

ROMULO MEDEIROS DE ALMEIDA

**AVALIAÇÃO DOS EFEITOS DO HEMISSULFATO DE
S-METILISOTIOURÉIA, UM INIBIDOR DA ENZIMA ÓXIDO NÍTRICO
SINTASE INDUZÍVEL, SOBRE A CICATRIZAÇÃO DE ANASTOMOSES
COLÔNICAS EM RATOS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Médicas da Faculdade de Medicina da Universidade de Brasília como requisito parcial à obtenção do grau de Mestre.

Área de Concentração: Medicina

Orientador: Prof. Dr. Paulo Gonçalves de Oliveira

**BRASÍLIA
MARÇO, 2006**

A Deus, o criador de tudo.
A Gerda, minha esposa.
Aos meus filhos João Pedro e Maria Fernanda,
que este trabalho sirva de inspiração, exemplo de dedicação,
empenho e busca por um sonho.

AGRADECIMENTOS

Gerda, o meu muito obrigado pela sua compreensão, apoio incontestado e incentivo de sempre.

Aos Meus pais Nildo e Margarida que me deram a educação e me propiciaram as condições para estudar e crescer física, moral, religiosa e intelectualmente.

Aos meus irmãos Roma e Rênio, eu aprendo com vocês a cada dia que passa, e trabalho para fortalecer nosso convívio e nossos laços de fraternidade.

Ao Prof. Dr. Paulo Gonçalves que me recebeu e acolheu como aluno, participou e contribuiu para o meu crescimento na pós-graduação.

Aos meus amigos e colegas de trabalho Marcelo Coura, Maurício Cotrim, Ubirajara Mendes e Valéria Cardoso, sua compreensão e incentivos foram importantes nesta caminhada.

Aos alunos do curso de Medicina, Paulo e Marco, pela sua ajuda e contribuição na realização deste estudo.

A UnB por ter propiciado a oportunidade de realizar um sonho antigo, fazer pós-graduação e trabalhar no ensino.

A Dr. José Romero de Almeida Ferreira, que foi o princípio de tudo, o incentivo à área cirúrgica, o seu apreço e respeito pelos pacientes, principalmente os carentes, sua boa vontade e os seus exemplos como médico e Homem me acompanham todos os dias.

Ao Laboratório de Cirurgia Experimental, e seus profissionais, pela disposição sempre imediata, acolhedora e prestativa.

Ao Laboratório de Farmacologia da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo.

À Profa. Dra. Anamélia Lorenzetti Bocca pelo seu apoio e orientação na dosagem de nitrito/nitrato.

Ao Prof. Dr. Florêncio Figueiredo pela sua contribuição intelectual na realização da análise histológica por meio dos laboratórios LIB e Biópsia.

“Muitos acharão que podem, com razão, culpar-me, alegando que minhas provas são contrárias à autoridade de certos homens grandemente reverenciados por causa de seus julgamentos não testados, sem considerar que minhas obras são o fruto da simples e pura experiência, que é a verdadeira mestra.”

Leonardo Da Vinci

SUMÁRIO

| | |
|--|------|
| LISTAS DE ILUSTRAÇÕES | vii |
| RESUMO | xiii |
| ABSTRACT | xiv |
| 1 INTRODUÇÃO | 1 |
| 1.1 OBJETIVO..... | 8 |
| 2 MATERIAL E MÉTODO | 10 |
| 2.1 ANIMAL DE EXPERIMENTAÇÃO..... | 11 |
| 2.2 DISTRIBUIÇÃO E ALOCAÇÃO DOS ANIMAIS..... | 11 |
| 2.3 PROCEDIMENTOS REALIZADOS..... | 12 |
| 2.3.1 Preparo Pré-operatório dos Animais..... | 12 |
| 2.3.2 Anestesia..... | 13 |
| 2.3.3 Operação..... | 13 |
| 2.3.4 Administração da S-metilisotiuréia..... | 17 |
| 2.3.5 Evolução Pós-operatória..... | 17 |
| 2.3.6 Reoperação e Avaliação da Cavidade Peritoneal..... | 17 |
| 2.3.7 Estudo da Força Tênsil..... | 19 |
| 2.3.8 Concentração de NOx no soro..... | 20 |
| 2.3.9 Estudo histopatológico..... | 20 |
| 2.3.10 Análise Estatística..... | 21 |
| 2.4.11 Aprovação pelo Comitê de Ética..... | 22 |
| 3 RESULTADOS | 23 |
| 3.1 PESO DOS ANIMAIS..... | 24 |
| 3.2 EVOLUÇÃO CLÍNICA..... | 26 |
| 3.3 REOPERAÇÃO E AVALIAÇÃO DA CAVIDADE PERITONEAL..... | 27 |
| 3.4 ANÁLISE DA FORÇA TÊNSIL..... | 28 |
| 3.5 CONCENTRAÇÃO DE NOx NO SORO..... | 29 |
| 3.6 HISTOPATOLÓGICO..... | 31 |
| 4 DISCUSSÃO | 36 |
| 5 CONCLUSÃO | 43 |

| | |
|---|----|
| GLOSSÁRIO | 45 |
| REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS | 46 |
| APÊNDICES | 62 |
| ANEXO | 75 |

LISTA DE TABELAS

| | |
|--|----|
| TABELA 1 - MÉDIA DOS PESOS DOS ANIMAIS, NÚMERO DE ANIMAIS AVALIADOS E DESVIO PADRÃO, POR GRUPO, ANTES DO INÍCIO DO EXPERIMENTO, AO TERCEIRO, SÉTIMO E DÉCIMO QUARTO DIA DE PÓS-OPERATÓRIO, EM GRAMAS. $p > 0,05$ | 25 |
| TABELA 2 - FREQUÊNCIA DA PRESENÇA DE ADERÊNCIAS INTRACAVITÁRIAS, DEISCÊNCIA DA ANASTOMOSE OU VAZAMENTO DE CONTEÚDO PELA ANASTOMOSE, EM PORCENTAGEM E PELO GRUPO E DIA DE EUTANÁSIA..... | 27 |
| TABELA 3: MÉDIAS E DESVIOS PADRÃO DA FORÇA DE RUPTURA POR GRUPO E POR DIA DE PÓS-OPERATÓRIO, E O VALOR DE P QUANDO COMPARADOS OS GRUPOS DO MESMO DIA DE EUTANÁSIA..... | 28 |
| TABELA 4: MÉDIAS E DESVIOS PADRÃO DA CONCENTRAÇÃO DE NITRITO NO SORO POR GRUPO E POR DIA DE EUTANÁSIA, E O VALOR DE p QUANDO COMPARADOS OS GRUPOS DO MESMO DIA | 30 |
| TABELA 5 – AVALIAÇÃO DA VARIÁVEL HISTOLÓGICA “POLIMORFONUCLEARES” COM SUA CLASSIFICAÇÃO E DISTRIBUIÇÃO ENTRE OS GRUPOS DE ESTUDO E CONTROLE NAS ANASTOMOSES COLÔNICAS PELO DIA DE EUTANÁSIA..... | 31 |
| TABELA 6 – AVALIAÇÃO DA VARIÁVEL HISTOLÓGICA “NEOFORMAÇÃO VASCULAR” COM SUA CLASSIFICAÇÃO E DISTRIBUIÇÃO ENTRE OS GRUPOS DE ESTUDO E CONTROLE NAS ANASTOMOSES COLÔNICAS PELO DIA DE EUTANÁSIA..... | 32 |
| TABELA 7 – AVALIAÇÃO DA VARIÁVEL HISTOLÓGICA “GRANULAÇÃO” COM SUA CLASSIFICAÇÃO E DISTRIBUIÇÃO ENTRE OS GRUPOS DE ESTUDO E CONTROLE NAS ANASTOMOSES COLÔNICAS PELO DIA DE EUTANÁSIA..... | 32 |

| | |
|---|----|
| TABELA 8 – AVALIAÇÃO DA VARIÁVEL HISTOLÓGICA “EDEMA” COM SUA CLASSIFICAÇÃO E DISTRIBUIÇÃO ENTRE OS GRUPOS DE ESTUDO E CONTROLE NAS ANASTOMOSES COLÔNICAS PELO DIA DE EUTANÁSIA..... | 35 |
|---|----|

LISTA DE FIGURAS

| | |
|---|----|
| FIGURA 1 - ANIMAL DE EXPERIMENTAÇÃO FIXO À PLACA DE MADEIRA, COM OS MEMBROS FIXOS À MESMA APÓS A REALIZAÇÃO DE TRICOTOMIA NA PAREDE ABDOMINAL..... | 14 |
| FIGURA 2 - LAPAROTOMIA MEDIANA DE 4 CM INICIANDO A UM CENTÍMETRO DA GENITALIA EXTERNA..... | 15 |
| FIGURA 3 - COLOCAÇÃO DE AFASTADOR AUTOESTÁTICO NA PAREDE ABDOMINAL E GAZE EMBEBIDADA EM SOLUÇÃO FISIOLÓGICA MOBILIZANDO E MANTENDO AFASTADAS AS ALÇAS DE INTESTINO DELGADO..... | 15 |
| FIGURA 4 - MEDIDA DA ALÇA A SER RESSECADA E ANASTOMOSADA ENTRE 2,5 E 3,5 CM DA RELEXÃO PERITONEAL..... | 16 |
| FIGURA 5 - SUTURA CONTÍNUA DO CÓLON COM FIO DE PROLENE 6-0, A ALÇA ENCONTRA-SE FECHADA NA PAREDE POSTERIOR E ABERTA NA ANTERIOR..... | 16 |
| FIGURA 6 - VERSA TEST ACOPLADO À DINAMÔMETRO DIGITAL LIGADO AO MICROCOMPUTADOR QUE CAPTURA A CURVA DE TENSÃO E A FORÇA DE RUPTURA DA ANASTOMOSE..... | 20 |
| FIGURA 7 - MEDIANA, MÉDIA, DESVIO PADRÃO E VARIÂNCIA DOS PESOS EM GRAMAS, POR GRUPO PRÉVIO AO INÍCIO DO ESTUDO..... | 24 |
| FIGURA 8 - MEDIANA E VALORES INTERVALARES DOS PESOS DOS ANIMAIS NOS DOIS GRUPOS E PELO DIA DE PÓS-OPERATÓRIO. PESO EM GRAMAS..... | 26 |
| FIGURA 9 - MEDIANA E VALORES INTERVALARES TÍPICOS DA FORÇA DE RUPTURA DAS ANASTOMOSES POR TRAÇÃO NOS GRUPOS E SUBGRUPOS. VALORES AFERIDOS EM NEWTONS (N)..... | 29 |
| FIGURA 10 - MEDIANA E VALORES INTERVALARES TÍPICOS DA CONCENTRAÇÃO DE NITRITO NO SORO COLHIDO À EUTANÁSIA. VALORES AFERIDOS EM MICROMOL (µM)..... | 30 |

| | |
|--|----|
| FIGURA 11 - INFILTRADO POLIMORFONUCLEAR..... | 33 |
| FIGURA 12 - NEOFORMAÇÃO VASCULAR..... | 33 |
| FIGURA 13 - GRANULAÇÃO..... | 34 |
| FIGURA 14 - EDEMA NA ÁREA DA ANASTOMOSE..... | 35 |

LISTA DE APÊNDICES

| | |
|---|----|
| APÊNDICE 1 - EVOLUÇÃO DOS PESOS DOS ANIMAIS, COM OS PESOS INICIAIS E FINAIS, MEDIDOS NO 3º DIA DE PÓS-OPERATÓRIO. EM GRAMAS..... | 62 |
| APÊNDICE 2 - EVOLUÇÃO DOS PESOS DOS ANIMAIS, COM OS PESOS INICIAIS E FINAIS, MEDIDOS NO 7º DIA DE PÓS-OPERATÓRIO. EM GRAMAS..... | 63 |
| APÊNDICE 3 - EVOLUÇÃO DOS PESOS DOS ANIMAIS, COM OS PESOS INICIAIS E FINAIS, MEDIDOS NO 14º DIA DE PÓS-OPERATÓRIO. EM GRAMAS..... | 64 |
| APÊNDICE 4 - INVENTÁRIO DA CAVIDADE ABDOMINAL À REOPERAÇÃO DOS ANIMAIS DE 1 A 30..... | 65 |
| APÊNDICE 5 - INVENTÁRIO DA CAVIDADE ABDOMINAL À REOPERAÇÃO DOS ANIMAIS DE 31 A 60..... | 66 |
| APÊNDICE 6 – FORÇA DE RUPTURA DA ANASTOMOSE DOS ANIMAIS DE 1 A 30 AVALIADO EM NEWTONS..... | 67 |
| APÊNDICE 7 - FORÇA DE RUPTURA DA ANASTOMOSE ANIMAIS DE 31 A 60 AVALIADO EM NEWTONS..... | 68 |
| APÊNDICE 8 - CONCENTRAÇÃO DE NITRITO/NITRATO NO SORO DOS ANIMAIS DE 1 A 30. RESULTADO EXPRESSO EM μM | 69 |
| APÊNDICE 9 - CONCENTRAÇÃO DE NITRITO/NITRATO NO SORO DOS ANIMAIS DE 31 A 60. RESULTADO EXPRESSO EM μM | 70 |
| APÊNDICE 10 - INDICADORES HISTOPATOLÓGICOS DOS ANIMAIS DO GRUPO CONTROLE COM EUTANÁSIA NO 3º DIA DE PÓS-OPERATÓRIO (N=9)..... | 71 |
| APÊNDICE 11 - INDICADORES HISTOPATOLÓGICOS DOS ANIMAIS DO GRUPO SMT COM EUTANÁSIA NO 3º DIA DE PÓS-OPERATÓRIO..... | 71 |

| | |
|--|----|
| APÊNDICE 12 - INDICADORES HISTOPATOLÓGICOS DOS ANIMAIS DO GRUPO CONTROLE COM EUTANÁSIA NO 7° DIA DE PÓS-OPERATÓRIO..... | 72 |
| APÊNDICE 13 - INDICADORES HISTOPATOLÓGICOS DOS ANIMAIS DO GRUPO SMT COM EUTANÁSIA NO 7° DIA DE PÓS-OPERATÓRIO..... | 72 |
| APÊNDICE 14 - INDICADORES HISTOPATOLÓGICOS DOS ANIMAIS DO GRUPO CONTROLE COM EUTANÁSIA NO 14° DIA DE PÓS-OPERATÓRIO..... | 73 |
| APÊNDICE 15 - INDICADORES HISTOPATOLÓGICOS DOS ANIMAIS DO GRUPO SMT COM EUTANÁSIA NO 14° DIA DE PÓS-OPERATÓRIO..... | 73 |

RESUMO

O óxido nítrico (ON) tem sido motivo de investigação em diversas áreas da Medicina, incluindo sua influência sobre a cicatrização de feridas, especialmente a anastomose intestinal. Os estudos têm mostrado divergência sobre o seu efeito, ora beneficiando, ora prejudicando a cicatrização. O suposto prejuízo seria causado pelo excesso de ON produzido pela indução da enzima óxido nítrico sintase induzível (ONSi) que é ativada e expressa em condições especiais como trauma e sepse, assim como na cicatrização, sendo secretada pelos macrófagos no ambiente da ferida. A inibição da enzima ONSi pela S-metilisotiouréia (SMT) tem sido associada a diversos efeitos *in vitro* e *in vivo*. Para avaliar o efeito da inibição da ONSi pela SMT sobre a cicatrização de anastomoses colônicas em ratos foram utilizados 60 ratos Wistar, machos, com peso corporal entre 248 e 360 g, distribuídos em dois grupos, controle e estudo cujos animais receberam 50mg/Kg de peso de SMT de 12/12 horas por 72 horas. Os grupos de 30 animais foram divididos em três subgrupos de 10 animais cada e submetidos a eutanásia no terceiro, sétimo e décimo quarto dias de pós-operatório (DPO). As variáveis analisadas foram a evolução clínica e dos pesos, a avaliação da cavidade abdominal à eutanásia, a análise da força tênsil de ruptura da anastomose, a dosagem de nitrito/nitrato no soro e a avaliação histopatológica. Das variáveis analisadas, foi observado que no terceiro dia havia mais neoformação vascular ($p=0,006$) e granulação ($p=0,002$) no grupo estudo e mais infiltrado mononuclear ($p=0,041$) no grupo controle, já no décimo quarto dia houve mais edema no grupo controle ($p=0,008$). Para todas as outras variáveis, inclusive a evolução clínica e a avaliação pós-operatória da cavidade não houve significância estatística. Conclui-se, portanto, que nas condições em que esta pesquisa foi realizada, a inibição da ONSi pela SMT interferiu acelerando o processo da cicatrização de anastomose intestinal no 3º DPO.

Palavras chave: Óxido nítrico; Óxido nítrico sintase induzível; Cicatrização de feridas; Anastomose colônica; Cólon.

