

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA: CIRURGIA

MESTRADO INTERINSTITUCIONAL:

FACULDADE DE MEDICINA
UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL

FACULDADE DE MEDICINA
UNIVERSIDADE DE CAXIAS DO SUL

EFEITO DA OXIGENOTERAPIA HIPERBÁRICA NA CICATRIZAÇÃO DA
ANASTOMOSE ESÔFAGOJEJUNAL: ESTUDO EXPERIMENTAL EM RATOS

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

JOÃO DOMINGOS LIONÇO

ORIENTADOR:
PROF. DR. RICHARD RICACHENEVSKY GURSKI

2006

*“Vencer não é nada, se não se teve muito trabalho;
fracassar não é nada se fez-se o melhor possível.”*

Nadia Boulanger

À Márcia, minha esposa, pelo apoio e incentivo irrestritos.

À Lívia e Clarissa, minhas filhas, cujo entusiasmo pela medicina, são para mim estímulo continuado.

AGRADECIMENTOS

Ao Programa de Pós-Graduação em Medicina: Cirurgia, da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, e a todos seus professores que me permitiram elevado grau de aprendizado.

À Universidade de Caxias do Sul pela oportunidade.

Ao Prof. Dr. Richard Ricachenevsky Gurski, médico e professor exemplar, que além da amizade, teve participação inestimável no planejamento e execução deste trabalho.

Aos colegas alunos pelo convívio e pela camaradagem.

Ao Prof. Dr. Wilson Spiandorello pelo apoio dispensado e pela elaboração da análise estatística.

Ao Prof. Luiz Fernando Kehl pelo incentivo.

Ao Prof. Dr. Celso Coelho, do Serviço de Patologia, pela valiosa colaboração na confecção das lâminas.

À Profa. Dra. Luíse Meurer pelo prestimoso auxílio no estudo histológico.

Aos estudantes do curso de medicina da UCS Clarissa Lionço, Fernando Tormen, Lívia Lionço, Lucas Filippi e Tiago Passarin que pelo precioso auxílio tornaram possível a realização desta pesquisa.

Ao médico veterinário Ricardo Bordin pelas importantes orientações.

Ao engenheiro Geraldo Pergher pelos seus fundamentais esclarecimentos.

À sra. Andréia Venturini pela disposição constante em colaborar.

A todas as pessoas que, mesmo sem terem sido citadas, de alguma forma ajudaram a concretizar este estudo.

SUMÁRIO

Lista de Abreviaturas.....	viii
Lista de Figuras e Tabelas.....	viii
Resumo.....	1
Abstract.....	2
1. Introdução.....	3
2. Revisão da Literatura.....	5
2.1. Cicatrização das Feridas.....	5
2.2. Colágeno.....	5
2.3. Oxigenoterapia Hiperbárica.....	7
2. 3.1. Mecanismo de Ação.....	7
2. 3.2. Efeitos da Hiperóxia no Homem.....	8
2. 3. 3. Oxigenoterapia Hiperbárica e Modelos Experimentais.....	9
3. Justificativa.....	11
4. Objetivos.....	12
5. Material e Métodos.....	13
5.1 Animais de experimentação e procedimentos.....	13
5.1.1 Aprovação do Conselho de Ética.....	13
5.1.2 Animais de Experimentação.....	13
5.1.3. Pré-operatório.....	14
5.1.4. Procedimento Cirúrgico.....	14
5.1.5 Pós-operatório.....	19
5.1.6 Câmara Hiperbárica.....	20
5.1.7 Necropsia.....	21
5.2. Avaliação das Variáveis em Estudo.....	22

5.2.1. Fístulas da Anastomose Esôfagojejunal.....	22
5.2.2. Parâmetro Mecânico de Avaliação da Cicatrização pela Força de Ruptura à Tração na Linha da Sutura.....	23
5.2.3. Parâmetro Bioquímico de Avaliação da Cicatrização pela Determinação da Concentração do Colágeno na Anasto- mose.....	25
5.3 Análise Estatística.....	28
6. Resultados.....	29
6.1. Gerais.....	29
6.1.1. Mortalidade.....	29
6.1.2. Variações no Peso.....	29
6.2. Análise das Variáveis em Estudo.....	30
6.2.1. Número de Fístulas da Anastomose.....	30
6.2.2. Medida da Força de Ruptura à Tração na Linha da Sutura.....	31
6.2.3. Determinação da Concentração do Colágeno na Anastomose.....	32
7. Discussão.....	35
7.1. Métodos.....	36
7.2. Resultados.....	38
8. Conclusão.....	40
9. Perspectivas.....	41
10. Referências Bibliográficas.....	42
11. Anexo.....	45

LISTA DE ABREVIATURAS

ATA	atmosfera absoluta
cm	centímetro
EUA	Estados Unidos da América
DP	desvio padrão
g	grama
h	hora
Hg	mercúrio
kg	kilograma
kPa	kiloPascal
mg	miligrama
ml	mililitro
mm	milímetro
N	Newton
O ₂	oxigênio
OHB	oxigenoterapia hiperbárica
psi	libras por polegada quadrada

LISTA DE FIGURAS E TABELAS

Figura 1.	Fibra colágena.....	6
Figura 2.	Síntese do colágeno.....	7
Figura 3.	Laparotomia mediana.....	16
Figura 4.	Secção do duodeno.....	16
Figura 5.	Ligadura dos vasos breves.....	17
Figura 6.	Ligadura da artéria gástrica esquerda.....	17
Figura 7.	Secção do esôfago.....	18
Figura 8.	Abertura da alça jejunal.....	18
Figura 9.	Esôfagojejunostomia.....	19
Figura 10.	Câmara hiperbárica experimental.....	20
Figura 11.	Interior da câmara hiperbárica.....	21
Figura 12.	Fístula da anastomose esôfagojejunal.....	23
Figura 13.	Peça cirúrgica. Anastomose esôfagojejunal.....	24
Figura 14.	Dinamômetro.....	24
Figura 15.	Anastomose esôfagojejunal. Força de ruptura à tração.....	25
Figura 16.	Fibras colágenas novas.....	26
Figura 17.	Fibrose da parede esofágica.....	27
Figura 18.	Box-plot da proporção de fibrose na parede esofágica.....	33
Figura 19.	Box-plot da proporção de fibras colágenas novas na fibrose da parede esofágica.....	34
Tabela 1.	Avaliação do parâmetro mecânico da cicatrização.....	31
Tabela 2.	Avaliação do parâmetro bioquímico da cicatrização.....	32
Tabela 3.	Avaliação do parâmetro bioquímico da cicatrização.....	33

RESUMO

Objetivo: Avaliar o efeito da oxigenoterapia hiperbárica na cicatrização da anastomose esôfagojejunal em ratos gastrectomizados.

Material e Métodos: Foram operados 40 ratos Wistar, adultos machos, com peso entre 322g e 506g. Os animais foram divididos aleatoriamente em dois grupos. No grupo A (controle), 20 ratos foram submetidos à gastrectomia total. No grupo B, 20 ratos foram igualmente gastrectomizados e receberam tratamento pós-operatório com oxigenoterapia hiperbárica por 90 minutos/dia durante sete dias. Todos os ratos foram sacrificados no oitavo dia de pós-operatório e avaliados de acordo com as seguintes variáveis em estudo: a) presença ou não de fístula anastomótica; b) avaliação da cicatrização da anastomose esôfagojejunal através da medida da força de ruptura à tração na linha da sutura segundo Hendriks & Mastboom; c) determinação da concentração de colágeno na anastomose, pelos critérios de Kovács. Para análise estatística comparativa entre os grupos foi utilizado o teste t de Student, considerando-se como significativo $p < 0,05$.

Resultados: Houve 20% de óbitos na amostra, sendo cerca de 60% no grupo A e os 40% restantes no grupo B ($p=N.S.$). Ocorreu apenas uma fístula anastomótica em cada grupo, sendo que em ambos não houve morbidade relacionada ou óbito. As medidas de força de ruptura à tração na linha da sutura entre os grupos ($p=0,528$) e a determinação da concentração de colágeno na anastomose esôfagojejunal ($p=0,89$) não mostraram diferença estatisticamente significativa nos dois grupos.

Conclusões: Utilizando parâmetros clínicos, mecânicos e bioquímicos para avaliar a anastomose esôfagojejunal, concluímos que no presente estudo a oxigenoterapia hiperbárica não interferiu no processo de cicatrização desta anastomose.

Palavras-chave: Anastomose esofágica, Colágeno, Força de ruptura à tração, Oxigenoterapia hiperbárica

ABSTRACT

Purpose: To evaluate the effect of the hyperbaric oxygen therapy on the healing of the esophagojejunal anastomosis in gastrectomized rats.

Material and Methods: 40 Wistar rats male adults with weighing between 322g to 506g were operated. The animals were divided in two random groups. 20 rats from group A (control group), were submitted to total gastrectomy. In group B, 20 rats were equally gastrectomized and received postoperative treatment with hyperbaric oxygen for 90 minutes/day during seven days. All rats were sacrificed on the eighth postoperative day and evaluated according to the following study variables :a) whether there were any anastomotic fistula or not; b) evaluating esophagojejunal anastomosis healing by measuring breaking strength at the suture line as per Hendriks & Mastboom; c) determining of the collagen concentration on the anastomosis, as per Kovács criteria. For the comparative statistical analyses between the groups, Student's "t" test was used, whereas $p < 0,05$ was significant.

Results: There was a 20% rate of deceasing in the sample, whereas 60% occurred in group A and 40% in group B ($p = N.S.$). There was only one anastomotic fistula in each group, and in neither one occurred any morbidity or deaths related. Breaking strength measured at the suture line ($p = 0,528$) and collagen concentration determined at the esophagojejunal anastomosis ($p = 0,89$) did not present any significant statistical difference in either group.

Conclusions: By using clinical, mechanical and biochemical parameters to evaluate the esophagojejunal anastomosis, it was possible to conclude that, in this study, hyperbaric oxygen therapy did not interfere with the healing process of the anastomosis.

Key words: Esophageal anastomosis, Collagen, Breaking strength, Hyperbaric oxygen therapy

1. Introdução

As operações de restabelecimento do trânsito digestivo, principalmente aquelas que envolvem anastomoses esofágicas, continuam a representar um grande desafio para o cirurgião devido ao elevado risco de complicações que esse tipo de anastomose pode acarretar (1,2).

