Med* 1977; 89: 35-41.
- Martins Júnior A. Cicatrização de anastomoses intestinais sob efeito da dexametasona: trabalho experimental no intestino delgado do cão. Ribeirão Preto, 1987. 64p. Dissertação (Mestrado) - Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo.
- Martins Júnior A, Guimarães AS, Ferreira AL. Efeito dos corticosteróides na cicatrização de anastomoses intestinais. *Acta Cir Bras* 1992; 7: 28-30.
- Mastboom WJB, Hendriks T, Van Elteren P, Boer HHM de. The influence of NSAIDs on experimental intestinal anastomosis. *Dis Colon Rectum* 1991a; 34: 236-43.
- Mastboom WJB, Hendriks T, Man BM de, Boer HHM de. Influence of methylprednisolone on the healing of intestinal anastomosis in rats. *Br J Surg* 1991b; 78: 54-6.
- Matheson NA, Irving AD. Single layer anastomosis after rectosigmoid resection. *Br J Surg* 1975; 62: 239-42.
- Medgogorac I. Collagen content in different areas of normal and hypertrophied rat myocardium. *Cardiovasc Res* 1980; 14: 551-4.

- Morgenstern L, Yamakawa T, Bein-Shoshan M, Lippman H. Anastomotic leakage after low colonic anastomosis: clinical and experimental aspects. *Am J Surg* 1972; 123: 104-9.
- Morgenstern L, Sanders G, Wahlstrom E, Yadegar J, Amodeo P. Effect of preoperative irradiation on healing of low colorectal anastomosis. *Am J Surg* 1984; 147: 246-9.
- Motson RW, Bolwell JS, Heath AL, Makin CA, Sawaf HA. One-layer colonic anastomosis with polyglycolic acid (Dexon) suture: a 3-year prospective audit. *Ann Royal C Surg Eng* 1984; 66: 19-21.
- Nance FC. New techniques of gastrointestinal anastomosis with the EEA stapler. *Ann Surg* 1979; 189: 587-600.
- Naresse LE, Leite CVS, Rodrigues MAM, Angeleli AYO, Minossi JG, Kobayasi S. Efeito da peritonite fecal na cicatrização do cólon distal no rato. Avaliação anatomopatológica, estudo da força de ruptura e da hidroxiprolina tecidual. *Acta Cir Bras* 1993; 8: 48-53.
- Necula T, Mandache E. Ultrastructural features of the healing area after everting and inverting suture of the small intestine in rabbits. *Acta Morphol Acad Sci Hung* 1974; 22: 227-39.
- Nelsen TS, Anders CJ. Dynamic aspects of small intestinal rupture with special consideration of anastomotic strength. *Arch Surg* 1966; 93: 309-14.
- Oliveira PG. Estudo dos efeitos de uma prostaglandina sintética, o misoprostol, sobre a cicatrização de anastomoses no intestino grosso de ratos. Ribeirão Preto, 1989. 102p. Dissertação (Mestrado) - Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo.
- Oliveira PG. Efeitos da peritonite por *Candida albicans* na cicatrização de anastomoses colônicas: estudo experimental em ratos. Ribeirão Preto, 1995. 119p. Tese (Doutorado) - Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo.
- Oliveira PG, Soares EG, Aprilli F. Influence of misoprostol, a synthetic prostaglandin E1 analog, on the healing of colonic anastomosis in rats. *Dis Colon Rectum* 1994; 37: 660-3.
- Overy RD, Godfrey PJ, Evans M, Pollock AV. Staples or sutures in the colon? A random controlled trial of three methods of colonic anastomosis. *Br J Surg* 1980; 67: 363-4.
- Pagano G, Lombardi A, Ferraris GM, Imbimbo B, Cavallo-Perin P. Acute effect of prednisone and deflazacort on glucose tolerance in prediabetic subjects. *Eur J Clin Pharmacol* 1982; 22: 469-71.
- Parker EM, Kerr H. Intestinal anastomosis without open incisions by means of basting stitches. *Bull Johns Hopkins Hosp* 1908; 19: 132.
- Pereira FEL. Degenerações. Morte celular. Alterações do interstício. In: Bogliolo L (ed.). *Patologia geral*. Rio de Janeiro, Guanabara Koogan, 1993, cap. 4, pp. 45-88.
- Pérez-Tamayo R. Pathology of collagen degradation. A review. *Am J Pathol* 1978; 92: 509-66.
- Phillips JD, Kim CS, Fonkalsrud EW, Zeng H, Dindar H. Effects of chronic corticosteroids and vitamin A on the healing of intestinal anastomosis. *Am J Surg* 1992; 163: 71-7.
- Polglase AL, Hughes ESR, McDermott FT, Pihl E, Burke FR. A comparison of end-to-end staple and suture colorectal anastomosis in the dog. *Surg Gynecol Obstet* 1981; 152: 792-6.
- Price LA. The effect of systemic steroids on ileorectal anastomosis in ulcerative colitis. *Br J Surg* 1968; 55: 839-40.