ABSTRACT

The nitric oxide (NO) has been reason investigation in several areas of the Medicine for, including his influence on the wound healing, especially the intestinal anastomosis. The studies have been showing divergence on his effect, some times benefitting, other times harming the wound healing. The assumption damage would be caused by the excess of NO produced by the induction of the enzyme nitric oxide sintase inducible (iNOS) that is activated and expressed in special conditions as trauma and sepsis, as well as in the healing of wounds, being secreted by the macrophages in the atmosphere of the wound. The inhibition of the enzyme ONSi for S-methylisothiourea (SMT) has been associated to several effects *in vitro* and *in vivo*. To evaluate the effect of the inhibition of iNOS for SMT about the healing of colonic anastomosis in 60 rats Wistar, males, with corporal weight between 248 and 360 g, distributed in two groups, control and study whose animals received 50mg/Kg of weight of SMT of 12/12 hours for 72 hours. The groups of 30 animals were divided in three subgroups of 10 animals each and submitted the euthanasia in the third, seventh and fourteenth postoperative days (POD). The analyzed variables were the clinical evolution and of the weights, the evaluation of the abdominal cavity to the euthanasia, the analysis of the tensil force of rupture of the anastomosis, the nitrite/nitrate dosage in the serum and the histopatologic evaluation. Of the analyzed variables, it was observed that in the third day there was more vascular neoformation ($p=0,006$) and granulation ($p=0,002$) in the study group and more mononuclear infiltrated ($p=0,041$) in the control group, already in the fourteenth day there was more edema in the control group ($p=0,008$). For all the other variables, besides the clinical evolution and the postoperative evaluation of the cavity didn't have statistical significancy. It is ended, therefore, that in the conditions in that this research was accomplished, the inhibition of ONSi for SMT interfered accelerating the process of the healing of intestinal anastomosis in the 3rd DPO.

Key-words: Nitric oxide; Inducible nitric oxide sintase; wound healing; Colon anastomosis; Colon.

INTRODUÇÃO

1 INTRODUÇÃO

O interesse pelo estudo da cicatrização acompanha a história da Medicina. O primeiro relato sobre feridas data de 1700 a.C. e desde aquela época até hoje tem mostrado crescimento exponencial (Castiglioni, 1947; Efron et al., 1999).

Após a ocorrência de ferimento dá-se início o processo de cicatrização que representa esforço organizado para restabelecer a integridade tissular e envolve complexa ordem de eventos celulares e bioquímicos (Lee et al., 2001).

Em condições normais, na ausência de infecção ou qualquer outro fator prejudicial, a cicatrização de anastomoses colônicas é mais rápida em relação a outras anastomoses do trato digestivo, considerando-se a deposição de colágeno (Hesp et al., 1984; Jonsson, Jiborn e Zederfeldt, 1985; Ravo et al., 1988).

Os granulócitos possuem importante papel na atividade colagenolítica e a população destas células na área da anastomose aumenta na presença de infecção, pois, diferentemente de outras anastomoses, como a ileal, eles permanecem na anastomose colônica por mais de sete dias (Hesp et al., 1984).

Muitas linhas de pesquisa têm sido seguidas no estudo dos fatores que comprometem a cicatrização e em especial a de sutura gastrointestinal: técnica cirúrgica; vascularização; tensão da sutura; contaminação bacteriana; obstrução distal à área de anastomose; lesão por radiação; preparo intestinal; hipertermia; número de planos de sutura intestinal se único ou múltiplo; fios utilizados se absorvível ou inabsorvível, monofilamentar ou multifilamentar; sutura com pontos contínuos ou separados; sutura manual ou mecânica; condições clínicas do paciente; estado nutricional; sepse; hipovolemia; diabetes; uso de corticosteróide; anti-inflamatórios não hormonais, uso do fator XIII da coagulação; uso de quimioterápicos; imunocompetência; transfusão sanguínea; uremia; icterícia e outros (Ravo et al., 1988; Oliveira, 1989; Sousa, 1989; Sousa, 1991; Sousa, 1994; Thornton et al., 1997a; Matos e Lustosa, 1999; Lustosa et al., 2002).

Dos fatores que interferem no sucesso das operações do intestino grosso, a cicatrização da anastomose colônica é um dos principais, sendo a deiscência, complicação que provoca alta morbimortalidade e importante causa de prolongação da internação hospitalar (Collins e Butterfield, 1978; Thornton e Barbul, 1997b; Efron et al., 1999; Martineau e Shek, 2000).

A cicatrização colônica é semelhante à que ocorre em outros órgãos, diferindo apenas no que tange ao colágeno. Estudos têm descrito que nas primeiras 48 horas ocorre diminuição da ordem de 72% na força de ruptura dessas anastomoses devido ao desequilíbrio entre síntese e lise de colágeno nos primeiros três dias da cicatrização (Cronin, Jackson e Dunphy, 1968a; Hawley, 1970; Irvin e Hunt, 1974; Hogstrom e Haglund, 1985; Oliveira, 1989; Ravo et al., 1988).

O sucesso da anastomose tem na fase inicial da cicatrização momento crítico, pois a sua integridade nos primeiros dias depende da capacidade da sutura em manter a tensão na anastomose, responsabilidade esta que é aos poucos substituída pelos próprios tecidos da alça anastomosada.

Dos fatores que interferem no metabolismo do colágeno na cicatrização, especialmente alterando a relação entre a degradação e a síntese, a infecção tem lugar especial. Essa condição é responsável por alterações no cólon operado e naquele não submetido à operação.

Ahrendt et al. (1994 e 1996) mostraram que há grande diminuição da quantidade absoluta de proteína estrutural no cólon após 24 horas de sepse intra-abdominal, sugerindo que ela aumenta a colagenólise e que a capacidade de síntese de colágeno no tecido anastomótico está também diminuída. Esta resposta diminuída na síntese de colágeno é expressa, a nível molecular, pela regulação desordenada da seqüência normal temporal de expressão gênica do colágeno, sendo a infecção intra-abdominal considerada como o maior fator de risco para a deiscência da anastomose colônica primária (Kiyama et al., 2000).

Durante processos orgânicos de trauma ou estresse como a sepse, existe produção exacerbada de óxido nítrico (ON). O ON é um gás, de vida curta, que está envolvido em muitas funções biológicas. Ele foi descoberto em 1987 e nomeado “a molécula do ano em 1992” (Koshland, Jr., 1993).

O ON é formado do átomo guanidino terminal do aminoácido L-arginina (L-arg) pela ação das enzimas óxido nítrico sintases. Para isso o nitrogênio guanidino aceita cinco elétrons em um processo de oxidação que requer oxigênio molecular, resultando na formação de ON e citrulina. Há também a formação de L-hidroxi-arginina como produto intermediário (Knowles e Moncada, 1994).

As enzimas óxido nítrico sintases (ONS) (EC1.14.13.39) são flavoproteínas homodiméricas responsáveis pela conversão da arginina em óxido nítrico (Aranow et al., 1996; Moncada, Palmer e Higgs, 1991; Nathan, 1992; Szabó, Southan e Thiemermann, 1994).

São três as isoformas dessa enzima, duas delas constitutivas: a ONS-I (ONS_n ou neuronal) e a ONS-III (ONS_e ou endotelial); e uma induzível, a ONS-II ou ONS_i. As isoformas constitutivas estão permanentemente ativas gerando baixas concentrações de óxido nítrico. Sua atividade enzimática depende do fluxo intracelular de cálcio ou calmodulina exógena (Knowles et al., 1994).

Cabe à enzima óxido nítrico sintase neuronal a produção de óxido nítrico no sistema nervoso central e periférico, que age como um neurotransmissor (Dawson, Dawson e Snyder, 1992). Já o óxido nítrico produzido no endotélio pela enzima óxido nítrico sintase endotelial está envolvido na regulação da pressão arterial, do fluxo sanguíneo dos órgãos e impede a adesão plaquetária e de polimorfonucleares à superfície endotelial (Moncada, Palmer e Higgs, 1991; Nathan, 1992; Vane, 1994).

A expressão, função e transcrição da enzima óxido nítrico sintase induzível são induzidas por uma variedade de citocinas, fatores de crescimento e estímulo inflamatório nas células alvo, os quais levam à liberação de altos níveis de ON comparado às quantidades geradas pelas isoformas constitutivas. Ademais a regulação da ONS_i tem lugar principalmente a nível genético (Knowles et al., 1994). Várias células podem produzir ON, inclusive os macrófagos (Moncada, Palmer e Higgs, 1991; Nathan, 1992).

O ON é importante mediador celular do reparo tecidual, sendo produzido nos macrófagos pela ONS_i durante a cicatrização da ferida, tendo efeito positivo nesta. A citotoxicidade do ON derivado de macrófagos ativados desempenha papel chave na atividade antimicrobiana dessas células

(Moncada, Palmer e Higgs, 1991; Nathan, 1992; Xia et al., 2006; Chakraborty et al., 2006).

O aumento da formação de ON proveniente da ONSi contribui para alguns de seus efeitos deletérios em situações inflamatórias como na sepse. O ON contribui importantemente para a falência circulatória (hipotensão e hiporreatividade vascular aos agentes vasopressores) no choque de várias etiologias (Szabó et al., 1994; Tsukahara et al., 1998; Hollenberg et al., 1999). Contribuindo também na fisiopatologia de várias outras doenças como o diabetes melito e a rejeição de órgãos transplantados (Corbett et al., 1992; Meyer et al., 1992; Nava, Palmer e Moncada, 1992; Cartney-Francis et al., 1993; Koprowski et al., 1993; Langrehr et al., 1993; Miller et al., 1993; Stefanovic-Racic, Stadler e Evans, 1993; Tilton et al., 1993).

Indução da enzima óxido nítrico sintase induzível também ocorre durante a cicatrização de feridas, queimaduras, exposição à endotoxina, artrite e doenças inflamatórias intestinais (Witte e Barbul, 2002). Tal indução, em estudo realizado por Thornton et al. em 1997, leva a expressão do óxido nítrico e influencia negativamente a síntese de colágeno pelos fibroblastos da ferida.

A perda do gene da ONSi, em ratos foi associada ao retardo do fechamento de feridas cutâneas abertas, quando comparadas com aquelas do grupo controle. A transferência, por adenovírus, do gene da ONSi aos animais *knock-out*, fez com que o tempo de cicatrização aproxime-se dos encontrados no grupo controle (Hunt e Hawley, 1969).

O metabolismo do ON é completamente dependente do metabolismo da L-arg, devido ao fato de que essa é o substrato base da síntese daquele, apesar de alguns estudos apontarem para uma síntese de ON não enzimático-dependente (Nagase et al., 1997). Os níveis de L-arginina, que é um aminoácido semi-essencial (Seifter et al., 1978), tornam-se criticamente baixos após a cicatrização de feridas (Caldwell et al., 1991).

O aminoácido L-arginina também pode ser metabolizada no ambiente da ferida, pela ação da enzima arginase, que está ali presente por ser secretada pelos macrófagos (Albina et al., 1990).

A Ornitina, que é formada através da ação da arginase, é precursora da geração de prolina e poliaminas (Albina et al., 1990). Essas duas substâncias

são importantes, pois se postula que a prolina seja a base para síntese de colágeno, e as poliaminas estejam envolvidas na proliferação celular (Albina, Abate e Mastrofrancesco, 1993; Selamnia et al., 1998).

Albina et al. (1990) confirmaram que o período mais ativo da ONS ocorria durante as fases precoces da cicatrização da ferida. Resultado semelhante também foi obtido novamente por Albina et al. (1993) e Schafer et al. (1997b) quando foi observado, num modelo experimental em ratos, o acúmulo progressivo de nitrito/nitrato no fluido de feridas, sugerindo constante produção de ON.

Posteriormente com o advento de anticorpos específicos para as isoformas da ONS, observou-se que a expressão da ONSi era maior na fase precoce da cicatrização, após a inflamação aguda (Albina, Abate e Mastrofrancesco, 1993; Frank et al., 1998; Nill et al., 1995). A maior parte da síntese de ON é devida às células inflamatórias, em especial aos macrófagos (Reichner et al., 1999; Albina, Abate e Mastrofrancesco, 1993). Entretanto, fibroblastos, queratinócitos e células endoteliais contribuem para o início da síntese de ON, porém em quantidade menor (Schaffer et al., 1997b).

A regulação da síntese de ON *in vitro* está bem elucidada, porém *in vivo*, durante a cicatrização de feridas, sabe-se apenas que grande número de citocinas e fatores de crescimento secretados e liberados no ambiente da ferida, tais como interleucina-1, fator de necrose tumoral K e interferon-3, são os mais prováveis indutores da ONSi. O fluido da ferida, como uma reflexão biológica do ambiente da ferida, induz a síntese de ON em uma variedade de células (Witte, Efron e Kiyama, 1998).

Pesquisas com inibidores da ONS, ou com camundongos modificados geneticamente para não produzirem as enzimas, mostraram que a inibição não específica traria efeitos colaterais a várias ações fisiológicas do ON. Daí, os inibidores seletivos possuem importante potencial terapêutico (Szabó, Southan e Thiemermann, 1994).

Foi observado que a indução da expressão da ONSi e a produção de ON estavam associadas com aumento da atividade da casparase-3 e morte celular (Tian et al., 2002), assim como a apoptose celular induzida pelo lipopolissacarídeo (Iravani et al., 2002).

Existem drogas inibidoras da ONS que são inespecíficas quanto às suas isoformas e outras que são específicas para cada isoforma em particular (Szabó, Southan e Thiemermann, 1994).

Grande número de drogas têm sido apontadas como tendo efeito sobre a ONS, diminuindo ou bloqueando o seu efeito. Dentre estas o sulfato de S-metilisotiouréia (SMT) foi demonstrada em vários artigos como uma delas, ou seja, atuando sobre a ONS diminuindo o seu efeito (Takahashi et al., 2001; Xu, Cubeddu e Malave, 2001; Valenti, Fazzuoli e Giusti, 2003).

Vários trabalhos mostraram especificidade da SMT para a ONSi. Além disso, *in vitro*, a SMT mostrou-se de 10 a 30 vezes mais potente que qualquer outra droga inibidora da ONSi (Szabó, Southan e Thiemermann, 1994; Aranow et al., 1996; Bing e Suzuki, 1996; Akiyama et al., 1997; Oshima et al., 2001; Chan et al., 2002; Iravani et al., 2002; Ozturk et al., 2003; Tejero-Taldo et al., 2002; Tian et al., 2002; Ye et al., 2002).

Chen et al. em série de artigos, mostraram o benefício do uso da SMT e da inibição da ONSi na melhora da translocação bacteriana em ratos queimados (Chen et al., 1998; Chen et al., 1999; Chen et al., 2001; Chen et al., 2003; Hsu, Liu e Chen, 2000).

Liu et al. (1996) mostraram que a SMT melhorou a pressão arterial e a quantidade de oxigênio na mucosa intestinal em modelo de choque em ovelhas.

Em estudo publicado em 2002, foi demonstrado que a inibição específica da ONSi pela SMT, em modelo de sepse, estimulava a síntese de arginina renal, sem alterar os seus níveis séricos (Hallemesch et al., 2002).

Em outro estudo a SMT foi utilizada em modelo canino para a avaliação do trânsito intestinal e sua influência sobre o íleo paralítico no pós-operatório e o resultado foi que nos dois grupos que receberam a droga por via intravenosa em infusão contínua houve aumento na motilidade intestinal (Uenoyama et al., 2004).

Shaffer et al. (1997a) mostraram que os fibroblastos da ferida estão alterados fenotipicamente para a produção de ON, e que a SMT *in vitro* não só reduziria esta produção, como não afetaria a proliferação de fibroblastos e melhoraria a contração do colágeno.

OBJETIVO

Avaliar os efeitos do hemissulfato de S-metilisotiouréia sobre a cicatrização de anastomoses colônicas em ratos no 3º, 7º e 14º dia de pós-operatório pela avaliação da evolução do peso corporal e clínica, da cavidade abdominal à reoperação, da força tênsil de ruptura da anastomose, da concentração de nitrito/nitrato no soro e pelo estudo histopatológico do cólon anastomosado.

MATERIAL E MÉTODOS

2 MATERIAL E MÉTODOS

O presente estudo foi realizado no Laboratório de Cirurgia Experimental da Área de Clínica Cirúrgica da Faculdade de Medicina da Universidade de Brasília – UnB, obedecendo às normas e preceitos éticos para com os animais de experimentação.

Para a redação foram utilizadas as Normas para a Apresentação de Documentos Científicos da Universidade Federal do Paraná (IPARDES, 2002).

2.1 ANIMAL DE EXPERIMENTAÇÃO

Foram utilizados 60 ratos, *Rattus norvegicus*, linhagem Wistar, machos, aparentemente saudáveis, com peso corporal inicial entre 248 e 364 g e com 90 a 120 dias de vida.

Os animais foram adquiridos da empresa Bioagri Laboratórios LTDA, Brasília – DF.

Todos os animais foram submetidos à anestesia geral e em seguida a laparotomia conforme descrito por Oliveira (1989).

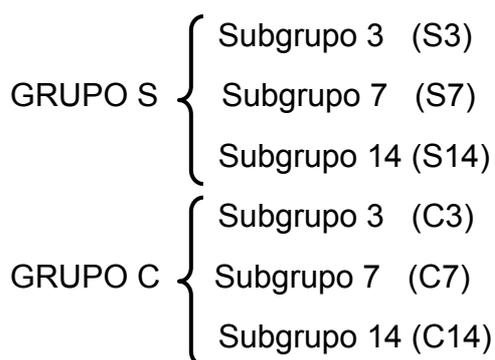
2.2 DISTRIBUIÇÃO E ALOCAÇÃO DOS ANIMAIS EM GRUPOS

Os animais foram alocados em dois grupos de 30 animais que consistiram nos grupos de estudo (S) e de controle (C), e depois em subgrupos para eutanásia em três, sete ou quatorze dias de pós-operatório (DPO). A escolha dos animais para os grupos foi de forma aleatória por meio de sorteio imediatamente antes do procedimento operatório, sem que o operador soubesse a qual grupo o animal pertencia.

O primeiro sorteio para os grupos S e C foi dois a dois com uma urna contendo duas etiquetas identificadas com “S” para hemissulfato de S-metilisotiouréia e “C” para controle.