Dentre as anastomoses esofágicas, a anastomose esôfagojejunal é particularmente relevante, uma vez que é realizada após a gastrectomia total, predominantemente em pacientes com câncer de estômago. Embora a incidência geral do câncer do estômago esteja em declínio, há definido aumento do câncer do fundo gástrico e da cárdia. Nos Estados Unidos da América 27% a 44% dos casos de câncer gástrico localizam-se no terço proximal do estômago (3).

O câncer da cárdia, de comportamento distinto, também alterou sua frequência. Em países industrializados, seus índices variaram de 29,1% a 52,2% entre os anos de 1984 a 1993 (4). Enquanto o tumor epidermóide tem incidência estável nos EUA há vários anos, o adenocarcinoma do esôfago distal, que tem como precursor o esôfago de Barrett, corresponde a aproximadamente 50% dos casos (5).

O esôfago, devido as suas peculiaridades anatômicas e fisiológicas, é um órgão de difícil cicatrização. Possui circulação sanguínea precária, disposição longitudinal de fibras musculares, parede delgada e ausência de serosa. Este fato, confere à cirurgia esofágica altos índices de fístula anastomótica, em média 20%, constituindo-se na causa mais importante de complicações pós-operatórias tanto em relação à morbidade quanto à mortalidade (6).

Fatores locais como técnica cirúrgica, fluxo sanguíneo, tensão na linha da sutura, contaminação bacteriana e fatores sistêmicos representados por comorbidades, desnutrição, metabolismo do colágeno e infecção colaboram para o retardo ou insucesso da cicatrização neste tipo de procedimento (7,8,9).

Apesar de uma maior compreensão dos fenômenos clínicos, metabólicos, nutricionais e infecciosos, as deiscências nas anastomoses esofágicas continuam a acontecer em números consideráveis. Vários estudos foram realizados avaliando resultados de diferentes suturas esofágicas. Técnicas manuais alternativas, suturas mecânicas, uso de anéis biodegradáveis e reforços anastomóticos com colágeno, foram utilizados em experimentação animal, sem no entanto diminuir a freqüência de insucessos sobre as anastomoses, o que denota que o problema está distante de ser solucionado (6,8,9,10).

A isquemia tecidual é um dos fatores mais importantes relacionados ao baixo grau de cicatrização, propiciando em conseqüência, o aparecimento de fístulas da anastomose. Uma oferta aumentada de oxigênio nessas condições pode reverter a hipóxia, prevenir os efeitos adversos da isquemia e acelerar o processo de cicatrização. Uma das formas mais utilizadas até hoje em várias situações clínicas de se obter hiperóxia tecidual é através da administração de oxigênio hiperbárico, porém até o momento não existem relatos de utilização deste método para melhora da isquemia de anastomoses digestivas (11).

2. Revisão da Literatura

2.1. Cicatrização das Feridas

A cicatrização é um fenômeno complexo, que tem como objetivo, estabelecida a ferida, lesão ou trauma, limitar seu dano e promover a recuperação funcional dos tecidos. A cicatrização das anastomoses do trato gastrointestinal processa-se em três fases.

Fase 1, fase inflamatória, ocorre do primeiro ao quarto dia e se caracteriza por edema e inflamação, atividade de neutrófilos e macrófagos e ativação dos mecanismos de coagulação. A regeneração epitelial não é suficiente para fortalecer a cicatrização e, nesse período, há lise importante do colágeno o que caracteriza momento crítico da cicatrização (12). A esse tempo, em anastomoses sobre o esôfago, há uma diminuição de cerca de 37% na força necessária para promover a ruptura da anastomose (7).

Fase 2, fase proliferativa, se estende do quarto ao décimo quarto dia, é quando acontece a produção e proliferação dos fibroblastos e a síntese do colágeno (fibroplasia). Nesse período há um equilíbrio entre a lise e a síntese do colágeno e um aumento da força necessária para a ruptura da anastomose.

Fase 3, fase de maturação, se prolonga do décimo quarto dia até 180 dias. Nesse tempo há a reorganização e recuperação completa da cicatriz (12).

2.2. Colágeno

O colágeno é uma proteína fibrosa, rica em aminoácidos do tipo glicina e prolina, formada por três cadeias alfa polipeptídicas em tripla hélice. A prolina proporciona estabilidade à conformação helicoidal de cada cadeia alfa enquanto a glicina permite a justaposição das três cadeias para formar a super-hélice (figura 1). Existem pelo menos 20 tipos de colágenos os quais constituem 25% da massa protéica dos mamíferos (13). No aparelho digestivo, está largamente distribuído na submucosa sendo encontrados os tipos I (68%), tipo III (20%) e tipo V (12%). O tipo I é a fibra grossa, o tipo III é o colágeno fibrilar rico em hidroxiprolina e o tipo V é encontrado na membrana basal (7,9). Para a síntese do colágeno junto aos ribossomos do retículo endoplasmático há a necessidade da presença do oxigênio (figura 2). A produção do colágeno não só está relacionada à tensão de oxigênio nos tecidos bem como é fundamental para o processo da cicatrização e é o maior responsável pela força tênsil na linha da sutura (14).

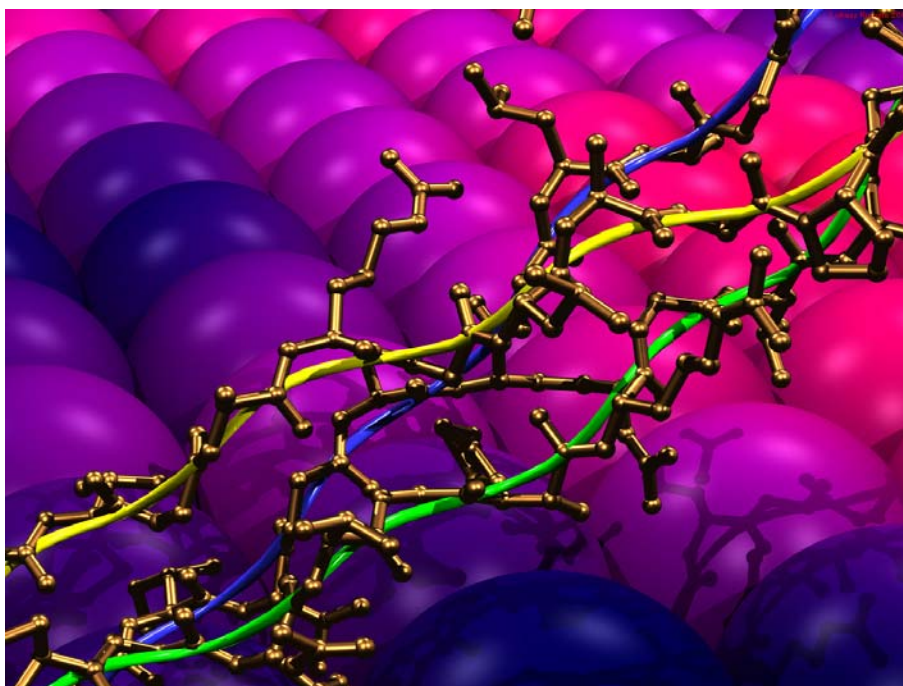
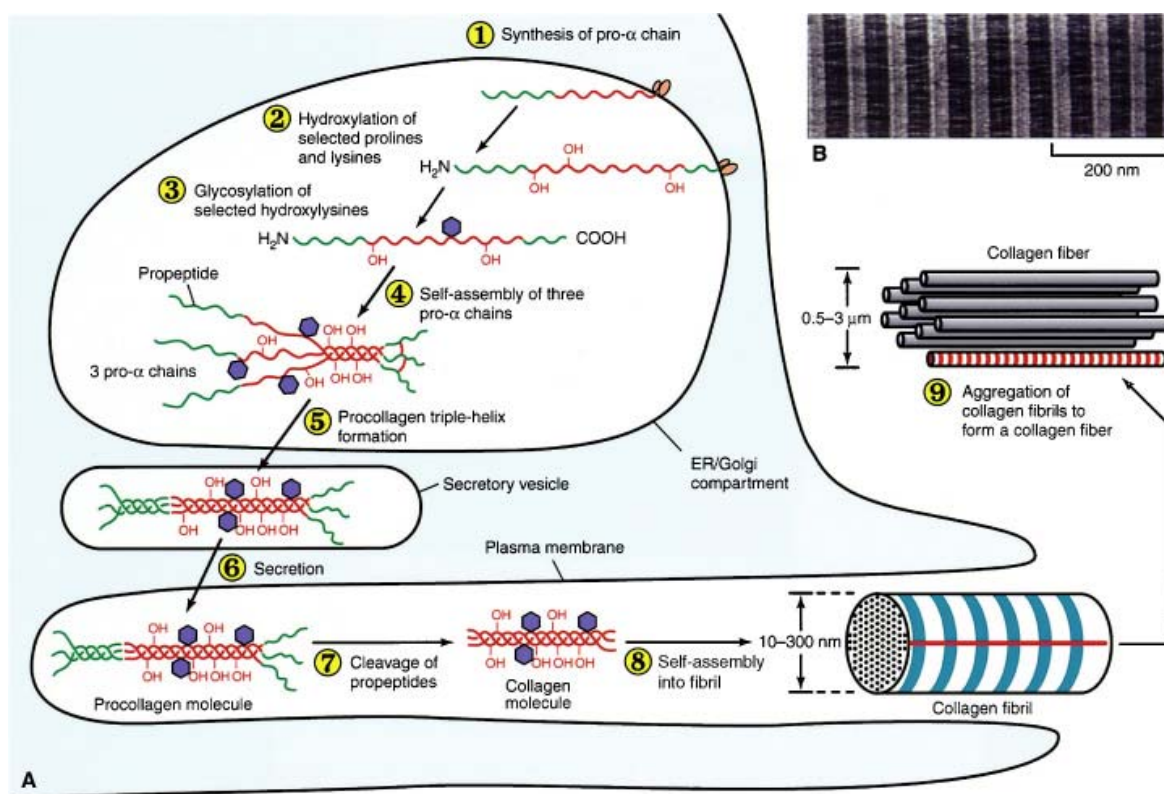


Figura 1. Fibra colágena. (Fonte: www.konsta.net/chemwalls.php)



Copyright © 2004, Elsevier.