- Ravitch MM, Canalis F, Weinschelbaum A, McCormick J. Studies in intestinal healing. III. Observations on everting intestinal anastomosis. *Ann Surg* 1967; 166: 670-80.
- Ravitch MM, Brolin R, Kolter J, Yap S. Studies in the healing of intestinal anastomosis. *World J Surg* 1981; 5: 627-37.
- Ravo B. Colorectal anastomotic healing and intracolonic bypass procedure. *Surg Clin North Am* 1988; 68: 1267-94.
- Regazzini RC de O. Efeitos do 5-fluorouracil na cicatrização de anastomoses colônicas: estudo experimental em ratos. Ribeirão Preto, 1996. 66p. Dissertação (Mestrado) - Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo.
- Rocha JJR da. Estudo comparativo entre sutura contínua e sutura com pontos separados em anastomoses colo-cólicas em plano único: trabalho experimental em cães. Ribeirão Preto, 1989. 113p. Tese (Doutorado) - Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo.
- Rosenberg D, Nasser A, Regen JB, Behmer OA. Sutures intestinais. Estudo comparativo entre a sutura clássica em 2 planos e a sutura extramucosa num plano único com emprego de um novo fio absorvível, o ácido poliglicólico. *Rev Assoc Med Bras* 1973; 19: 249-58.
- Rosenberg D, Nasser A, Behmer OA, Regen JB, Oksman PV, Deutsch CR. Ação da betametasona nas anastomoses intestinais em um e dois planos de sutura com diferentes materiais. *Rev Paul Med* 1976; 87: 98-106.
- Rusca JA, Bornside GH, Cohn Jr. I. Everting versus inverting gastrointestinal anastomosis: bacterial leakage and anastomotic disruption. *Ann Surg* 1969; 169: 727-35.
- Scher KS, Scott-Conner C, Jones CW, Leach M. A comparison of stapled and sutured anastomosis in colonic operations. *Surg Gynecol Obstet* 1982; 155: 489-93.
- Schrock TR, Deveney CW, Dunphy JE. Factors contributing to leakage of colonic anastomosis. *Ann Surg* 1973; 177: 513-8.
- Sheridan WG, Lowndes RH, Young HL. Tissue oxygen tension as a predictor of colonic anastomotic healing. *Dis Colon Rectum* 1987; 30: 867-71.
- Skakun GB, Reznick RK, Bailey HR, Smith KW, Max E. The single-layer continuous polypropylene colon anastomosis. A prospective assessment using water-soluble contrast enemas. *Dis Colon Rectum* 1988; 31: 163-8.
- Soares EP. Efeitos do ácido 5-aminossalicílico na cicatrização de anastomoses colônicas: estudo experimental em ratos. Ribeirão Preto, 1996. 70p. Dissertação (Mestrado) - Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo.
- Sousa JB. Estudo da cicatrização em anastomoses no intestino delgado de coelhos tratados com diclofenaco sódico. Ribeirão Preto, 1989. 104p. Dissertação (Mestrado) - Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo.
- Sousa JB. Evolução da cicatrização de anastomoses colônicas sob a ação do diclofenaco sódico administrado no período perioperatório: estudo experimental em coelhos. Ribeirão Preto, 1994. 95p. Tese (Doutorado) - Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo.
- Sousa JB, Soares EG, Aprilli F. Effects of diclofenac sodium on intestinal anastomotic healing: experimental study on the small intestine of rabbits. *Dis Colon Rectum* 1991; 34: 613-7.
- Stegemann H, Stalder K. Determination of hydroxyproline. *Clin Chim Acta* 1967; 18: 267-73.
- Stewart R. Influence of malignant cells on the healing of colonic anastomosis: experimental observations. *Proc R Soc Med* 1973; 66: 1089-91.
- Trueblood HW, Nelsen TS, Kohatsu S, Oberhelman HA. Wound healing in the colon: comparison of inverted and everted closures. *Surgery* 1969; 65: 919-30.
- Vane JR, Botting RM. New insights into the mode of action of anti-inflammatory drugs. *Inflamm Res* 1995; 44: 1-10.
- Vianna AL, Duarte VT, Araújo RC, Barbosa H. Uremia e cicatrização intestinal: estudo experimental em ratos. *Rev Hosp Clin Fac Med São Paulo* 1981; 36: 27-30.
- Waxman BP. Large bowel anastomosis. II. The circular staplers. *Br J Surg* 1983; 70: 64-7.
- Wise L, McAlister W, Stein T, Schuck P. Studies on the healing of anastomosis of small and large intestines. *Surg Gynecol Obstet* 1975; 141: 190-4.
- Yamakawa T, Patin CS, Sobel S, Morgenstern L. Healing of colonic anastomosis following resection for experimental "diverticulitis". *Arch Surg* 1971; 103: 17-20.

Endereço para correspondência:

Mauro Toledo Sirimarco
Rua Halfeld, 1001/1402
36016-000 - Juiz de Fora - MG