Os 30 animais do grupo SMT (S) foram distribuídos em três subgrupos de dez animais, os quais foram submetidos à eutanásia respectivamente três,

sete e quatorze dias após a operação (S-3, S-7 e S-14). O mesmo ocorreu com os 30 animais do grupo controle (C-3, C-7 e C-14). A distribuição entre os subgrupos foi realizada por sorteio imediatamente após o sorteio anterior de alocação nos dois grupos principais, com uma urna contendo três etiquetas com as datas de sacrifício três, sete e quatorze dias. Os sorteios foram realizados por colaborador que não revelou ao operador e ao segundo colaborador, que administrava a medicação, a qual grupo pertencia cada animal.



2.3 PROCEDIMENTOS REALIZADOS

2.3.1 Preparo Pré-operatório dos Animais

Os animais permaneceram no Alojamento de Animais do Laboratório de Cirurgia Experimental da UnB, confinados em gaiolas, em lotes de três, recebendo dieta padrão (ração Labina® – Purina Nutrientes LTDA – Campinas, SP) e água à vontade, mantidos em regime de 12 horas de luz e 12 horas de escuridão, por período de duas semanas antes das operações. Foi respeitado jejum pré-operatório de seis horas.

Imediatamente antes da operação e da reoperação seus pesos foram aferidos em balança eletrônica (Marte balança eletrônica modelo AS5500 C, Marte Balanças e Aparelhos de Precisão LTDA – São Paulo, SP). Todos os animais foram pesados no terceiro dia, aqueles animais pertencentes aos grupos S-7, C-7, S14 e C14 no sétimo dia, e os pertencentes aos grupos S14 e C14 no 14º dia. A pesagem dos animais que foram operados no dia foi realizada no pré-operatório imediato.

2.3.2 Anestesia

Para anestesia geral foi utilizado o pré-anestésico Cloridrato de Xilasina (Rompum®, Cloridrato de Xilasina, Bayer S.A. São Paulo - SP) na dose de 5mg/Kg de peso, por via intramuscular e o anestésico Cloridrato de cetamina (Ketamin®, Cloridrato de cetamina, Cristália Produtos Químicos Farmacêuticos LTDA, Itapira, SP) na dose de 25mg/kg de peso também por via intramuscular (Massone, 1998; Ravo et al., 1988; Witte et al., 2003).

Após a indução anestésica os ratos foram marcados na orelha utilizando-se o sistema australiano conforma descrito por Tostes (2003). No transoperatório, doses adicionais de pré-anestésico e/ou anestésico foram aplicadas caso necessário.

2.3.3 Operação

Os procedimentos operatórios deste estudo foram realizados no Laboratório de Cirurgia Experimental da Área de Clínica Cirúrgica da Faculdade de Medicina da Universidade de Brasília.

O procedimento cirúrgico foi realizado com material cirúrgico limpo não estéril.

Depois de anestesiados e pesados, os animais foram submetidos aos seguintes passos descritos por Oliveira (Oliveira, 1989; Oliveira, 1995) e por Witte (Witte et al., 2003):

- a) imobilização do animal em decúbito dorsal sobre placa de madeira pela fixação de seus membros com fita de esparadrapo;
- b) tricotomia da parede abdominal anterior (figura 1);
- c) anti-sepsia da pele do abdome com solução de polivinilpirrolidona iodo alcoólico;
- d) laparotomia mediana de 4 cm de extensão, com sua extremidade caudal a 1 cm da genitália externa do animal (figura 2);
- e) colocação de afastador auto-estático;

- f) colocação cranial de gaze embebida em solução de NaCl 0,9% para exposição do cólon distal (figura 3);
- g) malaxação divergente caso o segmento intestinal a ser operado apresentasse conteúdo fecal;
- h) exposição, ligadura e secção distal dos ramos veno-arteriais de um segmento colônico compreendido, aproximadamente, entre 2,5 e 3,5 cm, cranialmente à reflexão peritoneal (Figura 4);
- i) ressecção do segmento colônico de 1 cm, por secção com tesoura reta, estando a borda distal da ressecção a cerca de 2,5 cm da reflexão peritoneal;
- j) reconstrução do trânsito colônico por anastomose término-terminal, em plano único, com pontos contínuos, englobando todas as camadas da parede intestinal, utilizando-se fio de polipropileno 6-0 com agulha cilíndrica de 1,3cm (Prolene[®], ETHICON – São José dos Campos, SP);
- k) síntese da parede abdominal em dois planos – o primeiro, incluindo o peritônio, músculo e aponeurose na linha média, com sutura contínua simples e o segundo, o tecido subcutâneo e pele, com sutura contínua em friso grego – ambos com fio de seda 3-0 com agulha cilíndrica de três centímetros (seda preta torcida, ETHICON – São José dos Campos, SP).

FIGURA 1 – ANIMAL DE EXPERIMENTAÇÃO APÓS A REALIZAÇÃO DE TRICOTOMIA NA PAREDE ABDOMINAL.



FIGURA 2 – LAPAROTOMIA MEDIANA DE 4 CM INICIANDO A UM CENTÍMETRO DA GENITÁLIA EXTERNA.



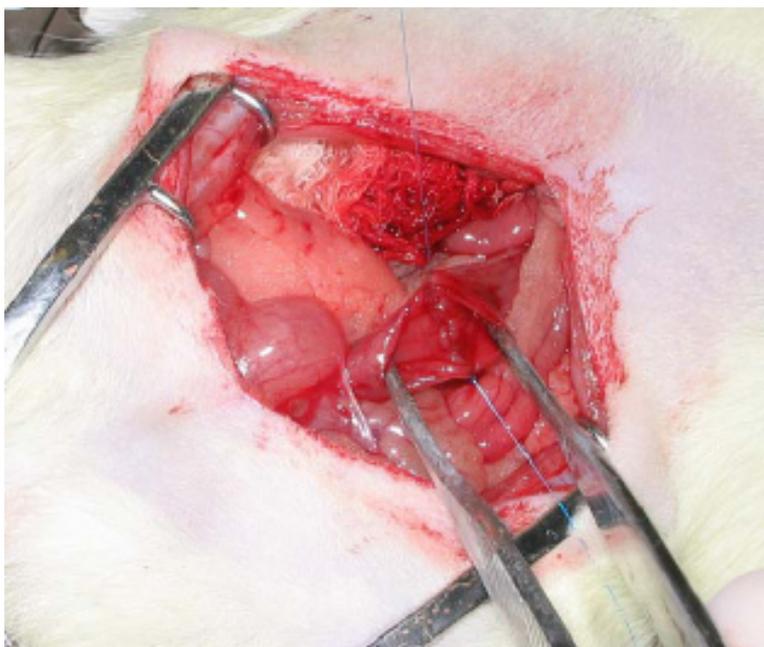
FIGURA 3 – COLOCAÇÃO DE AFASTADOR AUTOESTÁTICO NA PAREDE ABDOMINAL E GAZE EMBEBIDADA EM SOLUÇÃO FISIOLÓGICA MOBILIZANDO E MANTENDO AFASTADAS AS ALÇAS DE INTESTINO DELGADO.



FIGURA 4 – MEDIDA DA ALÇA A SER RESSECADA E ANASTOMOSADA ENTRE 2,5 E 3,5 CM DA REFLEXÃO PERITONEAL.



FIGURA 5 – SUTURA CONTÍNUA DO CÓLON COM FIO DE POLIPROPILENO 6-0, A ALÇA ENCONTRA-SE FECHADA NA PAREDE POSTERIOR E ABERTA NA ANTERIOR.



2.3.4 Administração da S-metilisotiouréia

Foi administrada S-metilisotiouréia (S-Methylisothioureia hemisulfate salt, Sigma-Aldrich Co, São Paulo, SP) na dosagem de 50mg/Kg/dose duas vezes ao dia (12/12 horas) via intraperitoneal, iniciando no final do ato operatório e se prolongando por 72 horas para todos os animais dos grupos de estudo (Tani et al., 1990; Adawi et al., 1996; Aranow et al., 1996; Arkovitz et al., 1996; Angele et al., 1998; Chen et al., 1998; Haberstroh et al., 1998; Mitani, Maruyama e Sakurai, 1997; Thomas et al., 2001).

No grupo controle era realizada a injeção intraperitoneal de solução fisiologia a 0,9% em volume idêntico ao que seria aplicado caso ele fosse do grupo de estudo (0,5 ml/Kg).

2.3.5 Evolução Pós-operatória

Após a recuperação anestésica os animais foram colocados em gaiolas, em grupos de seis, com água e ração à vontade. Procurou-se observar sinais de apatia, distensão abdominal, diarreia, eriçamento de pelos e evolução clínica da ferida cutânea dos animais.

Ocorrendo morte, o animal foi submetido à necropsia.

2.3.6 Reoperação e Avaliação da Cavidade Peritoneal

Os animais sobreviventes foram reoperados nos dias previamente determinados em cada subgrupo.

A reoperação obedeceu à padronização conforme a seguir:

- a) pesagem do animal;
- b) anestesia geral conforme descrito previamente;
- c) imobilização do animal em decúbito dorsal, sobre placa de madeira, pela fixação de seus membros com fita de esparadrapo;
- d) anti-sepsia da pele do abdome com solução de polivinilpirrolidona iodo alcoólico;

- e) laparotomia paramediana com ampla exposição da cavidade para permitir o inventário da mesma;
- f) colocação de afastador auto-estático;
- g) Inventário da cavidade com pesquisa de sinais de peritonite, abscessos ou deiscência da anastomose;
- h) liberação da alça anastomosada e ressecção de segmento intestinal de dois centímetros, contendo a anastomose em sua porção central;
- i) o segmento ressecado foi aberto por sua borda mesentérica formando um retângulo;
- j) a peça assim preparada foi seccionada em sentido longitudinal em dois fragmentos. Um fragmento foi submetido à análise da resistência tênsil pelo Versa Test, e teve seus fragmentos resultantes imersos em solução de NaCl 0,9% e congelados a -20°C até processamento bioquímico (item 3.4.9); o segundo foi fixado em solução de formol tamponado a 10% para posterior processamento histopatológico e morfométrico;
- k) foi colhido sangue arterial para congelamento e posterior dosagem de nitrato:
 - foi colhido 5 ml sangue arterial por punção cardíaca, com seringa e agulha 27x8;
 - o sangue colhido foi deixado por uma hora em repouso em tubo de ensaio para a retração do coágulo;
 - após retraído o coágulo, foi separado o conteúdo líquido resultante, esse foi centrifugado a 3.000 rpm por 15 minutos.
 - em seguida foi colhido 1,5 ml do soro que foi congelado para ser analisado posteriormente.
- l) a eutanásia foi realizada com o animal anestesiado com as mesmas drogas descritas inicialmente, por secção da veia cava inferior intratorácica.

2.3.7 Estudo da Força Tênsil

O segmento de intestino ressecado na reoperação foi colocado em equipamento que mede a força de ruptura.

Para a determinação da força de ruptura, foi utilizado aparelho de ensaio vertical, denominado Versa Test (Mecmesin ® Versa Test, United Kingdom), de capacitação de tração de 2.500 N, acoplado a dinamômetro digital portátil AGF (Mecmesin ® Versa Test, United Kingdom).

Na análise da intensidade da força de ruptura, o fragmento retangular extraído, com dois centímetros de comprimento foi fixado pelas duas extremidades por meio da pinça superior do dinamômetro e da pinça inferior do Versa Teste com a cicatriz cirúrgica equidistante e paralela às pinças. A velocidade utilizada no teste de ruptura do tratamento foi de 30 mm/min (Tognini et al., 2000).

O valor de ruptura foi expresso em Newtons.

O dinamômetro foi aferido antes de cada série de medidas. Na determinação da intensidade da força de ruptura, o observador não sabia à qual grupo de animais pertencia o material em estudo.

Na figura 6 podemos observar o equipamento VERSA TEST que mede a força de ruptura da anastomose e sua conexão com o microcomputador que recebe e armazena os resultados.

FIGURA 6 – VERSA TEST ACOPLADO À DINAMÔMETRO DIGITAL LIGADO AO MICROCOMPUTADOR QUE CAPTURA A CURVA DE TENSÃO E A FORÇA DE RUPTURA DA ANASTOMOSE.



2.3.8 Concentração de nitrito/nitrato no soro

O sangue do animal colhido por punção cardíaca, centrifugado e congelado foi enviado ao Laboratório de Farmacologia da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo, onde foi submetido à reação de Greiss para a dosagem de nitrito/nitrato (Marletta et al., 1988; Higuchi e Motomizu, 1999; Schulz et al., 2002; Murray, Bullimore e Long, 2003; Kato et al., 2004).

2.3.9 Estudo Histopatológico

As peças, após fixação em formol tamponado a 10%, foram coradas pelo método hematoxilina e eosina conforme a rotina do laboratório de anatomia patológica LIB e Biópsia de Brasília. A avaliação da cicatrização foi

realizada pela microscopia de luz, por patologista experiente que desconhecia a que grupo de animais provinha o material.

Os seguintes indicadores foram considerados em cada peça:

- a) congestão;
- b) edema;
- c) hemorragia focal;
- d) ulceração;
- e) necrose;
- f) infiltrado mononuclear;
- g) infiltrado polimorfonuclear;
- h) neoformação vascular;
- i) granulação;
- j) fibrose.

Cada indicador foi classificado em ausente (-), leve (+), moderado (++) , marcante (+++) ou intenso (++++) conforme descrito por Sousa (1989).

2.3.10 Análise Estatística

As variações dos pesos dos animais, a evolução clínica, os achados histopatológicos e as dosagens de nitrato no tecido e sangue foram analisados do ponto de vista estatístico.

Os dados foram armazenados e processados em *softwares* específicos chamados SPSS® – *Special package for social sciences* – versão 12.0 e Sigma Stat versão 32.

Para a comparação dos pesos iniciais, finais e dosagem de NOx no soro foram utilizados o t-test e o One Way Anova. Para a avaliação dos critérios histopatológicos foram utilizados o t-test e o Mann-Whitney.

Em todos os testes foi considerado significativo um valor de $p < 0,05$.

2.3.11 Aprovação pelo Comitê de Ética

O projeto foi submetido e aprovado pelo Comitê de Ética no Uso Animal (CEUA) do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade de Brasília.

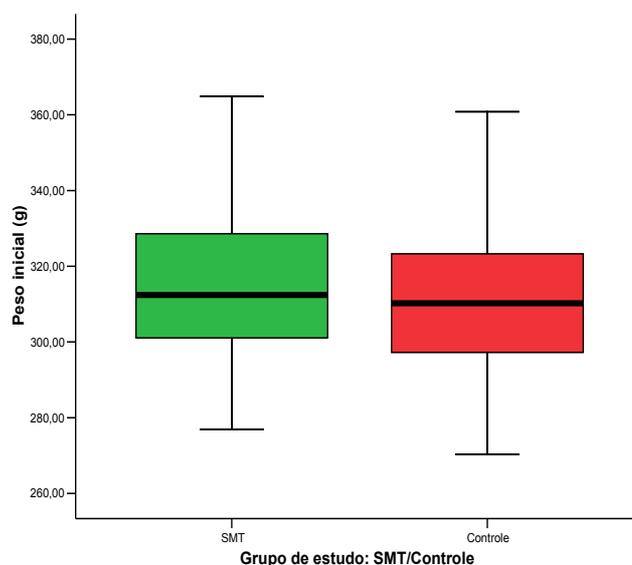
RESULTADOS

3 RESULTADOS

3.1 PESO DOS ANIMAIS

O peso inicial dos animais foi semelhante nos dois grupos, com média de 313,21g (IC 95% 304,28 – 322,14) no grupo SMT e média de 311,54g (IC 95% 303,55 – 319,54) no grupo controle, não havendo diferença estatisticamente significativa entre os dois grupos ($p=0,454$). Na figura 7 podemos observar a comparação entre os pesos iniciais dos dois grupos.

FIGURA 7 - MEDIANA, MÉDIA, DESVIO PADRÃO E VARIÂNCIA DOS PESOS EM GRAMAS, POR GRUPO PRÉVIO AO INÍCIO DO ESTUDO.



NOTA: Hemissulfato de S-metilisotiuréia (SMT)

$p>0,05$

Houve, inicialmente, queda nos pesos dos animais nos grupos SMT e controle, que foi proporcional, havendo, ao final do estudo, o regresso dos pesos dos animais aos níveis iniciais prévios ao início do estudo. A tabela 1 traz a média dos pesos dos animais antes do início do estudo e a evolução desses com o decorrer do período pós-operatório.

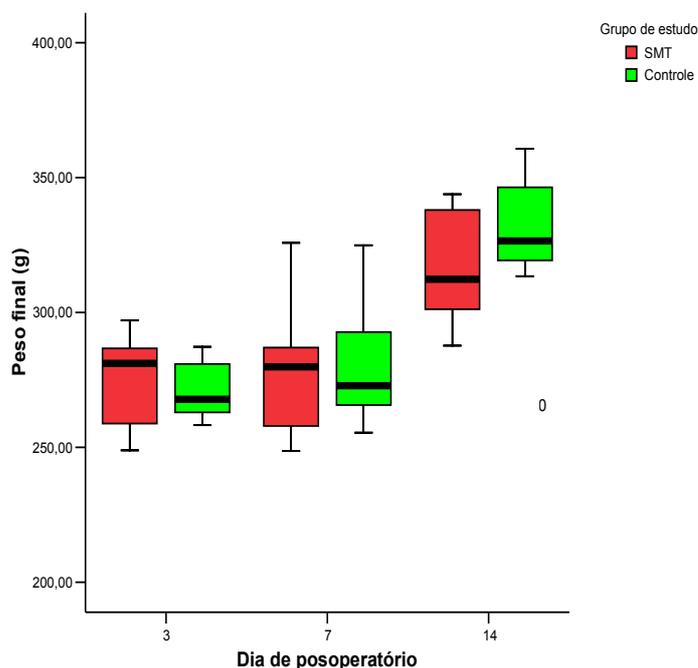
A comparação do peso de cada subgrupo (C e S), aferido à época da eutanásia no terceiro, sétimo e décimo quarto dia não mostrou diferença estatisticamente significativa como pode ser observado na figura 8.