Figura 2. Síntese do colágeno. (Sabiston, Tratado de cirurgia,2004)

2.3 Oxigenoterapia Hiperbárica

2.3.1. Mecanismo de Ação

A oxigenoterapia hiperbárica (OHB) é uma modalidade terapêutica que consiste na oferta de oxigênio puro em ambiente pressurizado 2 a 3 vezes a pressão atmosférica no nível do mar (1 ATA). A OHB pode resultar em uma tensão arterial de O₂ em excesso de 2000 mmHg e uma pressão de O₂ nos tecidos ao redor de 400mmHg. A pressão na OHB é expressa em múltiplos da pressão atmosférica no nível do mar que é 1 ATA (1 ATA = 14,7 psi, 101,3 kPa, 760mmHg) (15,16).

A OHB oferece à célula em sofrimento aquilo que ela mais necessita, o oxigênio. Isto é possível porque a respiração de O₂ em ambiente com pressão atmosférica acima de 1 ATA promove a diluição desse gás no plasma. Quanto maior a pressão do ambiente onde o indivíduo se encontra respirando O₂ a 100%, maior a concentração de O₂ diluído no plasma, tanto é que sob pressão de 3 ATA é possível manter um paciente vivo só com o teor de oxigênio diluído no plasma, porque atinge valores de até 6,8 vol% (17).

2.3.2. Efeitos da Hiperóxia no Homem

O ambiente hiperbárico, ao propiciar um grande aumento na oferta de oxigênio aos tecidos, reduz a hipóxia, diminui o edema celular por ação vasoconstritora não hipóxica, minimiza a aderência dos leucócitos no endotélio vascular melhorando a microcirculação e potencializa a ação de vários medicamentos, entre os quais os antibióticos.

Em relação à cicatrização, a OHB favorece a angiogênese por aumentar a produção do fator de crescimento endotelial pelos macrófagos. Além disso, promove aumento na proliferação de fibroblastos e conseqüentemente o incremento do colágeno nos tecidos melhorando a sua estabilidade e melhora a capacidade bactericida dos leucócitos através do aumento da fagocitose sobre as bactérias (18).

Nas doenças infecciosas e traumáticas agudas, utilizada como adjuvante do tratamento, a OHB permitiu ao cirurgião ser mais conservador no debridamento das lesões, diminuindo a mortalidade quando comparada ao grupo controle. Em lesões tissulares crônicas, diabéticas ou não, o uso da OHB mostrou

benefícios como a diminuição significativa das lesões e menor número de amputações. Quanto ao uso da OHB, em lesão provocada por isquemia-reperfusão, vem sendo empregada devido a redução da área de inflamação da isquemia, principalmente em musculatura esquelética, por conta da diminuição da adesão dos polimorfonucleares ao endotélio e redução na formação de radicais livres (15).

Para ser eficaz, a oxigenoterapia hiperbárica deve ter um número mínimo de sessões, volume ideal de atmosferas e tempo adequado de aplicação. Embora esses parâmetros possam variar de acordo com a patologia a ser tratada, os protocolos de estudo, de maneira abrangente, afirmam que sessões de até 120 minutos e que não excedam a 3 ATA são seguras (15,16).

As principais indicações para o uso da oxigenoterapia hiperbárica são: embolia gasosa, doença descompressiva, envenenamento por monóxido de carbono, lesões por esmagamento e isquemias traumáticas agudas, osteomielite, osteorradionecrose, retalhos e enxertos comprometidos, infecções necrotizantes de partes moles, anemia severa, e lesões refratárias à cicatrização associadas à insuficiência vascular diabética ou não (18).

2.3.3. Oxigenoterapia Hiperbárica e Modelos Experimentais

Diversos autores realizaram experimentos em ratos no que se refere à cicatrização e isquemia tecidual. Gursu et al provocaram lesão cáustica em esôfago de ratos. Quando comparados ao grupo controle, os ratos submetidos à ação da OHB apresentaram benefícios a curto e longo prazo em relação a cicatrização das lesões, grau de estenose e mortalidade (19).

Niinikoski realizou ferimentos em ratos e posteriormente submetendo-os à hiperóxia, mostrou haver acúmulo de colágeno na lesão tecidual provocada (20). Rocha et al analisaram o efeito da aplicação de oxigenoterapia hiperbárica em alças cólicas, sem anastomose e em três diferentes graus de isquemia, e verificaram não haver melhora com administração da OHB (21). Hamzaoglu et al estudaram anastomoses de intestino grosso normal e isquêmico induzido em ratos, e verificaram que na fase inicial da cicatrização, a oxigenoterapia hiperbárica melhorou o processo de regeneração tecidual, aumentando a densidade de hidroxiprolina na linha de sutura bem como elevou a resistência da anastomose quando submetida à pressão de ruptura à distensão por líquido (11).

Wu aplicou hiperóxia hiperbárica em anastomoses de cólons de ratos comprometidos ou não pela isquemia, e verificou haver elevação da força de resistência da anastomose à ruptura na fase inicial da cicatrização (22). Yagci et al administraram oxigênio hiperbárico no pré e pós-operatório de anastomoses sobre o cólon normal e isquêmico e observaram melhora nos parâmetros mecânico e bioquímico da cicatrização (23).

A ausência na literatura pesquisada e a importância do tema proposto motivaram o presente estudo.

3. Justificativa

A isquemia tecidual é um dos fatores que mais contribui para as fístulas das anastomoses do tubo digestivo. O esôfago é uma víscera com pobre vascularização, o que é um dos fatores que comprometem a cicatrização. A hiperóxia, ao reduzir o dano causado pela isquemia, fortalece a reparação tecidual. É possível que a isquemia resultante na anastomose esôfagojejunal possa ser minimizada pela maior oferta de oxigênio através da oxigenioterapia hiperbárica. Em face destes conceitos resolvemos testar esta hipótese utilizando um modelo experimental animal em ratos.

4. Objetivo

Avaliar o efeito da oxigenoterapia hiperbárica sobre a anastomose esofagojejunal, realizada em ratos pós-gastrectomia total, mensurado pelo índice de fístulas anastomóticas, pela medida da força de ruptura à tração na linha da sutura e pela concentração do colágeno na anastomose.

5. Material e Métodos

5.1. Animais de experimentação e procedimentos

5.1.1 Aprovação do Conselho de Ética

Este trabalho foi submetido à apreciação e aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade de Caxias do Sul.

5.1.2. Animais de Experimentação

Foram utilizados 40 ratos Wistar adultos machos, com 120 dias de vida, pesando entre 322 e 506 gramas, média de 428g, provenientes do biotério do Campus Universitário da Universidade Federal de Pelotas. Os animais foram mantidos no Laboratório de Fisiologia da Universidade de Caxias do Sul, em ambiente limpo, silencioso, condições normais de umidade e temperatura entre 20° e 24° C. O ciclo claro e escuro de luz artificial obedeceu período de 12 horas (claro das 18h às 6h e escuro das 6h às 18h).

Foram alojados em armários apropriados e albergados em caixas plásticas, contendo 4 ratos por caixa, com tampas de arame e com fundo coberto por maravalha de pinus. As caixas mediam 16,5 cm de altura, 40 cm de comprimento e 33 cm de largura. Recebiam à vontade, água e ração (NUVILAB CR1 – NUVITAL NUTRIENTES), e foram higienizadas em dias alternados. Essas especificações técnicas de cuidados com os animais estiveram de acordo com os

preceitos do National Institute of Health (Guide for the Care and Use of Laboratory Animals).

As caixas plásticas foram numeradas de 1 a 10. Os animais foram divididos aleatoriamente (sorteados) em dois grupos de 20 ratos. Os 20 ratos sorteados para realizar apenas a gastrectomia total foram colocados no grupo denominado A, enquanto que os outros 20 que receberam tratamento complementar pós-operatória de OHB foram alocados no grupo B. O cirurgião, ao executar os procedimentos cirúrgicos, não tinha conhecimento a qual grupo os ratos pertenceram.

5.1.3. Pré – operatório

Os roedores ficaram em jejum para alimento sólido (ração) por 12 horas, porém receberam líquido via oral livremente até minutos antes do procedimento cirúrgico. Nesse tempo a água foi substituída por soro glicosado 5%. Os ratos foram sedados levemente, com gás halotano embebido em gaze, e a seguir, anestesiados com tiletamina e zolazepam (Telazol) na dose única de 30mg/kg por via intramuscular. Logo após foram pesados, realizada a tricotomia abdominal e aplicada dose única de antibioticoprofilaxia com ampicilina sódica de 30mg/kg intramuscular. O plano anestésico foi alcançado entre 5 e 10 minutos após o qual o rato foi posicionado em decúbito dorsal horizontal e fixado à mesa cirúrgica.

5.1.4. Procedimento Cirúrgico

Todos os ratos foram operados pelo mesmo cirurgião (JDL), com a mesma equipe cirúrgica, sendo utilizada a mesma técnica e o mesmo instrumental. As cirurgias foram realizadas em número de duas ao dia, sempre no mesmo horário. Todo o material cirúrgico usado foi esterilizado. Os campos cirúrgicos e as compressas eram previamente autoclavados e o instrumental lavado e colocado em solução de glutaraldeído por 30 minutos. O tempo aproximado de cada operação foi de 45 minutos e não ocorreu acidente intraoperatório. Durante o tempo da cirurgia os ratos receberam 1 litro de O₂ contínuo através de campânula nasal. Os passos do procedimento seguiram as seguintes etapas (figuras 3,4,5,6,7,8,9):

- a) Anti-sepsia com álcool iodado;
- b) Laparotomia mediana de 3 cm;
- c) Gastrectomia Total – Secção e ligadura do duodeno, liberação dos vasos breves e secção do esôfago;
- d) Abertura de 3 mm em alça jejunal situada a 3 cm do ângulo duodenojejunal;
- e) Esôfagojejunostomia isoperistáltica terminolateral com pontos separados de fio 7/0 polipropileno em um plano total de sutura;
- f) Instilação de 5 ml de soro fisiológico na cavidade abdominal para auxiliar na reidratação do roedor;
- g) Fechamento por planos da parede abdominal com fio de mononylon 4/0.



Figura 3. Laparotomia mediana

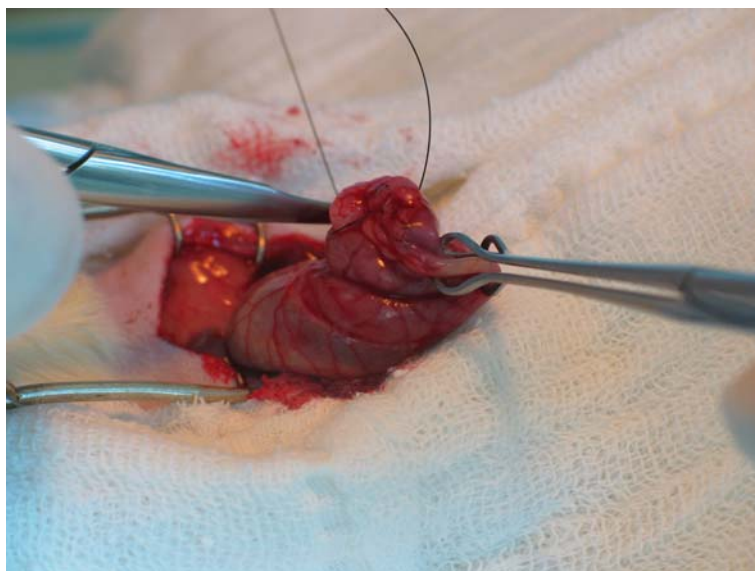


Figura 4. Secção e ligadura do duodeno



Figura 5. Ligadura dos vasos breves

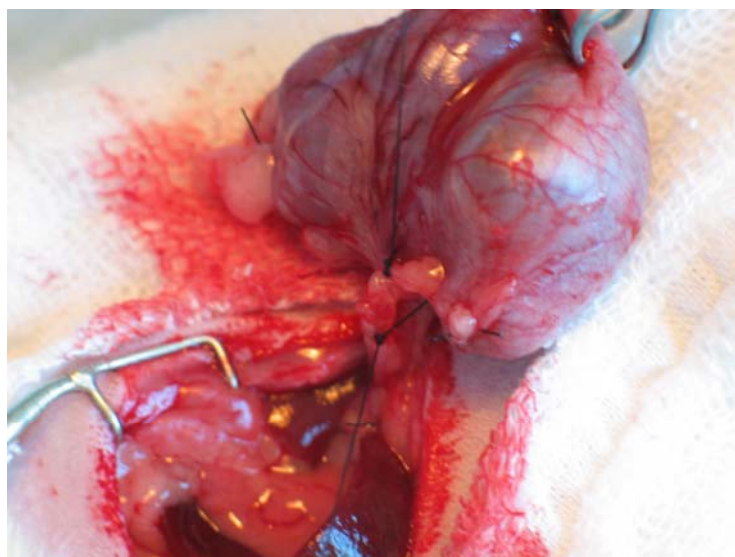


Figura 6. Ligadura da artéria gástrica esquerda

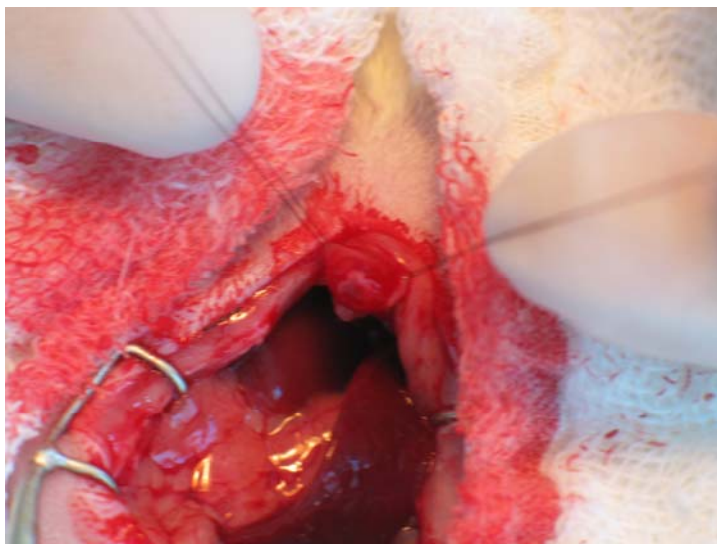


Figura 7. Secção do esôfago

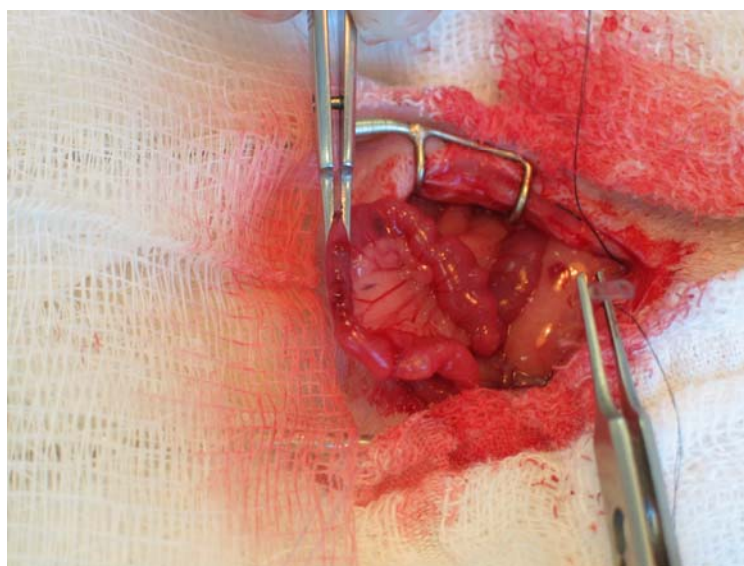


Figura 8. Abertura da alça jejunal

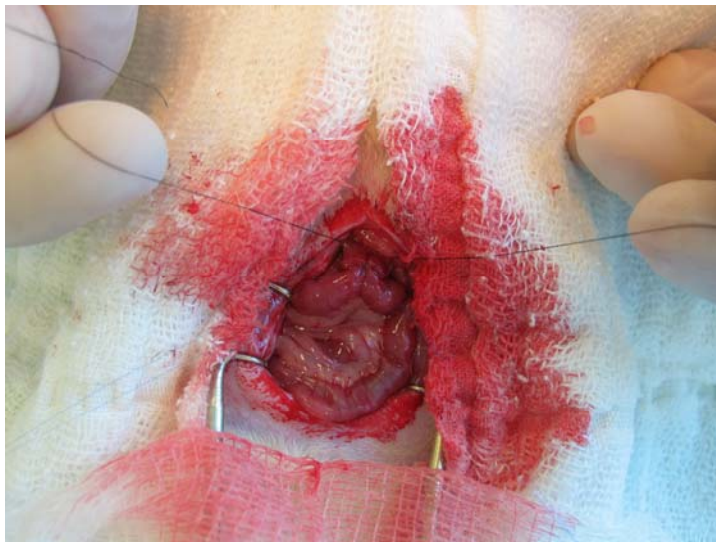


Figura 9. Esôfagojejunostomia

5.1.5. Pós-operatório

Terminada a operação, todos os ratos receberam infusão de 10 ml de soro fisiológico morno no subcutâneo da região dorsal, através de seringa, para hidratação pós-operatória. Ao acordarem, receberam dose única de analgésico opióide (butorphanol) no subcutâneo de 0,1 mg/kg. A seguir, foram colocados em caixas individuais numeradas e identificadas de acordo com o grupo ao qual os ratos pertenceram e voltavam ao ambiente do período pré-operatório. Nas primeiras 24 horas após a cirurgia os ratos ficaram em jejum total. Do primeiro ao terceiro dia de pós-operatório foi ofertado soro glicosado 5% por via oral e jejum para a ração. A partir do terceiro dia foi reintroduzida a ração e água a vontade. Os animais do grupo B, a partir do primeiro dia de pós-operatório, foram colocados na câmara hiperbárica e iniciaram as sessões de oxigenoterapia hiperbárica, que consistiram de uma sessão ao dia, por sete dias consecutivos, recebendo O₂ a 100% com pressão de 2,5 ATA durante 90 minutos.

5.1.6. Câmara Hiperbárica

A câmara hiperbárica experimental utilizada foi da marca Janus e Pergher Indústria de Equipamentos de Ar Ltda. Tem formato cilíndrico feita em aço-carbono com volume total de 80 litros. Possui 70 cm de comprimento, 38 cm de diâmetro e 3,3 mm de espessura. Apresenta um visor superior em acrílico com 5 cm de diâmetro e uma porta (escotilha) de entrada e saída em uma das extremidades. A câmara permitia pouca visibilidade dos animais durante as sessões de hiperóxia hiperbárica. Adaptados à câmara havia um manômetro, válvula de segurança, termômetro, mangueira de alta pressão e cilindro de oxigênio (figuras 10 e 11).



Figura 10. Câmara hiperbárica experimental

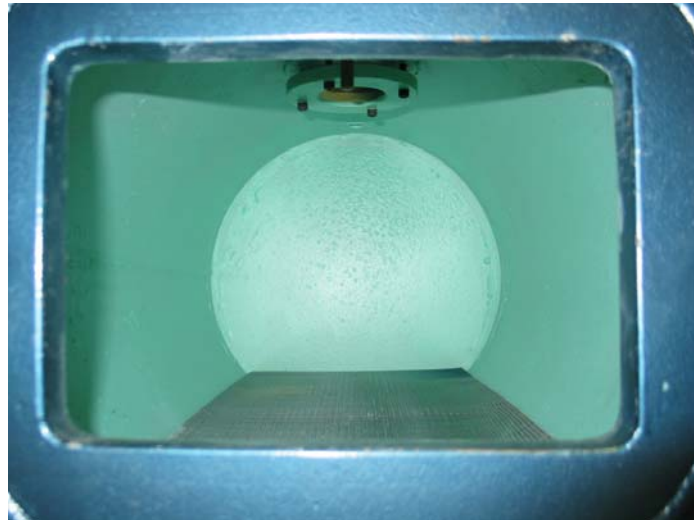


Figura 11. Interior da câmara hiperbárica

Para a realização da sessão hiperbárica, os ratos foram colocados no interior da câmara em caixas plásticas tampadas, individuais e que possibilitavam acondicionamento com até quatro ratos confortavelmente instalados. Após o fechamento da escotilha, a sessão de oxigenoterapia hiperbárica era iniciada. O vaso de pressão recebia um fluxo constante de O₂ a 10 litros por minuto e a 100%. Promovia-se um vazamento contínuo da câmara de 2 litros por minuto para retirada do gás carbônico. A sessão tinha duração de 90 minutos. Nos primeiros 10 a 15 minutos a pressão era elevada gradualmente até atingir 2,5 ATA. Ao final da sessão a câmara era despressurizada gradativamente também por 10 a 15 minutos.(11) Após a sessão os ratos retornavam ao seu ambiente normal. As sessões eram repetidas diariamente sempre no mesmo horário.