TABELA 1 - MÉDIA DOS PESOS DOS ANIMAIS, NÚMERO DE ANIMAIS AVALIADOS E DESVIO PADRÃO, POR GRUPO, ANTES DO INÍCIO DO EXPERIMENTO, AO TERCEIRO, SÉTIMO E DÉCIMO QUARTO DIA DE PÓS-OPERATÓRIO, EM GRAMAS.

| GRUPO | | PESO INICIAL | PESO FINAL | | |
|----------|---------------|--------------|------------|--------|---------|
| | | | 3° dia | 7° dia | 14° dia |
| SMT | Média | 314,67 | 275,32 | 279,49 | 316,81 |
| | N | 30 | 24 | 17 | 8 |
| | Desvio padrão | 19,68 | 14,46 | 21,56 | 20,88 |
| Controle | Média | 310,86 | 280,54 | 285,43 | 326,12 |
| | N | 30 | 27 | 20 | 10 |
| | Desvio padrão | 19,43 | 17,04 | 21,75 | 27,91 |
| Total | Média | 312,76 | 278,08 | 282,70 | 321,98 |
| | N | 60 | 51 | 37 | 18 |
| | Desvio padrão | 19,48 | 15,94 | 21,57 | 24,79 |
| p = | | 0,454 | 0,868 | 0,871 | 0,446 |

NOTA: Hemissulfato de S-metilisotiouréia.

FIGURA 8 – MEDIANA E VALORES INTERVALARES DOS PESOS DOS ANIMAIS NOS DOIS GRUPOS E PELO DIA DE PÓS-OPERATÓRIO. PESO EM GRAMAS.



NOTA: 3ºDPO (3), 7ºDPO (7) e 14ºDPO (14)
 Hemissulfato de S-metilisotioréia (SMT)
 $p > 0,05$

Os pesos iniciais e finais de cada animal e a porcentagem da perda de podem ser observadas nos apêndices 1, 2 e 3.

3.2 EVOLUÇÃO CLÍNICA

Seis animais morreram durante o experimento (animais 15, 16, 22, 23, 24 e 44), sendo um do subgrupo SMT 3º DPO, dois do SMT 7º DPO, dois do 14º DPO, e um do controle 3º DPO. Os óbitos ocorreram todos no pós-operatório imediato, na noite que se seguiu à operação, tendo sido encontrados nas gaiolas no dia seguinte. Todos esses animais foram submetidos à necropsia imediatamente, e nos mesmos não foram encontrados sinais de sangramento intra-abdominal ou intratorácico, abscesso, deiscência ou peritonite. Desta forma, os animais que morreram durante o estudo não foram repostos, já os outros 54 animais permaneceram vivos até as datas previamente estabelecidas para a eutanásia.

O animal 31 (controle 3º dia) apresentou deiscência parcial da parede abdominal no 2º DPO e foi reoperado com ressutura da parede abdominal, sobrevivendo até o dia de sua eutanásia. No primeiro DPO o animal 38 apresentou diarreia com sangue, que cessou no dia seguinte. E o animal número 12 apresentou eriçamento de pelos no pós-operatório inicial, sem outras intercorrências.

3.3 REOPERAÇÃO E AVALIAÇÃO DA CAVIDADE ABDOMINAL

O evento mais comum foi a ocorrência de aderências, que estiveram presentes em 88,9% dos animais do subgrupo SMT 3 e em 100% dos outros animais. Já o vazamento da anastomose não ocorreu em nenhum animal. Tais aderências eram frouxas no 3º DPO e tornavam-se mais resistentes no 7º e no 14º DPO. Na tabela 2 observa-se a frequência de aderências intracavitárias, deiscência de anastomose e vazamento de anastomose.

Deiscência de anastomose ocorreu nos dois grupos e em todos os subgrupos, porém sem significância estatística entre eles. Tais deiscências encontravam-se todas bloqueadas por epíplon e órgãos adjacentes sem ter sido evidenciado nenhum caso de peritonite difusa, abscesso ou vazamento da anastomose.

TABELA 2 – FREQUÊNCIA DA PRESENÇA DE ADERÊNCIAS INTRACAVITÁRIAS, DEISCÊNCIA DA ANASTOMOSE OU VAZAMENTO DE CONTEÚDO PELA ANASTOMOSE, EM PORCENTAGEM E PELO GRUPO E DIA DE PÓS-OPERATÓRIO.

| DIA DE EUTANÁSIA | | ACHADO | | |
|------------------|----------|-------------------------------|------------------------------|--------------------------|
| | | Aderência intracavitárias (%) | Deiscência da anastomose (%) | Vazamentos da anastomose |
| 3º DPO | SMT | 88,9 | 33,3 | 0 |
| | CONTROLE | 100,0 | 11,1 | 0 |
| 7º DPO | SMT | 100,0 | 25,0 | 0 |
| | CONTROLE | 100,0 | 30,0 | 0 |
| 14º DPO | SMT | 100,0 | 12,0 | 0 |
| | CONTROLE | 100,0 | 30,0 | 0 |

NOTA: Dia de pós-operatório (DPO)
Hemissulfato de S-metilisotouréia (SMT)
p>0,05

Nos apêndices 4 e 5 podem ser observados os resultados da avaliação da cavidade abdominal de todos os animais do estudo.

3.4 ANÁLISE DA FORÇA DE TÊNSIL

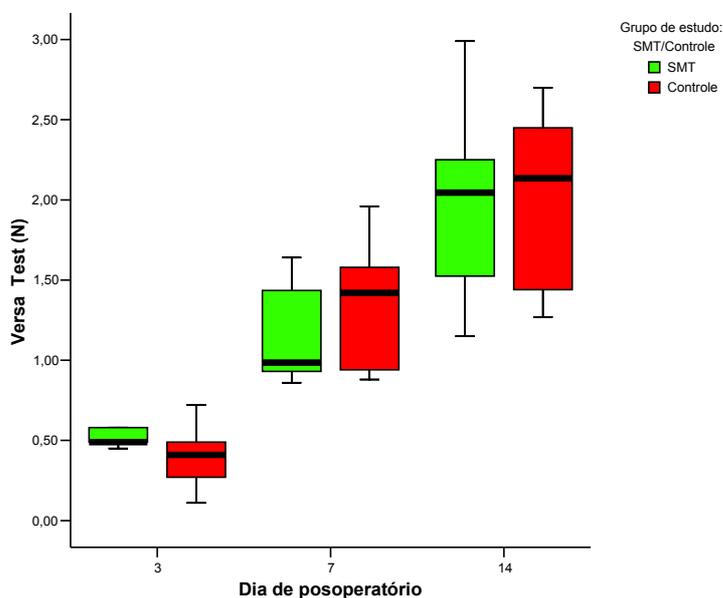
A análise da força de ruptura mostrou aumento em todos os grupos, com o passar do período pós-operatório do 3° para o sétimo 7° e deste para o 14° DPO como se pode observar na figura 9, porém quando foi feita a comparação entre o grupo de estudo e o grupo controle não houve diferença estatisticamente significativa (tabela 3). Os resultados da medida da força de ruptura de todos os animais constam nos apêndices 6 e 7.

TABELA 3 – MÉDIAS E DESVIOS PADRÃO DA FORÇA DE RUPTURA POR GRUPO E POR DIA DE PÓS-OPERATÓRIO, E O VALOR DE p QUANDO COMPARADOS OS GRUPOS DO MESMO DPO.

| DPO | GRUPO | MÉDIA | DESVIO PADRÃO | p |
|--------|----------|-------|---------------|-------|
| 3°DPO | SMT | 0,54 | 0,24 | 0,569 |
| | CONTROLE | 0,43 | 0,03 | |
| 7°DPO | SMT | 1,22 | 0,48 | 0,746 |
| | CONTROLE | 1,35 | 0,37 | |
| 14°DPO | SMT | 1,97 | 0,59 | 0,709 |
| | CONTROLE | 2,01 | 0,56 | |

NOTA: Dia de pós-operatório (DPO)
Hemissulfato de S-metilisotiouréia (SMT)

FIGURA 9 – MEDIANA E VALORES INTERVALARES DA FORÇA DE RUPTURA DAS ANASTOMOSES POR TRAÇÃO NOS GRUPOS E SUBGRUPOS. VALORES AFERIDOS EM NEWTONS (N).



NOTA: $p > 0,05$

3.5 CONCENTRAÇÃO DE NITRITO/NITRATO NO SORO

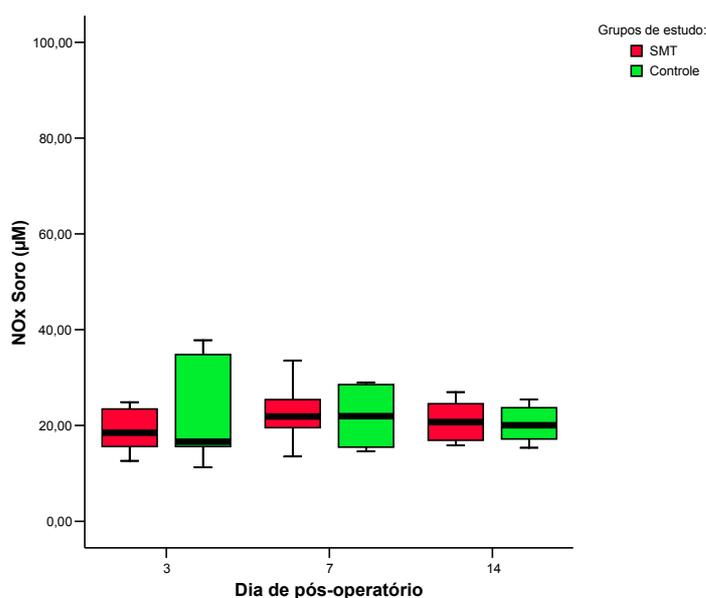
A concentração do nitrito/nitrato (NO_x) no soro coletado e congelado mostrou-se semelhante nos dois grupos e seis subgrupos como é observado na figura 10, não sendo identificada diferença estatisticamente significantes quando foram comparados os animais de cada grupo no 3º, 7º e 14º DPO (tabela 4).

TABELA 4 – MÉDIAS E DESVIOS PADRÃO DA CONCENTRAÇÃO DE NITRITO/NITRATO NO SORO POR GRUPO E POR DIA DE PÓS-OPERATÓRIO, E O VALOR DE p QUANDO COMPARADOS OS GRUPOS DO MESMO DPO.

| DPO | GRUPO | MÉDIA | DESVIO PADRÃO | p |
|--------|----------|-------|---------------|-------|
| 3°DPO | SMT | 0,54 | 0,24 | 0,569 |
| | CONTROLE | 0,43 | ,028 | |
| 7°DPO | SMT | 1,22 | 0,48 | 0,746 |
| | CONTROLE | 1,35 | 0,37 | |
| 14°DPO | SMT | 1,97 | 0,59 | 0,709 |
| | CONTROLE | 2,01 | 0,56 | |

NOTA: Dia de pós-operatório (DPO)
Hemissulfato de S-metilisotiouréia (SMT)

FIGURA 10 – MEDIANA E VALORES INTERVALARES DA DOSAGEM DE NITRITO NO SORO COLHIDO À EUTANÁSIA. VALORES AFERIDOS EM MICROMOL (μM).



NOTA: $p > 0,05$.

Hemissulfato de S-metilisotiouréia

As concentrações de nitrito/nitrato no soro de cada animal podem ser observadas nos Apêndices 8 e 9.

3.6 HISTOPATOLÓGICO

Estudos anteriores têm demonstrado que a análise histopatológica da área da anastomose é de crucial importância para a análise do reparo tecidual (Sousa, 1994), propiciando ao observador experiente a comparação dos efeitos de diferentes técnicas cirúrgicas ou tratamentos sobre o processo de cicatrização (Reys, 2005).

Foi observada significância estatística para a maior presença de infiltrado polimorfonuclear ($p=0,041$) no grupo controle (tabela 5), maior neoformação vascular ($p=0,006$) e maior granulação ($p=0,002$) no grupo estudo no terceiro dia de pós-operatório.

Podemos verificar na figura 11 o infiltrado mononuclear, assim como a neovascularização na figura 12 e o tecido de granulação na figura 13.

TABELA 5 – AVALIAÇÃO DA VARIÁVEL HISTOLÓGICA “POLIMORFONUCLEARES” COM SUA CLASSIFICAÇÃO E DISTRIBUIÇÃO ENTRE OS GRUPOS DE ESTUDO E CONTROLE NAS ANASTOMOSES COLÔNICAS PELO DIA DE EUTANÁSIA.

| | EUTANÁSIA | | | | | |
|-------------------|--------------|-------------------|--------------|--------------------|--------------|--------------------|
| | 3ºDPO | | 7ºDPO | | 14ºDPO | |
| | $p=0,041^*$ | | $p=0,153$ | | $p=0,822$ | |
| | SMT (N=9) | Controle (N=9) | SMT (N=8) | Controle (N=10) | SMT (N=8) | Controle (N=10) |
| Ausente (0) | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| Leve (+) | 1 | 0 | 1 | 1 | 6 | 8 |
| Moderada (++) | 3 | 1 | 5 | 2 | 1 | 2 |
| Marcante (+++) | 3 | 1 | 2 | 7 | 1 | 0 |
| Intensa (++++) | 2 | 7 | 0 | 0 | 0 | 0 |

NOTAS: Dia de pós-operatório (DPO)

Valor-p (p)

Hemissulfato de S-metilisotiuréia (SMT)

$P<0,05^*$

TABELA 6 – AVALIAÇÃO DA VARIÁVEL HISTOLÓGICA “NEOFORMAÇÃO VASCULAR” COM SUA CLASSIFICAÇÃO E DISTRIBUIÇÃO ENTRE OS GRUPOS DE ESTUDO E CONTROLE NAS ANASTOMOSES COLÔNICAS PELO DIA DE EUTANÁSIA.

| | EUTANÁSIA | | | | | |
|-------------------|--------------|-------------------|--------------|--------------------|--------------|--------------------|
| | 3ºDPO | | 7ºDPO | | 14ºDPO | |
| | p=0,006* | | p=0,346 | | p=0,074 | |
| | SMT (N=9) | Controle (N=9) | SMT (N=8) | Controle (N=10) | SMT (N=8) | Controle (N=10) |
| Ausente (0) | 2 | 9 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| Leve (+) | 7 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 |
| Moderada (++) | 0 | 0 | 1 | 4 | 5 | 3 |
| Marcante (+++) | 0 | 0 | 7 | 6 | 2 | 6 |
| Intensa (++++) | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 |

NOTAS: Dia de pós-operatório (DPO)

Valor-p (p)

S-metilisotouréia (SMT)

P<0,05(*)

TABELA 7 – AVALIAÇÃO DA VARIÁVEL HISTOLÓGICA “GRANULAÇÃO” COM SUA CLASSIFICAÇÃO E DISTRIBUIÇÃO ENTRE OS GRUPOS DE ESTUDO E CONTROLE NAS ANASTOMOSES COLÔNICAS PELO DIA DE EUTANÁSIA.

| | EUTANÁSIA | | | | | |
|-------------------|--------------|-------------------|--------------|--------------------|--------------|--------------------|
| | 3ºDPO | | 7ºDPO | | 14ºDPO | |
| | p=0,002* | | p=0,822 | | p=0,502 | |
| | SMT (N=9) | Controle (N=9) | SMT (N=8) | Controle (N=10) | SMT (N=8) | Controle (N=10) |
| Ausente (0) | 1 | 9 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| Leve (+) | 5 | 0 | 0 | 0 | 0 | 2 |
| Moderada (++) | 3 | 0 | 1 | 2 | 6 | 6 |
| Marcante (+++) | 0 | 0 | 7 | 8 | 2 | 2 |
| Intensa (++++) | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |

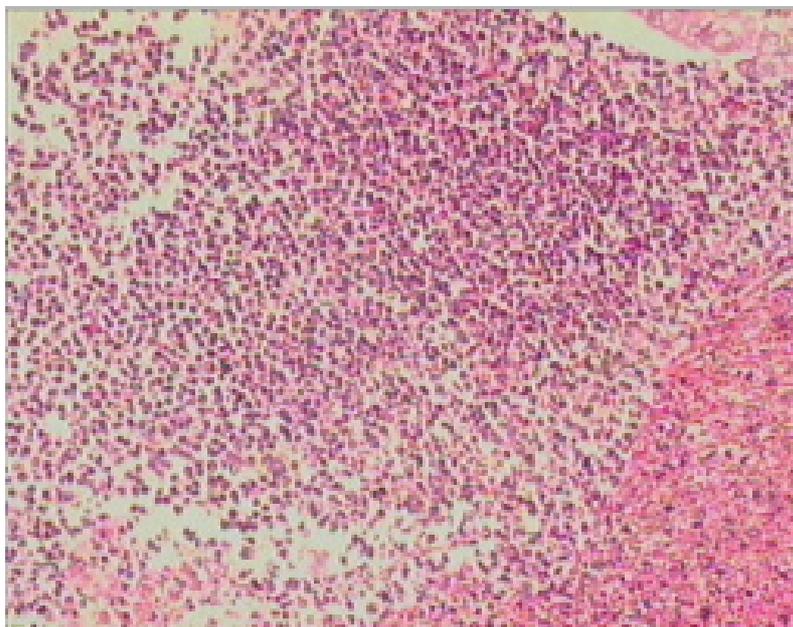
NOTAS: Dia de pós-operatório (DPO)

Valor-p (p)

S-metilisotouréia (SMT)

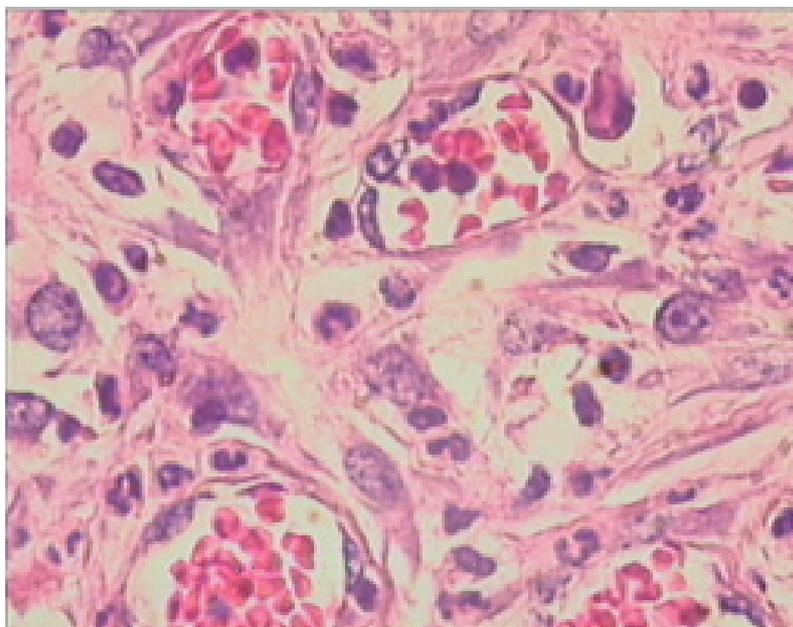
P<0,05(*)

FIGURA 11 – INFILTRADO POLIMORFONUCLEAR NA ÁREA DA ANASTOMOSE EM ANIMAL DO CRUPO CONTROLE.