5.1.7. Necropsia

Todos os ratos, no oitavo dia de pós-operatório, foram sacrificados com dose letal de gás halotano e a seguir necropsiados. Todos os roedores que

morreram antes da data determinada para o sacrifício também foram necropsiados. Praticou-se incisão ampla mediana toracoabdominal a qual permitiu detectar a presença ou não de aderências, secreções ou fístulas. As peças cirúrgicas, constituídas de 3cm de esôfago, da anastomose esôfagojejunal e 3cm de alças jejunais, foram retiradas para estudo mecânico, bioquímico e histológico da cicatrização. Foram suavemente malaxadas com os dedos para limpeza de sua luz, as aderências frouxas junto a linha da anastomose foram retiradas e as mais firmes deixadas como tal com o objetivo de não provocar lesão e prejudicar o estudo mecânico.

5.2. Avaliação das Variáveis em Estudo

5.2.1. Fístulas da Anastomose Esôfagojejunal

A avaliação da presença de fistula na anastomose foi realizada no momento da necropsia pela observação macroscópica na zona de anastomose, definindo-se como fistula a presença de vazamento de qualquer conteúdo na região, ou mesmo de abscesso perianastomótico que pudesse estar bloqueando orifício fistuloso. Para confirmar o achado, foi retirada a peça com cuidado e mandada a região para exame histológico a fim de que o patologista pudesse confirmar a integridade ou não da sutura (figura 12).



Figura 12. Fístula da anastomose

5.2.2. Parâmetro Mecânico de Avaliação da Cicatrização pela Força de Ruptura à Tração na Linha da Sutura

Este teste teve o objetivo de avaliar a resistência intrínseca da anastomose durante a cicatrização. Hendriks e Mastboom (24) referem dois métodos de avaliação, diferentes entre si, mas com a mesma finalidade, quais sejam: Pressão de Ruptura à Distensão por Líquido ou Ar e Força de Ruptura à Tração. O método utilizado neste trabalho, foi o da Força de Ruptura à Tração. Foi realizado pela primeira vez por Hermann et al em 1964, e seguido por outros autores como Jiborn e Blomquist (25,26).

Este método consistiu na medida da quantidade de força necessária para romper a linha de sutura utilizando um eixo longitudinal e tração dos tecidos em sentidos opostos. Para isso foi usado um dinamômetro destinado a medir força através de deformação causada por essa mesma força sobre um sistema elástico.

Esse instrumento é constituído por uma mola cuja deformação varia linearmente com a força que a produz (24). As extremidades do esôfago e das alças jejunais tiveram a luz ocluída com fio de sutura e então acopladas ao dinamômetro. A tração foi exercida em sentidos opostos de forma contínua e constante a 1 cm/mim conforme Cui e Urschel (8). No momento da ruptura na linha de sutura verificava-se a força necessária para o rompimento a qual era anotada para posterior mensuração. Todas as peças cirúrgicas romperam na anastomose (figuras 13, 14 e 15).

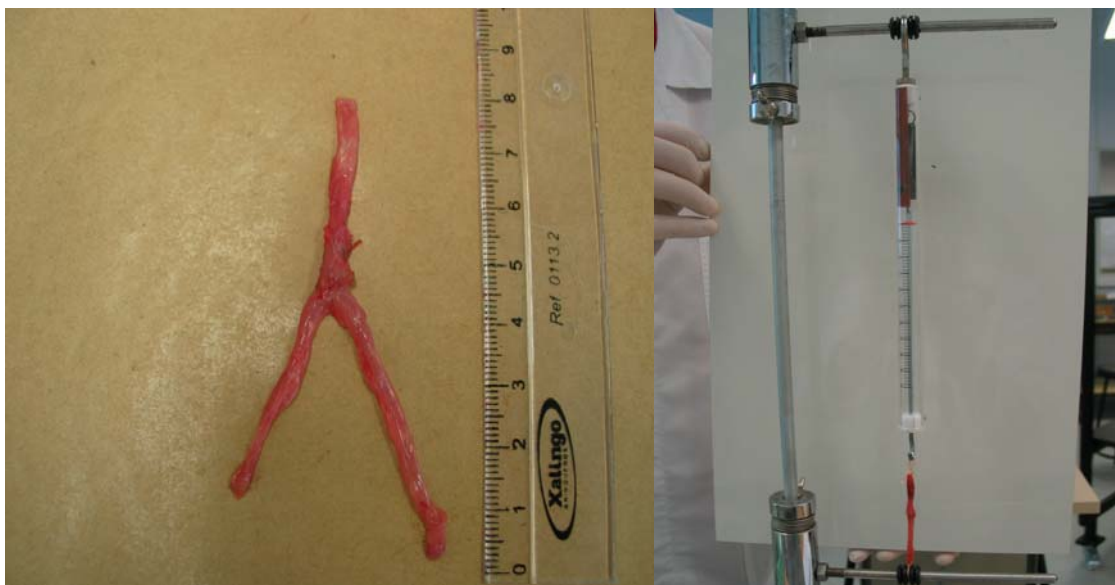


Figura 13. Anastomose esôfagojejunal

Figura 14. Dinamômetro



Figura 15. Força de ruptura à tração.

5.2.3. Parâmetro Bioquímico de Avaliação da Cicatrização pela Determinação da Concentração de Colágeno na Anastomose

Com a anastomose rompida, foram retirados os pontos da sutura e as peças acondicionadas em potes plásticos contendo formol a 10%, banhados em concentrações crescentes de álcool e diafanização com xilol. Posteriormente foram impregnadas em parafina, formando blocos, e seccionadas em micrótomo, com espessura de quatro micras, no tecido esofágico. Foram a seguir coradas com Hematoxilina-Eosina e Picrosirius e visualizadas ao microscópio óptico com grande aumento (400X) à luz polarizada conforme Rabau e Dayan (27).

Estabeleceram-se dois critérios para a avaliação do parâmetro bioquímico, quais sejam: o primeiro, foi a proporção entre fibras colágenas novas (jovens), finas e de coloração esverdeadas, e fibras maduras, grossas e de coloração

alaranjada ou vermelha, encontradas na fibrose da parede do esôfago de acordo com Kovács et al (6). Tal proporção foi determinada em dez campos amostrais aleatórios de grande aumento e obtida uma média. No segundo critério, foi realizada uma estimativa da proporção de fibrose total encontrada na topografia da ruptura (camada muscular), independente da cor que se coloriu a polarização em relação a tecidos não polarizados. A aferição foi feita de maneira semiquantitativa (figuras 16 e 17).

O preparo das peças e a montagem das lâminas foram realizadas no Laboratório de Patologia da Universidade de Caxias do Sul. A leitura das lâminas foi feita por patologista digestiva (LM) do serviço de Patologia do Hospital de Clínicas de Porto Alegre, estando esta patologista cegada em relação à qual dos grupos de ratos as lâminas pertenceram.

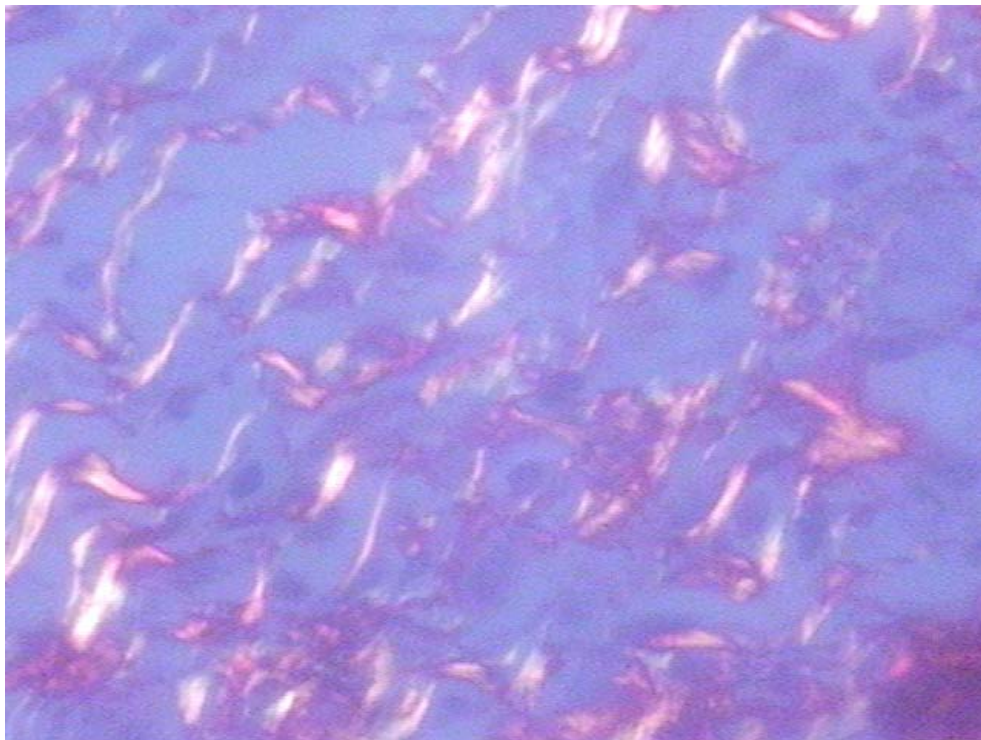


Figura 16. As fibras colágenas novas são de coloração esverdeada e possuem arranjo frouxo. Picrosirius com luz polarizada, aumento de 400X.

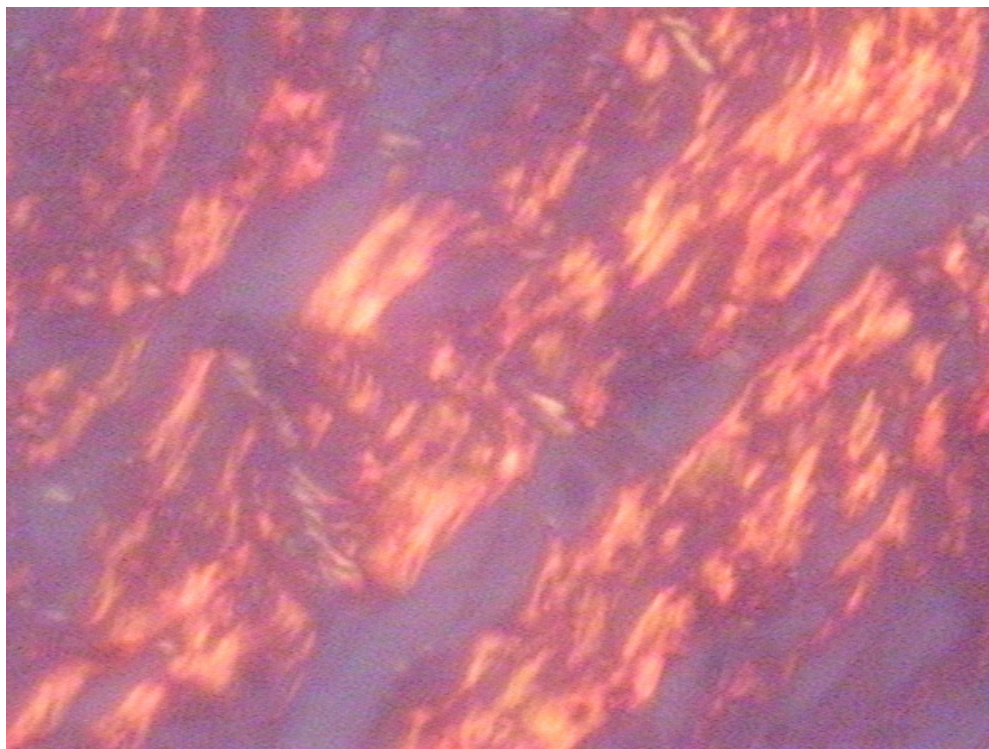


Figura 17. Fibrose densa da parede esofágica. As fibras maduras são de coloração alaranjada. Picosirius com luz polarizada, aumento de 400X.

5.3. Análise Estatística

Na comparação entre os grupos, de variáveis paramétricas, para medida da força de ruptura à tração na linha da sutura e da determinação da concentração do colágeno na anastomose, foi usado o teste t de Student .

Foi utilizado o programa estatístico (SPSS) versão 12.0, considerando-se como significativo $p < 0,05$.

6. Resultados

6.1. Gerais

6.1.1. Mortalidade

Dos 40 ratos submetidos ao experimento, oito morreram, correspondendo a 20% da amostra. Houve cinco perdas no grupo A (25%), grupo controle, e três perdas no grupo B (15%). A diferença de mortalidade entre os grupos foi analisada através do teste Qui-quadrado de Pearson que resultou no $p=0,705$. As perdas por óbito foram semelhantes nos dois grupos.

No grupo controle (grupo A), quatro ratos (nº 31,34,38,39) faleceram nas primeiras 24h de pós-operatório sem causa determinada. Um quinto rato morreu no quarto dia de pós-operatório por provável estenose da anastomose. No grupo B, morreram três ratos. O rato de número 9 ao início da laparotomia, o rato de nº 14 nas primeiras 24h da operação e o rato nº 23 por apresentar no terceiro dia de pós-operatório, necrose extensa do intestino delgado.

6.1.2. Variações no peso

Os 40 animais possuíam média de peso de 428g, com amplitude de 184g, variando entre 322g e 506g e com desvio padrão de 41,2g. Os ratos que foram submetidos a tratamento com OHB tinham peso médio de 428,5g (DP 36,6g) e os ratos do grupo controle pesaram 429g (DP 46,2g). Possuíam variâncias

semelhantes e a diferença (-0,5g) foi comparada através do teste t de Student que mostrou $p=0,973$.

Ao final do estudo, os ratos perderam em média 76,9g, que variou de 35g a 105g com DP de 15,6g. As perdas de peso nos grupos foram: 76,8g no grupo submetido à OHB (DP 17,3g) e 76,9g no grupo controle (DP 14,1g). A comparação das perdas de peso pelo teste t de Student, com variâncias semelhantes, resultou no $p=0,98$.

Na análise final do estudo, excluídas as oito perdas por óbitos, mostrou que o peso dos ratos foi: 354,4g (DP 30,3g) no grupo B e 347,8g (DP 44,2g) no grupo A. A diferença de 6,6g foi analisada pelo teste t de Student, com variâncias semelhantes, e resultou no $p=0,61$. Concluiu-se que os dois grupos foram comparáveis em relação a esta variável.

6.2. Análise das variáveis em estudo

6.2.1. Número de fístulas da anastomose

Ocorreu uma fístula da anastomose esôfagojejunal em cada grupo do experimento. As fístulas estavam bloqueadas, eram de orifícios semelhantes e correspondiam ao ponto de sutura da parede posterior.

Não havia odor ou secreção na cavidade abdominal dos animais. É muito provável que as deiscências tenham ocorrido por problema técnico na confecção da sutura. Os ratos foram o de nº 10 (grupo B) e de nº 15 (grupo A) do experimento. No período de tempo do pós-operatório, os roedores não

apresentaram nenhuma manifestação clínica ou de comportamento que pudessem ter sido observadas como anormais.

6.2.2. Medida da Força de Ruptura à Tração na Linha da Sutura

No grupo A (15 ratos) a anastomose rompeu, em média, com 1,63 N de força (DP 0,36). No grupo B, tratado com oxigênio hiperbárico (16 ratos), a anastomose rompeu, em média, com 1,52 N de força quando submetida à tração (DP 0,60). A diferença absoluta ente os grupos foi de 0,11 N. A comparação da força de ruptura à tração nos dois grupos, realizada através do teste t de Student, resultou no $p= 0,528$ que mostrou não haver diferença estatística significativa entre os grupos (tabela 1) .

Tabela 1. Avaliação do parâmetro mecânico da cicatrização

Anastomose esôfagojejunal				
	Grupo A (controles) n=15	Grupo B (tratamento OHB) n=16	Total n=31	Valor <i>P</i>
Força(N) de Ruptura à Tração (média ± DP)	1,63 ± 0,36	1,52 ± 0,60		0,528

A peça cirúrgica correspondente ao rato nº 40 foi inutilizada no estudo da força de ruptura à tração devido ter sido lesada durante seu preparo .

6.2.3. Determinação da Concentração do Colágeno na Anastomose

As análises comparativas das proporções de fibrose e de fibras colágenas novas na parede do esôfago foram feitas com 15 ratos no grupo controle devido perda de cinco ratos (25%) e de 17 ratos no grupo tratado com OHB que teve três perdas (15%). O teste t de Student aplicado na comparação entre os grupos, de variâncias semelhantes, para as proporções de fibrose encontradas na parede esofágica mostrou que o grupo submetido à oxigenoterapia hiperbárica apresentou uma média percentual de fibrose de 39,4 (DP de 17,8) e o grupo controle teve uma média percentual de 40,3 (DP de 20,0). O valor de P resultou em $p=0,89$ (tabela 2 e figura 18) .

Na comparação entre os grupos para a proporção de fibras colágenas jovens encontradas em relação à fibrose da parede do esôfago, o grupo tratado com OHB apresentou média de 29,3(DP de 13,0) e o grupo controle teve média de 24,8 (DP de 12,5). O valor de P resultou em $p=0,33$ (tabela 3 e figura 19). A análise dos dados não mostrou diferença estatisticamente significativa entre os grupos, permitindo concluir que o tratamento com oxigenoterapia hiperbárica, neste modelo, não influenciou no processo de fibroplasia em nenhum dos dois critérios avaliados.

Tabela 2. Avaliação do parâmetro bioquímico da cicatrização

Anastomose esôfagojejunal				
	Grupo A (controles) n=15	Grupo B (tratamento OHB) n=17	Total n=32	Valor P
Proporção de fibrose na parede esofágica (média ± DP)	40,3±20,0	39,4±17,8		0,89

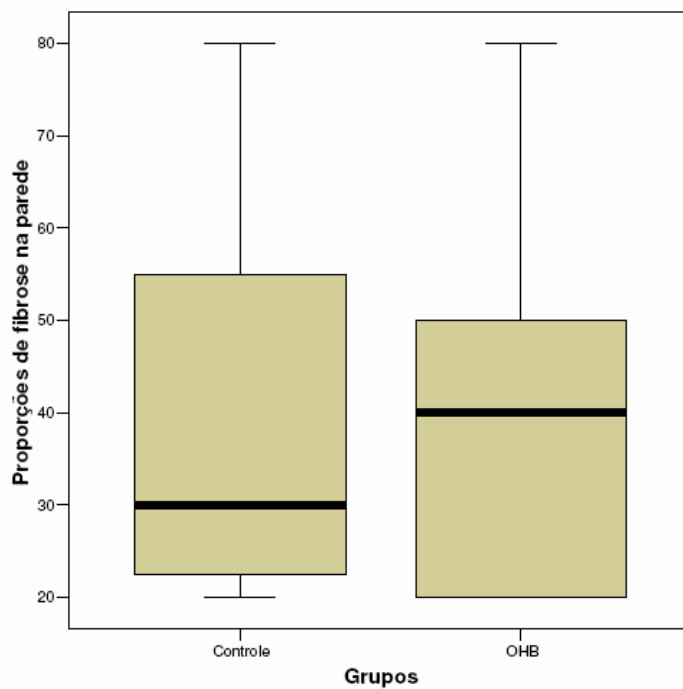


Figura 18. Box-plot da proporção de fibrose na parede esofágica.