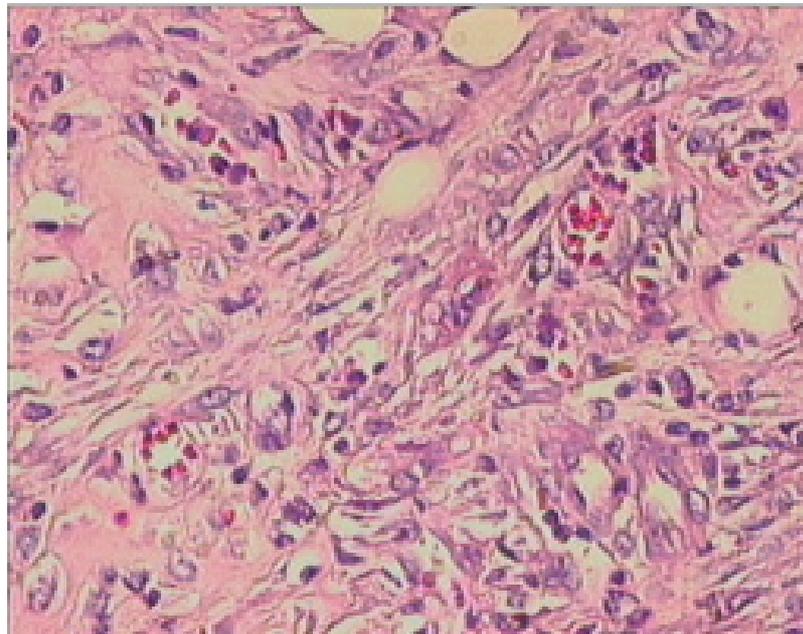
NOTA: Coloração hematoxilina e eosina (HE) com aumento de 125x.

FIGURA 12 – NEOFORMAÇÃO VASCULAR NA ÁREA DA ANASTOMOSE EM ANIMAL DO GRUPO ESTUDO.



NOTA: Coloração HE com aumento de 625x.

FIGURA 13 – TECIDO DE GRANULAÇÃO NA ÁREA DA ANASTOMOSE EM ANIMAL DO GRUPO ESTUDO.



NOTA: Coloração HE com aumento de 400x.

Houve também a presença de maior edema no subgrupo S14 em relação ao C14, com significância estatística ($p=0,008$), o que não se observou no 3° e no 7° DPO (figura 14).

Para as variáveis congestão, hemorragia focal, ulceração, necrose, infiltrado mononuclear e fibrose, nas diversas datas de eutanásia, a comparação não mostrou diferença com significância estatística.

TABELA 8 – AVALIAÇÃO DA VARIÁVEL HISTOLÓGICA “EDEMA” COM SUA CLASSIFICAÇÃO E DISTRIBUIÇÃO ENTRE OS GRUPOS DE ESTUDO E CONTROLE NAS ANASTOMOSES COLÔNICAS PELO DIA DE EUTANÁSIA.

| | | EUTANÁSIA | | | | | |
|-------|-------------------|--------------|-------------------|--------------|--------------------|--------------|--------------------|
| | | 3°DPO | | 7°DPO | | 14°DPO | |
| | | p=0,329 | | p=0,928 | | p=0,008* | |
| | | SMT (N=9) | Controle (N=9) | SMT (N=8) | Controle (N=10) | SMT (N=8) | Controle (N=10) |
| EDEMA | Ausente (0) | 0 | 0 | 0 | 0 | 2 | 10 |
| | Leve (+) | 0 | 1 | 6 | 7 | 5 | 0 |
| | Moderada (++) | 2 | 3 | 1 | 2 | 1 | 0 |
| | Marcante (+++) | 5 | 4 | 1 | 1 | 0 | 0 |
| | Intensa (++++) | 2 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 |

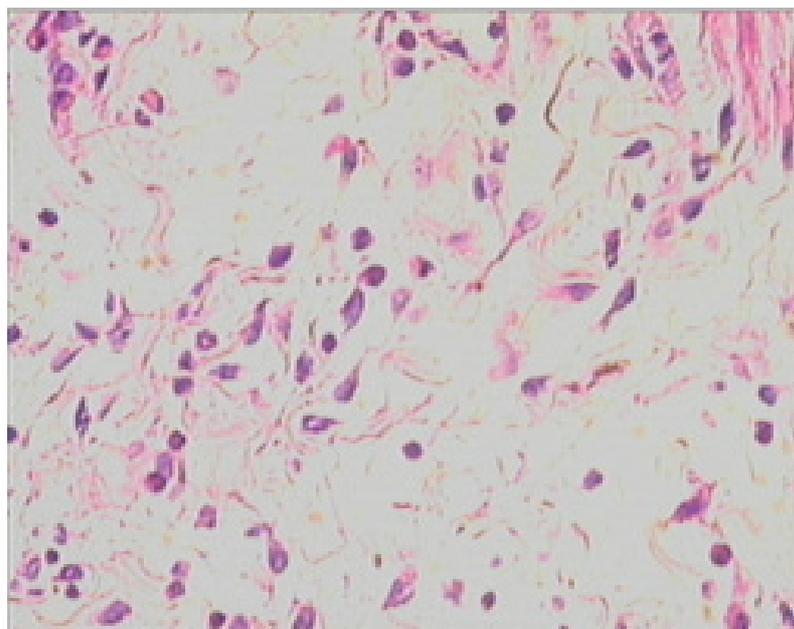
NOTAS: Dia de pós-operatório (DPO)

Valor-p (p)

S-metilisotioréia (SMT)

P<0,05(*)

FIGURA 14 – EDEMA NA ÁREA DE ANASTOMOSE EM ANIMAL DO GRUPO ESTUDO.



NOTA: Coloração HE com aumento de 250x.

DISCUSSÃO

4 DISCUSSÃO

O animal escolhido para o presente estudo foi o rato (*Rattus norvegicus*), já que este animal tem sido utilizado em diversos estudos com bons resultados na avaliação da cicatrização das anastomoses intestinais (Cronin, Jackson e Dunphy, 1968a; Cronin, Jackson e Dunphy, 1968b; Jiborn, Ahonen e Zederfeldt, 1978a; Jiborn, Ahonen e Zederfeldt, 1978b; Hogstrom e Haglund, 1985; Oliveira, 1989; Oliveira, 1995; Sirimarco, 2000; Reys, 2005).

Além das vantagens no que tange à facilidade de obtenção dos mesmos, de manutenção no alojamento de animais, custo de aquisição, padronização em termos de raça, peso e gênero e de sua resistência às infecções bacterianas, o que torna o animal eletivo para tais pesquisas (Sirimarco, 2000).

O local da secção intestinal a 2,5 cm da reflexão peritoneal com anastomose a este segmento foi escolhido baseado na sua realização em estudos prévios com bons resultados e padronização (Oliveira, 1989; Oliveira, 1995; Reys, 2005; Queiroz, 2005). Além do fato de que o mecanismo da cicatrização pode mudar ao longo do trato digestivo do animal (Sirimarco, 2000).

A sutura contínua em plano único e com fio de polipropileno monofilamentar 6-0, tem sido utilizada em estudos de anastomoses colônicas com bons resultados, segurança e baixos índices de complicação, além de ser de mais fácil confecção que a sutura em pontos separados (Cronin, Jackson e Dunphy, 1968a; Cronin, Jackson e Dunphy, 1968b; Sirimarco, 2000; Reys, 2005).

A SMT foi eleita para ser utilizada como inibidor da enzima ONSi por ser droga com extensa literatura a seu respeito nesta linha de pesquisa, inclusive no cólon, assim como pelo fato de ser droga considerada como uma das mais seletivas para a ONSi (Adawi et al., 1996; Aranow et al., 1996; Arkovitz et al., 1996; Angele et al., 1998; Bing e Suzuki, 1996; Chan et al., 2002; Cronin, Jackson e Dunphy, 1968a; Cronin, Jackson e Dunphy, 1968b; Tani et al., 1990; Szabó, Southan e Thiemermann, 1994; Mitani, Maruyama e Sakurai, 1997;

Shindoh et al., 1998; Haberstroh et al., 1998; Takahashi et al., 2001; Xu et al., 2001; Thomas et al., 2001; Iravani et al., 2002).

Existem várias vias de administração para a SMT, intraperitoneal (i.p.), intravenosa (i.v.), oral, intra-dérmica e subcutânea. Todas as vias de administração foram consideradas, porém a escolha da via intraperitoneal foi feita devido ao fato de ser a via mais utilizada na literatura, com as dosagens bem determinadas, inclusive a que foi adotada em nosso estudo, e pela facilidade de aplicação, já que a via intravenosa não é possível, pois no rato não temos disponível bomba de infusão, e sem esta não há como se administrar a medicação por punção venosa nos intervalos e pelo período proposto. Em relação à via oral, o controle da quantidade de droga que cada animal receberá diariamente não será tão rigoroso quanto ao administrado por via i.p., no caso de a droga estar misturada à água. Quanto à via subcutânea, só encontramos um trabalho utilizando essa via e tivemos receio da biodisponibilidade da droga ser diversa à da via i.p., que é consagrada. Pelos motivos expostos, escolhemos a via intraperitoneal para a administração da SMT (Aranow et al., 1996; Arkovitz et al., 1996; Handy, Wallace e Moore 1996; Bazzani, Bertolini, Guarini 1997; Iuvone et al., 1997; Chen et al., 1998; Iuvone et al., 1998; Bazzani et al., 1999; Chen et al., 1999; Cochran et al., 1999; Chen et al., 2001; Chen et al., 2003; Chen et al., 2004; Basaran et al., 2005; Chen et al., 2005; Sartorio et al., 2005).

Existem diversos estudos com a SMT em doses que variam de 3 mg/Kg/dia a 200 mg/Kg/dia, em injeções por via i.p. de 12/12h ou em bomba de infusão contínua como é o caso do trabalho que usou a dosagem maior (Aranow et al., 1996; Arkovitz et al., 1996; Chen et al., 1998; Chen et al., 1999; Efron et al., 1999; Chen et al., 2001; Xu, Cubeddu e Malave, 2001; Chan et al., 2002; Hallemeesch et al., 2002; Iravani et al., 2002; Tejero-Taldo et al., 2002; Chen et al., 2003).

Arkovitz et al. em 1996 realizaram estudo no qual a SMT foi administrada por via intraperitoneal na vigência de processo inflamatório peritoneal, sem fazer menção à possível aumento da dor e do estresse dos animais (Arkovitz et al., 1996).

Chen e cols em 1998 usaram injeções de SMT i.p. em alguns casos de 12/12h, em modelo de ratos com queimadura de 35% da superfície corporal.

Em outro trabalho realizado por Furuta et al. em 2004, a SMT foi administrada por via i.p. em animais submetidos a procedimento cirúrgico com cauterização da artéria epigástrica na parede abdominal.

O tempo de administração da SMT foi de 72 horas devido ao fato de que a ONSi encontra-se mais ativa nos primeiros dias após o trauma cirúrgico tendo o seu pico nas primeiras 24 horas e ficando ainda ativa por até 14 dias (Lee et al., 2001).

Mastboom et al. em 1991 relatou que a perda de peso que ocorre no pós-operatório é recuperada ao se alcançar o sétimo dia. No presente estudo, o peso inicial só foi alcançado no 14º DPO.

No período pós-operatório ocorreu perda de peso nos grupos estudo e controle, sem diferença estatisticamente significativa no terceiro, sétimo ou décimo quarto dia de pós-operatório, o que é condizente com a literatura onde se observa a perda de peso inicialmente, sendo recuperado em seguida atingindo os níveis iniciais com o decorrer da pesquisa, e que tal perda deve estar relacionada ao estresse cirúrgico (Herrmann et al., 1964; Sirimarco, 2000; Reys, 2005).

Estudos prévios de cicatrização de anastomoses intestinais em ratos têm mostrado taxas de mortalidade que variam de 0 a 11,4%, por diversos motivos, desde os efeitos diretos das drogas utilizadas até a deiscência da anastomose, a peritonite e as intercorrências anestésicas (Mastboom et al., 1991; Phillips et al., 1992; Cali et al., 1993; Kim et al., 1993; Furst et al., 1994; Oliveira et al., 1994; Del Rio, Beck e Opelka, 1996; Eubanks et al., 1997; Houston e Hotstein, 1998; Sirimarco, Zucoloto e Aprilli, 1999; Sirimarco, 2000; Queiroz, 2005). A taxa de mortalidade no presente estudo foi de 10%.

Os óbitos ocorridos no pós-operatório não foram associados ao procedimento realizado no cólon, pois não foram evidenciados sinais de sangramento intra-abdominal ou torácico, assim como sinais de deiscência ou peritonite, tais óbitos provavelmente ocorreram devido a intercorrências anestésicas, sendo assim os animais mortos foram excluídos do estudo e não foram repostos.

A cicatrização de uma ferida, seja cutânea ou colônica, obedece a sucessão de fases distintas, porém que se entrelaçam em alguns momentos (Oliveira, 1989).

A cicatrização inicia-se pela fase inflamatória que é dada pela formação do coágulo de fibrina que oclui o ferimento. Nessa fase ocorre a migração de neutrófilos, que através da liberação de enzimas como a colagenase, ocorre a limpeza do ferimento com a retirada de microorganismos. Também nessa fase existe liberação de substâncias pelos macrófagos, incluindo o ON (Oliveira, 1989; Sousa, 1989).

A segunda fase, que é a de granulação, é caracterizada pelo estímulo à migração dos fibroblastos para o ambiente da ferida, para que proliferem e produzam os constituintes da matriz. Nesta fase inicia-se a neoformação vascular e tecido conectivo solto é depositado na ferida (Oliveira, 1989; Sousa, 1989).

A terceira fase se caracteriza pela síntese e remodelação de colágeno através das colagenases secretadas no ambiente da ferida (Oliveira, 1989).

A formação de feixes de fibras de colágeno, o entrecruzamento delas, a degradação e a remodelação estrutural conferem o aumento da resistência tênsil que ocorre na ferida e gradativamente a cicatriz formada assume a responsabilidade pela manutenção da tensão no ferimento superando a importância do material de sutura (Queiroz, 2005).

No presente estudo a resistência tênsil da anastomose foi avaliada pelo Versa Teste, este método tem sido utilizado na literatura vigente e em diversos estudos em nosso meio (Reys, 2005; Queiroz, 2005).

Os resultados obtidos força de ruptura da anastomose não evidenciaram diferenças estatisticamente significantes entre os dois grupos, o SMT e o controle, quando comparados no terceiro, sétimo e décimo quarto dia de pós-operatório. Existe sim o ganho de resistência tênsil dentro dos dois grupos quando o pós-operatório avança, o que é condizente com outros estudos de anastomoses colônicas em ratos. O fato de não ter havido diferença estatisticamente significativa no terceiro dia provavelmente tenha se dado pelo

fato de que neste período a região operada se mantém unida pela ação do material de sutura (Sirimarco, 2000; Reys, 2005; Queiroz, 2005).

A análise histopatológica foi realizada sob microscopia óptica por examinador que desconhecia a qual grupo ou subgrupo pertencia o material examinado, e os dados foram submetidos à análise estatística, obtendo-se assim importante critério para a avaliação da evolução cicatricial (Sousa et al., 1991; Oliveira et al., 1994; Sirimarco 2000).

No presente estudo foram utilizados como parâmetros na avaliação histológica a congestão, edema, hemorragia focal, ulceração, necrose, infiltrado mononuclear, infiltrado polimorfonuclear, neoformação vascular, granulação e fibrose. Tais parâmetros têm sido utilizados na avaliação da cicatrização de anastomose colônicas (Sousa, 1989; Reys, 2005; Queiroz, 2005).

A biossíntese de nitrito e nitrato representa uma via não usual de oxidação em mamíferos (Marletta et al., 1988). Na caracterização inicial desta reação foi demonstrada que a via é expressa pela imunoestimulação de macrófagos pelo lipopolissacarídeo de *E. coli* exógeno (Stuehr e Marletta, 1985) e pela linfocina endógena interferon N-gama (IFN- γ) (Stuehr e Marletta, 1987a).