Tabela 3. Avaliação do parâmetro bioquímico da cicatrização

Anastomose esôfagojejunal				
	Grupo A (controles) n=15	Grupo B (tratamento OHB) n=17	Total n=32	Valor <i>P</i>
Proporção de fibras colágenas novas na fibrose da parede esofágica (média±DP)	24,8±12,5	29,3±13,0		0,33

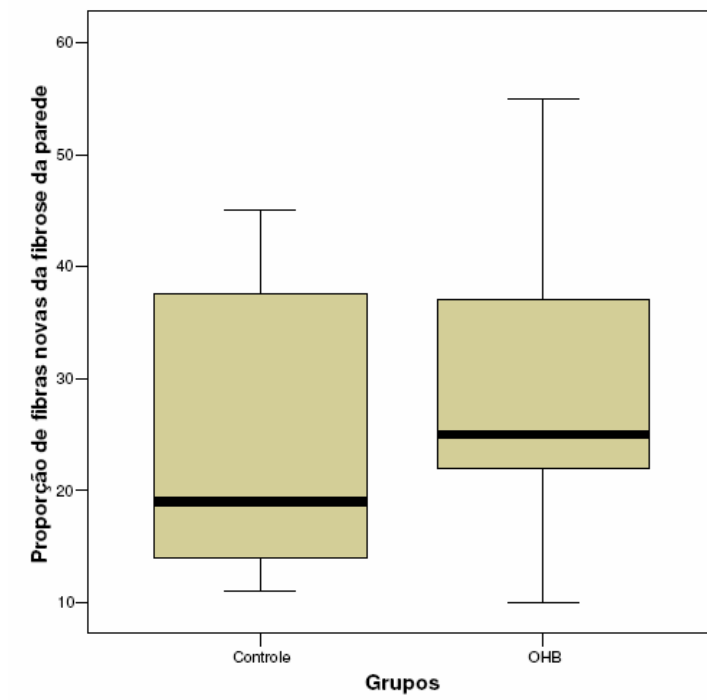


Figura 19. Box-plot da proporção de fibras colágenas novas na fibrose da parede esofágica.

7. Discussão

A dificuldade em examinar os diversos mecanismos da cicatrização de órgãos digestivos em modelos clínicos, a não ser por análises retrospectivas, levou os pesquisadores a estudar o processo cicatricial em experimentação animal, mesmo com limitações ao seu uso (7). O modelo em ratos, particularmente, tem sido amplamente utilizado devido sua fácil adaptação, disponibilidade e baixo custo (28). Além disso, possuem anatomia e fisiologia semelhantes ao homem podendo seus resultados serem a ele extrapolados (29). A grande maioria dos trabalhos da literatura, utilizando ratos de laboratório para estudo da cicatrização de anastomoses do trato digestivo, são realizados em intestino delgado e grosso devido sua fácil execução (30). Em contrapartida, estudos direcionados a anastomose esofágica são escassos. Além da mortalidade considerável, os roedores oferecem obstáculos precoces como a estenose da anastomose e entaves tardios como a desnutrição (31).

A cicatrização adequada das anastomoses do tubo digestivo é um fenômeno multifatorial cujo sucesso depende de fatores locais e sistêmicos. Dentre esses, ocupa papel preponderante, a hipóxia local. Esta, ao diminuir a perfusão sanguínea na ferida cirúrgica, é causa de deiscência. A correção da hipoxemia, nessas situações, através do uso de oxigênio em condições hiperbáricas, pode representar terapêutica eficaz (21). Na literatura dispõe-se de uma larga quantidade de publicações a respeito dos efeitos negativos da oferta de O₂ diminuída na reparação tecidual (7). Por outro lado, poucos são os estudos conduzidos para a análise dos efeitos da concentração de oxigênio, acima das

encontradas no ar ambiente, durante a cicatrização das vísceras do tubo digestivo (11).

7.1 Métodos

Os parâmetros utilizados para avaliar a cicatrização da anastomose foram aqueles mais comumente utilizados. A ocorrência de fístula é a complicação de maior impacto clínico neste tipo de procedimento e de fácil observação em modelos experimentais como o aqui apresentado.

Os critérios mecânicos de avaliação da cicatrização das anastomoses digestivas, são testes que determinam a resistência intrínseca de um segmento do tubo digestivo, contendo a anastomose, durante a fase de regeneração tecidual. Dentre os métodos utilizados com essa finalidade, destacam-se os testes da pressão de ruptura à distensão da víscera por líquido ou ar e o teste da força de ruptura à tração (24). Independente do tipo de método aplicado, inclusive o aplicado neste estudo, tem sua variabilidade intrínseca devido ao fato se trabalhar com material biológico, cuja constituição tecidual e propriedades viscoelásticas, podem não só interferir no resultado bem como corresponder a resultados diferentes.

A viscoelasticidade tem estreita relação com o tempo, tratamento dado ao tecido, comprimento dos segmentos estudados, deformação de parte ou de toda a anastomose, velocidade (força) a qual os tecidos são submetidos e a presença de aderências junto à linha de sutura (22). Uma das características na construção do modelo experimental é minimizar as variáveis que possam interferir na obtenção de resultados mais precisos (32). Nem sempre todas essas variáveis

são descritas pelos pesquisadores, o que pode gerar alguns vícios metodológicos e tornar o resultado dos trabalhos de difícil comparação.

No nosso trabalho, usamos o método da força de ruptura à tração realizado logo após o sacrifício do animal, sempre com os mesmos comprimentos dos segmentos a serem utilizados, força de velocidade constante e contínua à tração, e aderências firmes deixadas como tal. A vantagem deste tipo mensuração em relação ao de pressão de ruptura é que ele pode ser realizado até quatro semanas após a realização da anastomose o que permite estudos mais longos. A utilização da medida, na presente pesquisa, foi no oitavo dia de pós-operatório seguindo metodologia de Hermann et al sobre as fases da cicatrização em intestino grosso de rato, o qual considerou o terceiro, sétimo e décimo quarto dia de pós-operatório como os mais usados na avaliação da cicatrização. A partir de uma semana do início do fenômeno cicatricial ocorre aumento da força tênsil da anastomose e proliferação fibroblástica (2).

Várias técnicas, propostas e executadas por diferentes autores, têm sido usadas para a aferição do parâmetro bioquímico da cicatrização das anastomoses do trato digestivo. Todas elas, em geral, se referem à medida da concentração do colágeno e/ou hidroxiprolina na linha da sutura. É importante a utilização de métodos que possibilitem avaliar dados passíveis de quantificação uniforme a fim de permitir comparações. Optamos neste trabalho pela determinação semiquantitativa da fibra colágena na anastomose através do uso do corante vermelho Picosirius com luz polarizada ao microscópio óptico (27). Estudos compararam diversos métodos de coloração para análise do colágeno, e concluíram que o Picosirius é de simples execução, fácil interpretação e específico para o estudo do colágeno nos diferentes tecidos. O contato do corante

com a fibra colágena, à luz polarizada, produz intensa birrefringência, o que permite a visualização de imagens claras e por conseguinte sua quantificação nas amostras estudadas. Esta técnica além de diferenciar seletivamente o colágeno de outras fibras não colágenas como as glicoproteínas, possibilita também identificar dois tipos de fibras, quais sejam: a fibra fina (nova), com menor entrelaçamento, denominada de colágeno do tipo III, com espessura de menos de 8 micras, que se colore de cor verde ou verde amarelada e predominante na primeira semana da cicatrização, e a fibra grossa (madura), com maior densidade, denominada de colágeno do tipo I, que tem espessura entre 1,6 e 2,4 micras que se cora com cor laranja ou laranja avermelhada com maior expressão na segunda semana de cicatrização. Essa diferenciação de cores permitiu a análise qualitativa das fibras colágenas, as quais refletem a proporção das mesmas no estudo histológico (27,33).

7.2 Resultados

Referente ao processo de cicatrização, o benefício causado pela oxigenoterapia hiperbárica é baseado na premissa de que ao se elevar os níveis de oxigênio nos tecidos, possa ocorrer aceleração da reparação tecidual. Embora essa conceituação seja amplamente difundida, não é universalmente aceita e o exato mecanismo pelo qual a OHB possa melhorar a cicatrização não é ainda completamente claro (11). Os modelos de estudo sobre a aplicação da OHB são controversos e os mecanismos fisiopatológicos que ocorrem durante o tratamento permanecem pouco compreendidos, o que dificulta a difusão de sua aplicação prática e oferece obstáculos na obtenção de resultados (34,35).

Neste trabalho, os efeitos da oxigenoterapia hiperbárica sobre a cicatrização da anastomose esôfagojejunal medida pelo índice de fístulas anastomóticas, parâmetros mecânico e bioquímico não mostraram diferença significativa entre os grupos com e sem tratamento com OHB. Extensa investigação no MEDLINE não demonstrou publicação de modelo semelhante o que dificulta eventuais comparações com o estudo aqui apresentado. Escassos trabalhos na literatura abordam a questão, e o primeiro artigo publicado utilizando oxigenoterapia hiperbárica em anastomoses de cólons de ratos normais e isquêmicos induzidas, nas fases iniciais da cicatrização, foi realizado por Hamzaoglu (11). Este autor demonstrou que os testes de pressão de ruptura se elevaram no intestino normal e isquêmico, mas a hidroxiprolina não aumentou sua concentração na anastomose isquemiada. Deste fato, depreende-se que a produção de colágeno na anastomose não é sinônimo de cicatrização, mas sim, parte desse processo. É possível que substâncias não colágenas e também o tipo de colágeno sejam responsáveis por esses achados (24). Isto pode explicar a não correlação entre aumento da resistência da anastomose e a concentração de colágeno relatada por muitos autores.

No nosso estudo nenhum dos parâmetros avaliados: clínicos, mecânicos ou bioquímicos demonstraram ter relação com a melhora da cicatrização. Isso pode ter ocorrido devido ao fato de que houve poucos casos de deiscências nas anastomoses, fazendo com que as diferenças entre os grupos tivessem que ser muito grandes para que se observassem alterações deste tipo.

Apesar disso, o modelo desenvolvido demonstrou ser factível, e a partir dele, possamos seguir com novos estudos envolvendo a OHB e cirurgia digestiva.

8. Conclusão

Não houve diferença de resultados na cicatrização da anastomose esôfagojejunal realizada após gastrectomia total em ratos Wistar, com ou sem uso de oxigenioterapia hiperbárica, tanto do ponto de vista clínico, mecânico e bioquímico.

9. Perspectivas

O modelo de utilização de OHB em ratos pós-gastrectomia total mostrou-se eficaz para avaliação de alterações na anastomose esôfagojejunal. A partir deste modelo, poder-se-á no futuro, realizar novos estudos em anastomoses digestivas com emprego da oxigenoterapia hiperbárica.

10. Referências Bibliográficas

- (1) Tannuri U, Tannuri ACA, Fukutaki MF, Oliveira MS, Muoio VMF, Massaguer AA. Effects of circular myotomy on the healing of esophageal suture anastomosis: an experimental study. *Rev. Hosp. Clín. Fac. Med. S. Paulo* 1999; 54 (1): 9-16.
- (2) Caporossi C, Cecconello I, Aguilar-Nascimento JE, Venco F, Gama-Rodrigues JJ. Hand-sewn and stapled esophageal anastomoses: experimental study in dogs. *Acta Cir. Brás.* 2004 Jul-Aug; 19(4).
- (3) Vieira W, Coelho L, Tumores do estômago. In: Dani R, 2ª ed. *Gastroenterologia Essencial*. Rio de Janeiro, Guanabara Koogan, 2001. p. 182–197.
- (4) Hohenberger P, Gretschel S. Gastric câncer. *The Lancet* 2003; 362: 305–315.
- (5) Dietz J, Meurer L, Maffazoni DR, Furtado AD, Prolla JC. Intestinal metaplasia in the distal esophagus and correlation with symptoms of gastroesophageal disease. *Dis Esoph* 2003; 16:29-32.
- (6) Kovács T, Köves I, Orosz Z, Németh T. Healing of esophageal anastomoses performed with the biofragmentable anastomoses ring versus the end-to-end anastomoses stapler: comparative experimental study in dogs. *World J Surg.* 2003; 27: 465-472.
- (7) Thornton FJ, Barbul A. Healing in the gastrointestinal tract. *Surg Clin N A* 1997; 77 (3): 549-573.
- (8) Cui Y, Urschel JD. Comparison of anastomotic suturing techniques in the rat esophagus. *J Cardiovasc Surg* 1999; 40: 613-614.
- (9) Kovács T, Köves I, Pandi E, Németh T, Kralovansky J. Bursting strength and collagen content changes in esophageal anastomosis: comparative experimental study in dogs. *Annales Chirurgiae et Gynaecologiae* 2001; 90: 266-270.
- (10) Okur H, Küçükaydin N, Kontaf O, Küçükaydin M, Özokutan BH. Esophageal anastomosis: an experimental model to study anastomotic healing and the use of lyophilized collagen. *Res Exp Med* 1996; 195: 275-280.
- (11) Hamzaoglu I, Karahasanoglu T, Aydin S, Sahin D, Carkman S, Sariyar M, Alendaroglu K. The effects of hyperbaric oxygen on normal and ischemic colon anastomoses. *Am J Surg* 1998; 176: 458-461.

- (12) Ellison GW. Wound healing in the gastrointestinal tract. *Veterinary Medicine and Surgery (small animal)* 1989; 4 (4): 287-293.
- (13) Leong M, Phillips LG. Cicatrização de Feridas. In: Townsend CM et al., 17^a ed. *Sabiston, Tratado de Cirurgia: a base biológica da moderna prática cirúrgica*. Rio de Janeiro, Elsevier, 2005. p. 183-207.
- (14) Rabau MY, Hirishberg A, Hiss Y, Dayan D. Intestinal anastomosis healing in rat: collagen concentration and histochemical characterization by Picrosirius red staining and polarizing microscopy. *Exp Mol Pathol* 1995; 62: 160-165.
- (15) Rodrigues Junior, M. Alves IS, Knobel E. Princípios básicos da oxigenoterapia hiperbárica. In: Knobel E. et al. *Terapia Intensiva: infectologia e oxigenoterapia hiperbárica*. São Paulo: Atheneu, 2003. p. 197-201.
- (16) Tibbles P, Edelsberg J. Hyperbaric- oxygen therapy. *N Engl J Med* 1996; 334: 1642-1648.
- (17) Festugato M, Newvald R. Oxigenioterapia hiperbárica: efeitos, indicações e contra-indicações. *Caxias do Sul: EDUCS*, 2004. p. 13-19.
- (18) Mechem CC, Manaker S. *Hyperbaric oxygen therapy Up To Date* 2006. Disponível em: www.uptodate.com . Acesso em 22 de agosto de 2006.
- (19) Gursu K, Sanil A, Kerem O, Elif I, Esin K, Tolga E. Effects of hyperbaric oxygen therapy on caustic esophageal injury in rats. *J Pediatr Surg* 2004; 39 (8): 1188-1193.
- (20) Niinikoski J. The effect of oxygen supply on wound healing and formation of experimental granulation tissue. *Acta Physiol. Scand.* 1970; Suppl. 334 (78): 1.
- (21) Rocha AA, Coy CSR, Góes JRN, Ayrizorno MLS, Wu FC, Fagundes JJ. Estudo comparativo da hiperoxigenação hiperbárica em alças cólicas isquêmicas em ratos. *Acta Cir. Bras.* 2005 Mar-Abr; 20 (2).
- (22) Wu FC. Estudo dos efeitos de diferentes concentrações de oxigênio e da hiperoxigenação hiperbárica sobre anastomose cólica comprometida ou não pela isquemia: trabalho experimental em ratos. [Tese de Doutorado]. Campinas: Faculdade de Ciências Médicas da Universidade Estadual de Campinas; 2003.
- (23) Iagci G, Ozturk E, Ozgurtas T, Gorgulo S, Kutlu OC, Topal T, Cetiner S, Tufan T. Preoperative and postoperative administration of hyperbaric oxygen improves biochemical and mechanical parameters on ischemic and normal colonic anastomoses. *J Invest Surg* 2006; 19(4): 237-244.
- (24) Hendriks T, Mastboom WJB. Healing of experimental intestinal anastomoses: parameters for repair. *Dis Colon Rectum* 1990; 33: 891-901.

- (25) Jiborn H, Ahonen J, Zederfeldt B. Healing of experimental colonic anastomoses. II. Breaking strength of the colon after left colon resection and anastomoses. *Am J Surg* 1978b; 136: 595-599.
- (26) Blomquist P, Jiborn H, Zederfeldt B. The effect of relative bowel rest on healing of colonic anastomoses: breaking strength and collagen in the colonic wall following left colon resection and anastomoses in the rat. *Acta Chir Scand* 1984; 150: 671-675.
- (27) Rabau MY, Dayan D. Polarization microscopy of picosirius red stained sections: a useful method for qualitative evaluation of intestinal wall collagen. *Histol Histopath.* 1994; 9: 525-528.
- (28) Harkness JE, Wagner JE. *Biologia e Clínica de Coelhos e Roedores*. 3. ed. São Paulo: Roca, 1993, p. 48-55.
- (29) Wingerd BD. *Rat dissection manual*. Baltimore, The Johns Hopkins University Press, 1988. p. vii
- (30) Levi A, Ramadan E, Gelber E, Koren R, Chainoff C, Kyzer S. Healing of the esophageal suture line: does it differ from the rest of the alimentary tract? *Isr J Med Sci* 1996; 329 (12): 1313-1316.
- (31) Cui Y, Urschel JD. Esophagogastric anastomotic wound healing in rats. *Dis Esoph* 1999; 12: 149-151.
- (32) Koruda MJ, Rolandelli RH. Experimental studies on the healing of the colonic anastomosis. *J Surg Res* 1990; 48: 504-515.
- (33) Trubian PS. Influência do octeotride na cicatrização de sutura gástrica em ratos: estudo tensiométrico e da morfometria do colágeno. [Dissertação de Mestrado]. Curitiba: Universidade Federal do Paraná; 2004.
- (34) Méchine A, Rohr S, Toti F, Aysoy C, Schneider F, Meyer Ch, Tempé JD, Bellocq JP. La cicatrisation sous oxygénothérapie hyperbare: étude expérimentale de as phase angiogénique chez le rat. *Ann Chir* 1999; 53 (4): 307-313.
- (35) Wang C, Schwaitzberg S, Berliner E, Zarin DA, Lau J. Hyperbaric oxygen for treating wounds. *Arch Surg.* 2003; 138: 272-279.

11. Anexo

Ratos (nº)	Grupos	Peso Pré-op. (g)	Peso Pós-op. (g)	Óbitos	Força de Ruptura à tração (N)	Proporção (estimativa) Fibrose total parede esofágica	Proporção (média) Fibras novas de colágeno parede esofágica
1	OHB	381	322	Não	1,55	30	29
2	Cont	400	347	Não	1,40	40	45
3	OHB	440	361	Não	1,10	30	53
4	OHB	469	434	Não	3,10	60	37
5	Cont	420	333	Não	1,85	60	27
6	Cont	378	295	Não	1,15	20	17
7	Cont	493	416	Não	2,30	30	11
8	Cont	430	363	Não	1,55	25	14
9	OHB	473	-	Sim	-	-	-
10	OHB	447	346	Não	1,80	20	43
11	Cont	473	410	Não	2,10	20	27
12	Cont	390	302	Não	1,70	30	14
13	Cont	370	-	Sim	-	-	-
14	OHB	364	-	Sim	-	-	-
15	Cont	391	321	Não	1,40	60	17
16	Cont	396	329	Não	1,30	20	12
17	OHB	362	302	Não	1,00	20	10
18	OHB	442	360	Não	0,80	50	19
19	OHB	415	338	Não	1,10	50	22
20	OHB	446	347	Não	1,40	60	30
21	Cont	451	359	Não	1,30	60	30
22	Cont	322	269	Não	1,70	50	41
23	OHB	403	-	Sim	-	-	-
24	OHB	402	332	Não	0,90	40	13
25	Cont	461	383	Não	1,60	20	39
26	OHB	408	328	Não	1,70	20	39
27	OHB	427	351	Não	2,10	30	23
28	Cont	408	312	Não	1,60	70	42
29	Cont	472	379	Não	1,30	30	12
30	OHB	423	344	Não	1,10	20	55
31	Cont	458	-	Sim	-	-	-
32	OHB	417	354	Não	1,50	50	42
33	Cont	486	399	Não	2,30	80	36
34	Cont	437	-	Sim	-	-	-
35	OHB	475	379	Não	2,00	80	25
36	OHB	434	362	Não	2,10	50	33
37	OHB	442	363	Não	1,10	40	25
38	Cont	457	-	Sim	-	-	-
39	Cont	487	-	Sim	-	-	-
40	OHB	506	401	Não	-	20	15