Posteriormente houve a caracterização em cultura de células onde o precursor para nitrito e nitrato era o aminoácido L-arginina (Stuehr e Marletta, 1987b).

Em seguida muitos outros estudos demonstraram que o nitrito e o nitrato seriam os metabólitos estáveis do consumo de L-arginina e da produção de ON, sendo a sua dosagem plasmática ou urinária, a expressão da produção do ON (Marletta et al., 1988; Higuchi e Motomizu, 1999; Schulz et al., 2002; Murray, Bullimore e Long, 2003; Scuteri et al., 2003; Valenti et al. 2003a; Valenti, Fazzuoli e Giusti, 2003b; Carini et al., 2004; Kato et al., 2004; Khattab et al., 2004; Wu, Wilson e Tymi, 2004; Cakir et al., 2005; Chida et al., 2005; El Kebir, 2005; Rytlewski et al., 2005; Sousa et al, 2005; Valenti et al., 2005).

No presente estudo a dosagem de nitrito/nitrato no plasma não mostrou diferença estatisticamente significativa entre os dois grupos no terceiro, sétimo ou décimo - quarto dias de pós-operatório, ou entre si.

O esperado seria que houvesse uma dosagem maior no terceiro dia e que ela decaísse com o passar do tempo, e que no grupo que recebeu a droga inibidora da ONSi a dosagem do NOx também fosse menor que no grupo controle.

Dos fatores citados houve significância estatística para a maior presença de neoformação vascular e granulação no grupo SMT e maior necrose no grupo controle no 3° dia, e maior edema no grupo SMT no 14° dia, baseado no que se pode inferir que a inibição da ONSi pela SMT foi favorável a melhor cicatrização.

CONCLUSÃO

Nas condições em que este estudo foi realizado, o uso do hemissulfato de S-metilisotiouréia influenciou a cicatrização de anastomoses colônicas em ratos acelerando o processo cicatricial no 3º DPO, por ter elementos da fase proliferativa da cicatrização no grupo estudo.

Não há interferência do SMT sobre a perda de peso, a avaliação da cavidade abdominal, a força tênsil e a concentração de nitrito/nitrato no soro.

GLOSSÁRIO

DPO - Dia de Pós-operatório

ON - Óxido Nítrico

ONS - Enzima Óxido Nítrico Sintase

ONSe - Enzima Óxido Nítrico Sintase Endotelial

ONSi - Enzima Óxido Nítrico Sintase Induzível

ONSn - Enzima Óxido Nítrico Sintase Neuronal

SMT - Hemissulfato de S-metilisotiouréia

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ADAWI, D.; KASRAVI, F. B.; MOLIN, G.; EPPSSON, B. Oral arginine supplementation in acute liver injury. **Nutrition**, v. 12, n. 7-8, p. 529-533, 1996.
2. AHRENDT, G. M.; GARDNER, K.; BARBUL, A. Loss of colonic structural collagen impairs healing during intra-abdominal sepsis. **Archives of Surgery**, v. 129, n. 11, p. 1179-1183, 1994.
3. AHRENDT, G. M.; TANTRY, U. S.; BARBUL, A. Intra-Abdominal Sepsis Impairs Colonic Reparative Collagen Synthesis. **The American Journal of Surgery**, v. 171, n. 1, p. 102-108, 1996.
4. AKIYAMA, K.; SUZUKI, H.; GRANT, P.; BING, R. J. Oxidation products of nitric oxide, NO₂ and NO₃, in plasma after experimental myocardial infarction. **J.Mol.Cell Cardiol.**, v. 29, n. 1, p. 1-9, 1997.
5. ALBINA, J. E.; MILLS, C. D.; HENRY, W. L., Jr.; CALDWELL, M. D. Temporal expression of different pathways of L-arginine metabolism in healing wounds. **J.Immunol.**, v. 144, n. 10, p. 3877-3880, 1990.
6. ALBINA, J. E.; ABATE, J. A.; MASTROFRANCESCO, B. Role of Ornithine as a Proline Precursor in Healing Wounds. **Journal of Surgical Research**, v. 55, n. 1, p. 97-102, 1993.
7. ANGELE, M. K.; SMAIL, N.; WANG, P.; CIOFFI, W. G.; BLAND, K. I.; CHAUDRY, I. H. L-arginine restores the depressed cardiac output and regional perfusion after trauma-hemorrhage. **Surgery**, v. 124, n. 2, p. 394-401, 1998.
8. ARANOW, J. S.; ZHUANG, J.; WANG, H.; LARKIN, V.; SMITH, M.; FINK, M. P. A selective inhibitor of inducible nitric oxide synthase prolongs survival in a rat model of bacterial peritonitis: comparison with two nonselective strategies. **Shock**, v. 5, n. 2, p. 116-121, 1996.
9. ARKOVITZ, M. S.; WISPE, J. R.; GARCIA, V. F.; SZABO, C. Selective inhibition of the inducible isoform of nitric oxide synthase prevents pulmonary transvascular flux during acute endotoxemia. **J.Pediatr.Surg.**, v. 31, n. 8, p. 1009-1015, 1996.
10. BASARAN, U. N.; ESKIOCAK, S.; ALTANER, S.; TURE, M.; YAPAR, S. B. Inhibition of iNOS with S-methylisothiourea was impaired in wound healing in caustic esophageal burn. **Int.J.Pediatr.Otorhinolaryngol.**, v. 69, n. 4, p. 471-477, 2005.

11. BAZZANI, C.; BERTOLINI, A.; GUARINI, S. Inhibition of nitric oxide synthases enhances the effect of ACTH in hemorrhagic shock. **Life Sci.**, v. 61, n. 19, p. 1889-1897, 1997.
12. BAZZANI, C.; BINI, A.; CAINAZZO, M. M.; MELETTI, E.; TOMASI, A.; BERTOLINI, A. et al. High blood levels of nitric oxide in rats subjected to prolonged respiratory arrest and their modulation during adrenocorticotropin-induced resuscitation. **Naunyn Schmiedebergs Arch.Pharmacol.**, v. 359, n. 1, p. 53-59, 1999.
13. BING, R. J.; SUZUKI, H. Myocardial infarction and nitric oxide. **Mol.Cell Biochem.**, v. 160-161, p. 303-306, 1996.
14. ÇAKIR, E.; ÖZCAN, O.; YAMAN, H.; AKGÜL, E. Ö.; BILGI, C.; ERBİL, M. K. et al. Elevated plasma concentration of asymmetric dimethylarginine that is reduced by single dose testosterone administration in idiopathic hypogonadotropic hypogonadism patients. **J.Clin.Endocrinol.Metab**, v. 90, n. 3, p. 1651-1654, 2005.
15. CALDWELL, M. D.; MASTROFRANCESCO, B.; SHEARER, J.; BEREITER, D. The temporal change in amino acid concentration within wound fluid--a putative rationale. **Prog.Clin.Biol.Res.**, v. 365, p. 205-222, 1991.
16. CALI, R. L.; SMYRK, T. C.; BLATCHFORD, G. J.; THORSON, A. G.; CHRISTENSEN, M. A. Effect of prostaglandin E1 and steroid on healing colonic anastomoses. **Dis.Colon Rectum**, v. 36, n. 12, p. 1148-1151, 1993.
17. CARINI, M.; ALDINI, G.; ORIOLI, M.; PICCOLI, A.; ROSSONI, G.; MAFFEI, F. R. Nitric oxide release and distribution following oral and intraperitoneal administration of nitroaspirin (NCX 4016) in the rat. **Life Sci**, v. 74, n. 26, p. 3291-3305, 2004.
18. CARTNEY-FRANCIS, N.; ALLEN, J. B.; MIZEL, D. E.; ALBINA, J. E.; XIE, Q. W.; NATHAN, C. F. et al. Suppression of arthritis by an inhibitor of nitric oxide synthase. **J.Exp.Med.**, v. 178, n. 2, p. 749-754, 1993.
19. CASTIGLIONI, A. **História da Medicina (Storia della medicina)**. Trad. R. Lacete. São Paulo: Nacional, 1947.
20. CHAKRABORTY, P. D.; BHATTACHARYYA, D.; PAL, S.; ALI, N. In vitro induction of nitric oxide by mouse peritoneal macrophages treated with

human placental extract. **Int.Immunopharmacol.**, v. 6, n. 1, p. 100-107, 2006.

21. CHAN, S. H.; WANG, L. L.; OU, C. C.; CHAN, J. Y. Contribution of peroxynitrite to fatal cardiovascular depression induced by overproduction of nitric oxide in rostral ventrolateral medulla of the rat. **Neuropharmacology**, v. 43, n. 5, p. 889-898, 2002.
22. CHEN, L. W.; HSU, C. M.; WANG, J. S.; CHEN, J. S.; CHEN, S. C. Specific inhibition of iNOS decreases the intestinal mucosal peroxynitrite level and improves the barrier function after thermal injury. **Burns**, v. 24, n. 8, p. 699-705, 1998.
23. CHEN, L. W.; HSU, C. M.; CHA, M. C.; CHEN, J. S.; CHEN, S. C. Changes in gut mucosal nitric oxide synthase (NOS) activity after thermal injury and its relation with barrier failure. **Shock**, v. 11, n. 2, p. 104-110, 1999.
24. CHEN, L. W.; HSU, C. M.; WANG, J. S.; CHEN, H. L.; CHEN, J. S. Inhibition of inducible nitric oxide synthase (iNOS) prevents lung neutrophil deposition and damage in burned rats. **Shock**, v. 15, n. 2, p. 151-156, 2001.
25. CHEN, L. W.; WANG, J. S.; HWANG, B.; CHEN, J. S.; HSU, C. M. Reversal of the effect of albumin on gut barrier function in burn by the inhibition of inducible isoform of nitric oxide synthase. **Arch.Surg.**, v. 138, n. 11, p. 1219-1225, 2003.
26. CHEN, L. W.; HWANG, B.; CHANG, W. J.; WANG, J. S.; CHEN, J. S.; HSU, C. M. Inducible nitric oxide synthase inhibitor reverses exacerbating effects of hypertonic saline on lung injury in burn. **Shock**, v. 22, n. 5, p. 472-477, 2004.
27. CHEN, L. W.; HWANG, Y. C.; WANG, J. S.; CHEN, J. S.; HSU, C. M. Inhibition of nitric oxide synthase reverses the effect of albumin on lung damage in burn. **J.Am.Coll.Surg**, v. 200, n. 4, p. 574-583, 2005.
28. CHIDA, N.; HIRASAWA, Y.; OHKAWA, T.; ISHII, Y.; SUDO, Y.; TAMURA, K. et al. Pharmacological profile of FR260330, a novel orally active inducible nitric oxide synthase inhibitor. **Eur.J.Pharmacol.**, v. 509, n. 1, p. 71-76, 2005.
29. COCHRAN, J. B.; GENOVESE, F.; OGURA, S.; TETI, G.; COOK, J. A. Effect of nitric oxide donors and nitric oxide synthase inhibitors in

- neonatal rat endotoxic shock. **Biochem.Pharmacol.**, v. 58, n. 4, p. 687-691, 1999.
30. CORBETT, J. A.; TILTON, R. G.; CHANG, K.; HASAN, K. S.; IDO, Y.; WANG, J. L. et al. Aminoguanidine, a novel inhibitor of nitric oxide formation, prevents diabetic vascular dysfunction. **Diabetes**, v. 41, n. 4, p. 552-556, 1992.
 31. CRONIN, K.; JACKSON, D. S.; DUNPHY, J. E. Changing bursting strength and collagen content of the healing colon. **Surg.Gynecol.Obstet.**, v. 126, n. 4, p. 747-753, 1968a.
 32. CRONIN, K., JACKSON, D. S.; DUNPHY, J. E. **Specific activity of hydroxyproline-titrium in healing colon.** 1968b.
 33. DAWSON, T. M.; DAWSON, V. L.; SNYDER, S. H. A novel neuronal messenger molecule in brain: the free radical, nitric oxide. **Ann.Neurol.**, v. 32, n. 3, p. 297-311, 1992.
 34. DEL RIO, J. V.; BECK, D. E.; OPELKA, F. G. Chronic perioperative steroids and colonic anastomotic healing in rats. **J.Surg Res.**, v. 66, n. 2, p. 138-142, 1996.
 35. EFRON, D. T.; THORNTON, F. J.; STEULTEN, C.; TANTRY, U. S.; WITTE, M. B.; KIYAMA, T. et al. Expression and function of inducible nitric oxide synthase during rat colon anastomotic healing*1, *2. **Journal of Gastrointestinal Surgery**, v. 3, n. 6, p. 592-601, 1999.
 36. EL KEBIR, D.; TAHA, R.; HUBERT, B.; GAUVIN, D.; GANGAL, M.; BLAISE, G. The anti-inflammatory effect of inhaled nitric oxide on pulmonary inflammation in a swine model. **Can.J.Physiol Pharmacol.**, v. 83, n. 3, p. 252-258, 2005.
 37. EUBANKS, T. R.; GREENBERG, J. J.; DOBRIN, P. B.; HARFORD, F. J.; GAMELLI, R. L. The effects of different corticosteroids on the healing colon anastomosis and cecum in a rat model. **Am.Surg**, v. 63, n. 3, p. 266-269, 1997.
 38. FRANK, S.; MADLENER, M.; PFEILSCHIFTER, J.; WERNER, S. Induction of Inducible Nitric Oxide Synthase and its Corresponding Tetrahydrobiopterin-Cofactor-Synthesizing Enzyme GTP-Cyclohydrolase I During Cutaneous Wound Repair. **Journal of Investigative Dermatology**, v. 111, n. 6, p. 1058-1064, 1998.

39. FURST, M. B.; STROMBERG, B. V.; BLATCHFORD, G. J.; CHRISTENSEN, M. A.; THORSON, A. G. Colonic anastomoses: bursting strength after corticosteroid treatment. **Dis.Colon Rectum**, v. 37, n. 1, p. 12-15, 1994.
40. FURUTA, S.; VADIVELLO, P.; ROMEO-MEEUW, R.; MORRISON, W.; STEWART, A.; MITCHELL, G. Early inducible nitric oxide synthase 2 (NOS 2) activity enhances ischaemic skin flap survival. **Angiogenesis**, v. 7, n. 1, p. 33-43, 2004.
41. HABERSTROH, U.; STILO, K.; POCOCK, J.; WOLF, G.; HELMCHEN, U.; WENZEL, U. et al. L-arginine suppresses lipopolysaccharide-induced expression of RANTES in glomeruli. **J.Am.Soc.Nephrol.**, v. 9, n. 2, p. 203-210, 1998.
42. HANDY, R. L.; WALLACE, P.; MOORE, P. K. Inhibition of nitric oxide synthase by isothioureas: cardiovascular and antinociceptive effects. **Pharmacol.Biochem.Behav.**, v. 55, n. 2, p. 179-184, 1996.
43. HALLEMEESCH, M. M.; COBBEN, D. C.; SOETERS, P. B.; DEUTZ, N. E. Differential effects of selective and non-selective NOS inhibition on renal arginine and protein metabolism during endotoxemia in rats. **Clin.Nutr.**, v. 21, n. 2, p. 111-117, 2002.
44. HAWLEY, P. R. Collagenase activity and colonic anastomotic breakdown. **Br.J.Surg.**, v. 57, n. 5, p. 388-1970.
45. HERRMANN, J. B.; WOODWARD, S. C.; PULASKI, E. J. HEALING OF COLONIC ANASTOMOSES IN THE RAT. **Surg Gynecol Obstet**, v. 119, p. 269-275, 1964.
46. HESP, F. L.; HENDRIKS, T.; LUBBERS, E. J.; DEBOER, H. H. Wound healing in the intestinal wall. A comparison between experimental ileal and colonic anastomoses. **Dis.Colon Rectum**, v. 27, n. 2, p. 99-104, 1984.
47. HIGUCHI, K.; MOTOMIZU, S. **Flow-injection spectrophotometric determination of nitrite and nitrate in biological samples.** *Anal Sci* v15, p129-134, 1999.
48. HOGSTROM, H.; HAGLUND, U. Postoperative decrease in suture holding capacity in laparotomy wounds and anastomoses. **Acta Chir Scand.**, v. 151, n. 6, p. 533-535, 1985.

49. HOLLENBERG, S. M.; EASINGTON, C. R.; OSMAN, J.; BROUSSARD, M.; PARRILLO, J. E. Effects of nitric oxide synthase inhibition on microvascular reactivity in septic mice. **Shock**, v. 12, n. 4, p. 262-267, 1999.
50. HOUSTON, K. A.; ROTSTEIN, O. D. Fibrin sealant in high-risk colonic anastomoses. **Arch.Surg**, v. 123, n. 2, p. 230-234, 1988.
51. HSU, C. M.; LIU, C. H.; CHEN, L. W. Nitric oxide synthase inhibitor ameliorates oral total parenteral nutrition-induced barrier dysfunction. **Shock**, v. 13, n. 2, p. 135-139, 2000.
52. HUNT, T. K.; HAWLEY, P. R. Surgical judgment and colonic anastomoses. **Dis.Colon Rectum**, v. 12, n. 3, p. 167-171, 1969.
53. IPARDES - INSTITUTO PARANAENSE DE DESENVOLVIMENTO EVONÔMICO E SOCIAL. **Normas para a Apresentação de Documentos Científicos**. Curitiba: Editora UFPR, 2002.
54. IRAVANI, M. M.; KASHEFI, K.; MANDER, P.; ROSE, S.; JENNER, P. Involvement of inducible nitric oxide synthase in inflammation-induced dopaminergic neurodegeneration. **Neuroscience**, v. 110, n. 1, p. 49-58, 2002.
55. IRVIN, T. T.; HUNT, T. K. Pathogenesis and prevention of disruption of colonic anastomoses in traumatized rats. **Br.J.Surg.**, v. 61, n. 6, p. 437-439, 1974.
56. IUUVONE, T.; VAN, O. N.; D'ACQUISTO, F.; CARNUCCIO, R.; HERMAN, A. G. Differential effect of L-NAME and S-methyl-isothiourea on leukocyte emigration in carrageenin-soaked sponge implants in rat. **Br.J.Pharmacol.**, v. 121, n. 8, p. 1637-1644, 1997.
57. IUUVONE, T.; D'ACQUISTO, F.; VAN, O. N.; DI, R. M.; CARNUCCIO, R.; HERMAN, A. G. Evidence that inducible nitric oxide synthase is involved in LPS-induced plasma leakage in rat skin through the activation of nuclear factor-kappaB. **Br.J.Pharmacol.**, v. 123, n. 7, p. 1325-1330, 1998.
58. JIBORN, H.; AHONEN, J.; ZEDERFELDT, B. Healing of experimental colonic anastomosis. I. Bursting strength of the colon after left colon resection anastomosis. **Am.J.Surg.**, v. 136, p. 587-594, 1978a.

59. 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.**, p. 595-599, 1978b.
60. JONSSON, K.; JIBORN, H.; ZEDERFELDT, B. Comparison of healing in the left colon and ileum. Changes in collagen content and collagen synthesis in the intestinal wall after ileal and colonic anastomoses in the rat. **Acta Chir Scand.**, v. 151, n. 6, p. 537-541, 1985.
61. KATO, Y.; KIJIMA, Y.; KITAKAZE, M.; MINAMINO, T.; MATSU-URA, Y.; HASHIMURA, K. et al. Roles of systemic nitric oxide metabolites for human coronary circulation. **Cardiovasc. Drugs Ther.**, v. 18, n. 3, p. 189-195, 2004.
62. KHATTAB, M. M.; EL-HADIYAH, T. M.; AL-SHABANAH, O. A.; RAZA, M. Modification by L-NAME of codeine induced analgesia: possible role of nitric oxide. **Receptors.Channels**, v. 10, n. 5-6, p. 139-145, 2004.
63. KIM, C. S.; BUCHMILLER, T. L.; FONKALSRUD, E. W.; PHILLIPS, J. D. The effect of anabolic steroids on ameliorating the adverse effects of chronic corticosteroids on intestinal anastomotic healing in rabbits. **Surg Gynecol Obstet**, v. 176, n. 1, p. 73-79, 1993.
64. KIYAMA, T.; ONDA, M.; TOKUNAGA, A.; YOSHIYUKI, T.; BARBUL, A. Effect of early postoperative feeding on the healing of colonic anastomoses in the presence of intra-abdominal sepsis in rats. **Dis.Colon Rectum**, v. 43, n. 10 Suppl, p. S54-S58, 2000.
65. KNOWLES, R. G.; MONCADA, S. Nitric oxide synthases in mammals. **Biochem.J.**, v. 298 (Pt 2), p. 249-258, 1994.
66. KOPROWSKI, H.; ZHENG, Y. M.; HEBER-KATZ, E.; FRASER, N.; RORKE, L.; FU, Z. F. et al. In vivo expression of inducible nitric oxide synthase in experimentally induced neurologic diseases. **Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A**, v. 90, n. 7, p. 3024-3027, 1993.
67. KOSHLAND, D. E., Jr. Molecule of the year. **Science**, v. 262, n. 5142, p. 1953-1993.
68. LANGREHR, J. M.; HOFFMAN, R. A.; LANCASTER, J. R., Jr.; SIMMONS, R. L. Nitric oxide--a new endogenous immunomodulator. **Transplantation**, v. 55, n. 6, p. 1205-1212, 1993.

69. LEE, R. H.; EFRON, D.; TANTRY, U.; BARBUL, A. Nitric Oxide in the Healing Wound: A Time-Course Study*1, *2. **Journal of Surgical Research**, v. 101, n. 1, p. 104-108, 2001.
70. LIU, D.; CHEN, D.; QIU, H. [Effects of selective nitric oxide synthase inhibitor in sheep with endotoxic shock]. **Zhonghua Yi.Xue.Za Zhi.**, v. 76, n. 11, p. 813-817, 1996.
71. LUSTOSA, S. A.; MATOS, D.; ATALLAH, A. N.; CASTRO, A. A. Stapled versus handsewn methods for colorectal anastomosis surgery: a systematic review of randomized controlled trials. **Sao Paulo Med.J.**, v. 120, n. 5, p. 132-136, 2002.
72. MARLETTA, M. A.; YOON, P. S.; IYENGAR, R.; LEAF, C. D.; WISHNOK, J. S. Macrophage oxidation of L-arginine to nitrite and nitrate: nitric oxide is an intermediate. **Biochemistry**, v. 27, n. 24, p. 8706-8711, 1988.
73. MARTINEAU, L.; SHEK, P. N. Peritoneal cytokine concentrations and survival outcome in an experimental bacterial infusion model of peritonitis. **Crit Care Med.**, v. 28, n. 3, p. 788-794, 2000.
74. MASSONE, F. Técnicas anestésicas de laboratório. In: _____. **Anestesiologia Veterinária**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1998. p. 103-107.
75. MASTBOOM, W. J.; HENDRIKS, T.; DE MAN, B. M.; DE BOER, H. H. Influence of methylprednisolone on the healing of intestinal anastomoses in rats. **Br.J.Surg**, v. 78, n. 1, p. 54-56, 1991.
76. MATOS, D.; LUSTOSA, S. A. Handsewn or stapled colorectal anastomosis? Or how evidence based is surgical practice? **Sao Paulo Med.J.**, v. 117, n. 3, p. 99-100, 1999.
77. MEYER, J.; TRABER, L. D.; NELSON, S.; LENTZ, C. W.; NAKAZAWA, H.; HERNDON, D. N. et al. Reversal of hyperdynamic response to continuous endotoxin administration by inhibition of NO synthesis. **J.Appl.Physiol**, v. 73, n. 1, p. 324-328, 1992.
78. MILLER, M. J.; SADOWSKA-KROWICKA, H.; CHOTINARUEMOL, S.; KAKKIS, J. L.; CLARK, D. A. Amelioration of chronic ileitis by nitric oxide synthase inhibition. **J.Pharmacol.Exp.Ther.**, v. 264, n. 1, p. 11-16, 1993.

79. MITANI, Y.; MARUYAMA, K.; SAKURAI, M. Prolonged administration of L-arginine ameliorates chronic pulmonary hypertension and pulmonary vascular remodeling in rats. **Circulation**, v. 96, n. 2, p. 689-697, 1997.
80. MONCADA, S.; PALMER, R. M.; HIGGS, E. A. Nitric oxide: physiology, pathophysiology, and pharmacology. **Pharmacol.Rev.**, v. 43, n. 2, p. 109-142, 1991.
81. MURRAY, I. A.; BULLIMORE, D. W.; LONG, R. G. Fasting plasma nitric oxide products in coeliac disease. **Eur.J.Gastroenterol.Hepatol.**, v. 15, n. 10, p. 1091-1095, 2003.
82. NAGASE, S.; TAKEMURA, K.; UEDA, A.; HIRAYAMA, A.; AOYAGI, K.; KONDOH, M. et al. A novel nonenzymatic pathway for the generation of nitric oxide by the reaction of hydrogen peroxide and D- or L-arginine. **Biochem.Biophys.Res.Commun.**, v. 233, n. 1, p. 150-153, 1997.
83. NATHAN, C. Nitric oxide as a secretory product of mammalian cells. **FASEB J.**, v. 6, n. 12, p. 3051-3064, 1992.
84. NAVA, E.; PALMER, R. M.; MONCADA, S. The role of nitric oxide in endotoxic shock: effects of NG-monomethyl-L-arginine. **J.Cardiovasc.Pharmacol.**, v. 20 Suppl 12, p. S132-S134, 1992.
85. NILL, M. R.; OBERYSZYN, T. M.; ROSS, M. S. Quantification of inducible nitric oxide gene expression during incisional wound healing. **Surg Forum**, v. 46, p. 753-755, 1995.
86. OLIVEIRA, P. G. **Estudo dos efeitos de uma prostaglandina sintética, o misoprostol, sobre a cicatrização de anastomoses no intestino grosso de ratos**. 1989. Dissertação (Mestrado) - Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, 1989.
87. OLIVEIRA, P. G.; SOARES, E. G.; APRILLI, F. **Influence of misoprostol, a synthetic prostaglandin E1 analog, on the healing of colonic anastomoses in rats**. *Dis Colon Rectum*, v. 37, n. 7, p. 660-663, 1994.
88. OLIVEIRA, P. G. **Efeitos da peritonite por *Candida albicans* na cicatrização de anastomoses colônicas. Estudo experimental em ratos**. 1995. Tese (Doutorado) - Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, 1995.

89. OSHIMA, T.; IMADA, T.; NAGASHIMA, Y.; CHO, H.; SHIOZAWA, M.; RINO, Y. et al. Role of nitric oxide in human gastric cancer cells treated with 5-fluorouracil. **Oncol.Rep.**, v. 8, n. 4, p. 847-849, 2001.
90. OZTURK, M.; MAS, M. R.; YASAR, M.; AKAY, C.; AYDOGAN, H.; DEVECI, S. et al. The role of inducible nitric oxide synthase inhibitor, meropenem, and taurine in experimental acute necrotizing pancreatitis. **Pancreas**, v. 26, n. 4, p. 357-362, 2003.
91. PHILLIPS, J. D.; KIM, C. S.; FONKALSRUD, E. W.; ZENG, H.; DINDAR, H. Effects of chronic corticosteroids and vitamin A on the healing of intestinal anastomoses. **Am.J.Surg**, v. 163, n. 1, p. 71-77, 1992.
92. QUEIROZ, N. N. **Avaliação dos efeitos do fator XIII da coagulação sanguínea sobre a cicatrização de anastomoses cólicas em ratos tratados com corticosteróides**. 2005. Dissertação (Mestrado) - Faculdade de Medicina da Universidade de Brasília, 2005.
93. RAVO, B.; METWALLY, N.; CASTERA, P.; POLANSKY, P. J.; GER, R. The importance of intraluminal anastomotic fecal contact and peritonitis in colonic anastomotic leakages. An experimental study. **Dis.Colon Rectum**, v. 31, n. 11, p. 868-871, 1988.
94. REICHNER, J. S.; MESZAROS, A. J.; LOUIS, C. A.; HENRY, W. L., Jr.; MASTROFRANCESCO, B.; MARTIN, B. A. et al. Molecular and metabolic evidence for the restricted expression of inducible nitric oxide synthase in healing wounds. **Am. J. Pathol.**, v. 154, n. 4, p. 1097-1104, 1999.
95. REYS, L. G. C. V. **Avaliação dos Efeitos de Uma Heparina de Baixo Peso Molecular, a Enoxaparina, Sobre a Cicatrização de Anastomoses Cólicas em Ratos**. 2005. Dissertação (Mestrado) - Faculdade de Medicina da Universidade de Brasília, 2005.
96. RYTLEWSKI, K.; OLSZANECKI, R.; KORBUT, R.; ZDEBSKI, Z. Effects of prolonged oral supplementation with L-arginine on blood pressure and nitric oxide synthesis in preeclampsia. **Eur.J.Clin.Invest**, v. 35, n. 1, p. 32-37, 2005.
97. SARTORIO, C. L.; PINTO, V. D.; CUTINI, G. J.; VASSALLO, D. V.; STEFANON, I. Effects of inducible nitric oxide synthase inhibition on the rat tail vascular bed reactivity three days after myocardium infarction. **J.Cardiovasc.Pharmacol.**, v. 45, n. 4, p. 321-326, 2005.

98. SCHAFFER, M. R.; EFRON, P. A.; THORNTON, F. J.; KLINGEL, K.; GROSS, S. S.; BARBUL, A. Nitric oxide, an autocrine regulator of wound fibroblast synthetic function. **J.Immunol.**, v. 158, n. 5, p. 2375-2381, 1997a.
99. SCHAFFER, M. R.; TANTRY, U.; VAN WESEP, R. A.; BARBUL, A. Nitric Oxide Metabolism in Wounds*1, *2. **Journal of Surgical Research**, v. 71, n. 1, p. 25-31, 1997b.
100. SCHULZ, C. M.; PRITISANAC, A.; SCHUTZ, A.; KILGER, E.; PLATZER, H.; REICHART, B. et al. Effects of phospholipid-coated extracorporeal circuits on clinical outcome parameters and systemic inflammatory response in coronary artery bypass graft patients. **Heart Surg Forum**, v. 6, n. 1, p. 47-52, 2002.
101. SCUTERI, A.; STUEHLINGER, M. C.; COOKE, J. P.; WRIGHT, J. G.; LAKATTA, E. G.; ANDERSON, D. E. et al. Nitric oxide inhibition as a mechanism for blood pressure increase during salt loading in normotensive postmenopausal women. **J.Hypertens.**, v. 21, n. 7, p. 1339-1346, 2003.
102. SEIFTER, E.; RETTURA, G.; BARBUL, A.; LEVENSON, S. M. Arginine: an essential amino acid for injured rats. **Surgery**, v. 84, n. 2, p. 224-230, 1978.
103. SELAMNIA, M.; ROBERT, V.; MAYEUR, C.; DUEE, P. H.; BLACHIER, F. Effects of L-valine on growth and polyamine metabolism in human colon carcinoma cells. **Biochim.Biophys.Acta**, v. 1379, n. 1, p. 151-160, 1998.
104. SHINDOH, C.; WU, D.; OHUCHI, Y.; KUROSAWA, H.; KIKUCHI, Y.; HIDA, W. et al. Effects of L-NAME and L-arginine on diaphragm contraction in a septic animal model. **Comp Biochem.Physiol A Mol.Integr.Physiol**, v. 119, n. 1, p. 219-224, 1998.
105. SIRIMARCO, M. T.; ZUCOLOTO, S.; APRILLI, F. Efeitos do deflazacort na cicatrização de anastomoses colônicas: estudo experimental em ratos. **Rev.Bras.Colo-Proct**, v. 19, p. 35-51, 1999.
106. SIRIMARCO, M. T. **Estudo Comparativo de Dois Corticóides Sintéticos, Deflazacort e Prednisona, na Cicatrização de Anastomoses Colônicas em Ratos**. 2000. Tese (Doutorado) - Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, 2000.

107. SOUSA, J. B. **Estudo da cicatrização em anastomoses no intestino delgado de coelhos tratados com diclofenaco sódico**. Ribeirão Preto, 1989. Dissertação (Mestrado). Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto. Universidade de São Paulo.
108. SOUSA, J. B.; SOARES, E. G.; APRILLI, F. **Effects of diclofenac sodium on intestinal anastomotic healing. Experimental study on the small intestine of rabbits**. *Dis Colon Rectum*, v. 34, n. 7, p. 613-617, 1991.
109. SOUSA, J. B. **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.
110. SOUSA, T.; FERNANDES, E.; NUNES, C.; LARANJINHA, J.; CARVALHO, F.; PINHO, D. et al. Scavenging of nitric oxide by an antagonist of adenosine receptors. *J.Pharm.Pharmacol.*, v. 57, n. 3, p. 399-404, 2005.
111. STEFANOVIC-RACIC, M.; STADLER, J.; EVANS, C. H. Nitric oxide and arthritis. *Arthritis Rheum.*, v. 36, n. 8, p. 1036-1044, 1993.
112. STUEHR, D. J.; MARLETTA, M. A. Mammalian nitrate biosynthesis: mouse macrophages produce nitrite and nitrate in response to *Escherichia coli* lipopolysaccharide. *Proc.Natl.Acad.Sci U.S.A*, v. 82, n. 22, p. 7738-7742, 1985.
113. STUEHR, D. J.; MARLETTA, M. A. Synthesis of nitrite and nitrate in murine macrophage cell lines. *Cancer Res.*, v. 47, n. 21, p. 5590-5594, 1987a.
114. STUEHR, D. J.; MARLETTA, M. A. Induction of nitrite/nitrate synthesis in murine macrophages by BCG infection, lymphokines, or interferon-gamma. *J.Immunol.*, v. 139, n. 2, p. 518-525, 1987b.
115. SZABÓ, C.; SOUTHAN, G. J.; THIEMERMANN, C. Beneficial effects and improved survival in rodent models of septic shock with S-methylisothiourrea sulfate, a potent and selective inhibitor of inducible nitric oxide synthase. *Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A*, v. 91, n. 26, p. 12472-12476, 1994.

116. TAKAHASHI, A.; TOMOMASA, T.; KANEKO, H.; WATANABE, T.; TABATA, M.; MORIKAWA, H. et al. Intestinal motility in an in vivo rat model of intestinal ischemia-reperfusion with special reference to the effects of nitric oxide on the motility changes. **J.Pediatr.Gastroenterol.Nutr.**, v. 33, n. 3, p. 283-288, 2001.
117. TANI, S.; ITOH, H.; OKABAYASHI, Y.; NAKAMURA, T.; FUJII, M.; FUJISAWA, T. et al. New model of acute necrotizing pancreatitis induced by excessive doses of arginine in rats. **Dig.Dis.Sci.**, v. 35, n. 3, p. 367-374, 1990.
118. TEJERO-TALDO, M. I.; GURSOY, E.; ZHAO, T. C.; KUKREJA, R. C. Alpha-adrenergic receptor stimulation produces late preconditioning through inducible nitric oxide synthase in mouse heart. **J. Mol. Cell Cardiol.**, v. 34, n. 2, p. 185-195, 2002.
119. THOMAS, S.; RAMACHANDRAN, A.; PATRA, S.; VIDYASAGAR, S.; BALASUBRAMANIAN, K. A. Nitric oxide protects the intestine from the damage induced by laparotomy and gut manipulation. **J.Surg.Res.**, v. 99, n. 1, p. 25-32, 2001.
120. THORNTON, F. J.; AHRENDT, G. M.; SCHAFFER, M. R.; TANTRY, U. S.; BARBUL, A. Sepsis impairs anastomotic collagen gene expression and synthesis: a possible role for nitric oxide. **J.Surg.Res.**, v. 69, n. 1, p. 81-86, 1997a.
121. THORNTON, F. J.; BARBUL, A. Healing in the gastrointestinal tract. **Surg.Clin.North Am.**, v. 77, n. 3, p. 549-573, 1997b.
122. TIAN, B.; LIU, J.; BITTERMAN, P. B.; BACHE, R. J. Mechanisms of cytokine induced NO-mediated cardiac fibroblast apoptosis. **Am.J.Physiol Heart Circ.Physiol**, v. 283, n. 5, p. H1958-H1967, 2002.
123. TILTON, R. G.; CHANG, K.; HASAN, K. S.; SMITH, S. R.; PETRASH, J. M.; MISKO, T. P. et al. Prevention of diabetic vascular dysfunction by guanidines. Inhibition of nitric oxide synthase versus advanced glycation end-product formation. **Diabetes**, v. 42, n. 2, p. 221-232, 1993.
124. TOGNINI, J. R.; FAGUNDES, J. D.; NOVO, N. F.; JULIANO, J. Estudo biomecânico e morfológico da cicatrização da parede abdominal sob ação do meloxicam. **Acta Cir Bras**, v. 15, n. 8, 2000.
125. TOSTES, J. M. **Estudo dos efeitos da hipertensão arterial na cicatrização de parede abdominal: Estudo experimental em ratos.**

Brasília, 2003. 70p. Dissertação (Mestrado). Faculdade de Ciências Médicas. Universidade de Brasília.

126. TSUKAHARA, Y.; MORISAKI, T.; HORITA, Y.; TORISU, M.; TANAKA, M. Expression of inducible nitric oxide synthase in circulating neutrophils of the systemic inflammatory response syndrome and septic patients. **World J.Surg.**, v. 22, n. 8, p. 771-777, 1998.
127. UENOYAMA, S.; KOBAYASHI, T.; TAKEUCHI, Y.; YAMASHITA, K.; KOIDE, Y.; KAZUI, T. Improvement of intestinal motility using S-methylisothiurea in postoperative ileus. **Am. J.Surg**, v. 187, n. 1, p. 93-97, 2004.
128. VALENTI, L.; MATHIEU, J.; CHANCERELLE, Y.; LEVACHER, M.; CHANAUD, B.; DE, S. M. et al. Nitric oxide inhibits spleen cell proliferative response after burn injury by inducing cytoostasis, apoptosis, and necrosis of activated T lymphocytes: role of the guanylate cyclase. **Cell Immunol.**, v. 221, n. 1, p. 50-63, 2003a.
129. VALENTI, S.; FAZZUOLI, L.; GIUSTI, M. Circulating nitric oxide levels increase after anti-androgen treatment in male-to-female transsexuals. **J.Endocrinol.Invest**, v. 26, n. 6, p. 522-526, 2003b.
130. VALENTI, S.; CAVALLERO, D.; FAZZUOLI, L.; MINUTO, F.; GIUSTI, M. Circulating nitric oxide in women affected by weight loss amenorrhea during pulsatile gonadotropin-releasing hormone therapy. **J.Endocrinol.Invest**, v. 28, n. 9, p. 773-778, 2005.
131. VANE, J. R. The Croonian Lecture, 1993. The endothelium: maestro of the blood circulation. **Philos.Trans.R.Soc.Lond B Biol.Sci.**, v. 343, n. 1304, p. 225-246, 1994.
132. WITTE, M. B.; EFRON, D. T.; KIYAMA, T. Wound fluid regulates nitric oxide expression expression in fibroblasts. **Surg Forum**, v. 49, p. 623-624, 1998.
133. WITTE, M. B.; BARBUL, A. Role of nitric oxide in wound repair. **The American Journal of Surgery**, v. 183, n. 4, p. 406-412, 2002.
134. WITTE, M. B.; VOGT, N.; STUELTEN, C.; GOTOH, T.; MORI, M.; BECKER, H. D. Arginase Acts as an Alternative Pathway of L-Arginine Metabolism in Experimental Colon Anastomosis*1, *2. **Journal of Gastrointestinal Surgery**, v. 7, n. 3, p. 378-385, 2003.

135. WU, F.; WILSON, J. X.; TYML, K. Ascorbate protects against impaired arteriolar constriction in sepsis by inhibiting inducible nitric oxide synthase expression. **Free Radic.Biol.Med.**, v. 37, n. 8, p. 1282-1289, 2004.
136. XIA, W.; SZOMOR, Z.; WANG, Y.; MURRELL, G. A. Nitric oxide enhances collagen synthesis in cultured human tendon cells. **J.Orthop.Res.**, v. 24, n. 2, p. 159-172, 2006.
137. XU, X.; CUBEDDU, L. X.;MALAVE, A. Expression of inducible nitric oxide synthase in primary culture of rat bladder smooth muscle cells by plasma from cyclophosphamide-treated rats. **Eur.J.Pharmacol.**, v. 416, n. 1-2, p. 1-9, 2001.
138. YE, J. S.; TIPOE, G. L.; FUNG, P. C.;FUNG, M. L. Augmentation of hypoxia-induced nitric oxide generation in the rat carotid body adapted to chronic hypoxia: an involvement of constitutive and inducible nitric oxide synthases. **Pflugers Arch.**, v. 444, n. 1-2, p. 178-185, 2002.

APÊNDICES

APÊNDICE 1 – EVOLUÇÃO DOS PESOS DOS ANIMAIS, COM OS PESOS INICIAIS E FINAIS, MEDIDOS NO 3º DPO. EM GRAMAS.

| ANIMAL | GRUPO | PESO INICIAL | 3º DIA | DIF PESO | % PERDA |
|--------|----------|--------------|-------------------------|----------|---------|
| 6 | Controle | 309,71 | 261,92 | -47,79 | 15,43 |
| 11 | Controle | 290,69 | 264,00 | -26,69 | 9,18 |
| 15 | Controle | 292,98 | óbito | | |
| 21 | Controle | 317,56 | 287,29 | -30,27 | 9,53 |
| 31 | Controle | 294,21 | 267,79 | -26,42 | 8,98 |
| 33 | Controle | 283,76 | 258,25 | -25,51 | 8,99 |
| 41 | Controle | 312,13 | dado perdido dado | | |
| 45 | Controle | 308,91 | perdido | | |
| 52 | Controle | 360,83 | 316,69 | -44,14 | 12,23 |
| 57 | Controle | 314,95 | 274,54 | -40,41 | 12,83 |
| 3 | SMT | 300,20 | 263,36 | -36,84 | 12,27 |
| 12 | SMT | 276,86 | 248,88 | -27,98 | 10,11 |
| 18 | SMT | 317,66 | 282,98 | -34,68 | 10,92 |
| 24 | SMT | 335,41 | óbito | | |
| 32 | SMT | 285,39 | 254,22 | -31,17 | 10,92 |
| 36 | SMT | 316,58 | 290,43 | -26,15 | 8,26 |
| 42 | SMT | 311,84 | dado perdido dado | | |
| 47 | SMT | 344,30 | perdido | | |
| 51 | SMT | 329,88 | 297,01 | -32,87 | 9,96 |
| 59 | SMT | 319,47 | 281,15 | -38,32 | 11,99 |

Notas: Grupo de estudo (smt)

Terceiro dia de pós-operatório (3º dia)

Diferença em gramas entre o peso inicial e o final (difpeso)

Porcentagem da perda de peso entre o início e a eutanásia (%perda)

APÊNDICE 2 – TABELA DE EVOLUÇÃO DOS PESOS DOS ANIMAIS, COM OS PESOS INICIAIS E FINAIS, MEDIDOS NO 7º DPO. EM GRAMAS.

| ANIMAL | GRUPO | PESO INICIAL | 7º DIA | DIF PESO | % PERDA |
|--------|----------|--------------|--------|----------|---------|
| 4 | Controle | 278,44 | 279,99 | 1,55 | -0,56 |
| 7 | Controle | 291,96 | 277,62 | -14,34 | 4,91 |
| 13 | Controle | 308,64 | 266,96 | -41,68 | 13,50 |
| 19 | Controle | 297,24 | 301,62 | 4,38 | -1,47 |
| 26 | Controle | 301,78 | 292,72 | -9,06 | 3,00 |
| 29 | Controle | 318,05 | 255,45 | -62,60 | 19,68 |
| 37 | Controle | 304,44 | 264,86 | -39,58 | 13,00 |
| 48 | Controle | 270,32 | 268,04 | -2,28 | 0,84 |
| 50 | Controle | 321,89 | 265,69 | -56,20 | 17,46 |
| 55 | Controle | 323,41 | 324,93 | 1,52 | -0,47 |
| 1 | SMT | 306,74 | 251,12 | -55,62 | 18,13 |
| 10 | SMT | 305,96 | 279,87 | -26,09 | 8,53 |
| 16 | SMT | 306,81 | óbito | | |
| 22 | SMT | 309,10 | óbito | | |
| 25 | SMT | 299,29 | 279,82 | -19,47 | 6,51 |
| 30 | SMT | 285,20 | 248,71 | -36,49 | 12,79 |
| 40 | SMT | 324,47 | 264,72 | -59,75 | 18,41 |
| 46 | SMT | 312,96 | 293,41 | -19,55 | 6,25 |
| 49 | SMT | 304,84 | 280,60 | -24,24 | 7,95 |
| 56 | SMT | 364,84 | 325,79 | -39,05 | 10,70 |

Notas: Grupo de estudo (smt)

Sétimo dia de pós-operatório (7º dia)

Diferença em gramas entre o peso inicial e o final (difpeso)

Porcentagem da perda de peso entre o início e a eutanásia (%perda)

APÊNDICE 3 – TABELA DE EVOLUÇÃO DOS PESOS DOS ANIMAIS, COM OS PESOS INICIAIS E FINAIS, MEDIDOS NO 14° DPO. EM GRAMAS.

| ANIMAL | GRUPO | PESO INICIAL | 14° DIA | DIF PESO | % PERDA |
|--------|----------|--------------|------------|----------|---------|
| 5 | Controle | 323,29 | 350,90 | 27,61 | -8,54 |
| 9 | Controle | 310,70 | 337,81 | 27,11 | -8,73 |
| 14 | Controle | 324,68 | 330,79 | 6,11 | -1,88 |
| 20 | Controle | 312,93 | 259,98 | -52,95 | 16,92 |
| 28 | Controle | 302,36 | 322,26 | 19,90 | -6,58 |
| 35 | Controle | 338,12 | 313,43 | -24,69 | 7,30 |
| 39 | Controle | 328,07 | 346,39 | 18,32 | -5,58 |
| 43 | Controle | 308,04 | 319,32 | 11,28 | -3,66 |
| 54 | Controle | 341,15 | 360,67 | 19,52 | -5,72 |
| 60 | Controle | 334,59 | 319,70 | -14,89 | 4,45 |
| 2 | SMT | 322,97 | 339,07 | 16,10 | -4,98 |
| 8 | SMT | 301,80 | 336,91 | 35,11 | -11,63 |
| 17 | SMT | 291,08 | 303,99 | 12,91 | -4,44 |
| 23 | SMT | 300,14 | óbito | | |
| 27 | SMT | 301,08 | 287,71 | -13,37 | 4,44 |
| 34 | SMT | 327,90 | 308,26 | -19,64 | 5,99 |
| 38 | SMT | 329,63 | 316,34 | -13,29 | 4,03 |
| 44 | SMT | 328,60 | óbito | | |
| 53 | SMT | 332,76 | 343,86 | 11,10 | -3,34 |
| 58 | SMT | 346,40 | 298,40 | -48,00 | 13,86 |

Notas: Grupo de estudo (smt)

Terceiro dia de pós-operatório (3° dia)

Diferença em gramas entre o peso inicial e o final (difpeso)

Porcentagem da perda de peso entre o início e a eutanásia (%perda)

**APÊNDICE 4 - INVENTÁRIO DA CAVIDADE ABDOMINAL À
REOPERAÇÃO DOS ANIMAIS DE 1 A 30.**

| ANIMAL | ADERÊNCIAS | DEISCÊNCIA | VAZAMENTO |
|--------|------------|------------|-----------|
| 1 | presente | ausente | ausente |
| 2 | presente | ausente | ausente |
| 3 | presente | presente | ausente |
| 4 | presente | ausente | ausente |
| 5 | presente | ausente | ausente |
| 6 | presente | ausente | ausente |
| 7 | presente | ausente | ausente |
| 8 | presente | ausente | ausente |
| 9 | presente | ausente | ausente |
| 10 | presente | ausente | ausente |
| 11 | presente | ausente | ausente |
| 12 | ausente | ausente | ausente |
| 13 | presente | ausente | ausente |
| 14 | presente | ausente | ausente |
| 15 | ausente | ausente | ausente |
| 16 | ausente | ausente | ausente |
| 17 | presente | ausente | ausente |
| 18 | presente | ausente | ausente |
| 19 | presente | ausente | ausente |
| 20 | presente | presente | ausente |
| 21 | presente | presente | ausente |
| 22 | ausente | ausente | ausente |
| 23 | ausente | ausente | ausente |
| 24 | ausente | ausente | ausente |
| 25 | presente | ausente | ausente |
| 26 | presente | ausente | ausente |
| 27 | presente | ausente | ausente |
| 28 | presente | ausente | ausente |
| 29 | presente | presente | ausente |
| 30 | presente | presente | ausente |

Notas: Número do animal (ANIMAL)

Deiscência anastomótica (DEISCÊNCIA)

Vazamento anastomótico (VAZAMENTO)

**APÊNDICE 5 - INVENTÁRIO DA CAVIDADE ABDOMINAL À
REOPERAÇÃO DOS ANIMAIS DE 31 A 60.**

| ANIMAL | ADERÊNCIAS | DEISCÊNCIA | VAZAMENTO |
|--------|------------|------------|-----------|
| 31 | presente | ausente | ausente |
| 32 | presente | presente | ausente |
| 33 | presente | ausente | ausente |
| 34 | presente | ausente | ausente |
| 35 | presente | presente | ausente |
| 36 | presente | ausente | ausente |
| 37 | presente | presente | ausente |
| 38 | presente | presente | ausente |
| 39 | presente | ausente | ausente |
| 40 | presente | presente | ausente |
| 41 | presente | ausente | ausente |
| 42 | presente | ausente | ausente |
| 43 | presente | ausente | ausente |
| 44 | ausente | ausente | ausente |
| 45 | presente | ausente | ausente |
| 46 | presente | ausente | ausente |
| 47 | presente | presente | ausente |
| 48 | presente | ausente | ausente |
| 49 | presente | ausente | ausente |
| 50 | presente | presente | ausente |
| 51 | presente | ausente | ausente |
| 52 | presente | ausente | ausente |
| 53 | presente | ausente | ausente |
| 54 | presente | ausente | ausente |
| 55 | presente | ausente | ausente |
| 56 | presente | ausente | ausente |
| 57 | presente | ausente | ausente |
| 58 | presente | ausente | ausente |
| 59 | presente | ausente | ausente |
| 60 | presente | presente | ausente |

Notas: Número do animal (ANIMAL)

Deiscência anastomótica (DEISCÊNCIA)

Vazamento anastomótico (VAZAMENTO)

APÊNDICE 6 – FORÇA DE RUPTURA DA ANASTOMOSE DOS ANIMAIS DE 1 A 30 AVALIADO EM NEWTONS.

| ANIMAL | DROGA | DIA EUTAN | FORÇA DE RUPTURA |
|--------|----------|-----------|------------------|
| 1 | SMT | 7 | 1,23 |
| 2 | SMT | 14 | 1,23 |
| 3 | SMT | 3 | 0,78 |
| 4 | Controle | 7 | 1,76 |
| 5 | Controle | 14 | 1,27 |
| 6 | Controle | 3 | 1,03 |
| 7 | Controle | 7 | 1,55 |
| 8 | SMT | 14 | 2,13 |
| 9 | Controle | 14 | 2,45 |
| 10 | SMT | 7 | 1,03 |
| 11 | Controle | 3 | 0,31 |
| 12 | SMT | 3 | 0,49 |
| 13 | Controle | 7 | 1,58 |
| 14 | Controle | 14 | 2,45 |
| 15 | Controle | 3 | 0,00 |
| 16 | SMT | 7 | 0,00 |
| 17 | SMT | 14 | 1,15 |
| 18 | SMT | 3 | 0,11 |
| 19 | Controle | 7 | 1,55 |
| 20 | Controle | 14 | 2,68 |
| 21 | Controle | 3 | 0,72 |
| 22 | SMT | 7 | 0,00 |
| 23 | SMT | 14 | 0,00 |
| 24 | SMT | 3 | 0,00 |
| 25 | SMT | 7 | 0,94 |
| 26 | Controle | 7 | 0,88 |
| 27 | SMT | 14 | 2,17 |
| 28 | Controle | 14 | 2,70 |
| 29 | Controle | 7 | 1,13 |
| 30 | SMT | 7 | 0,94 |

Notas: Número do animal (ANIMAL)
 Grupo estudo (SMT)
 Grupo controle (Controle)

APÊNDICE 7 – FORÇA DE RUPTURA DAS ANASTOMOSES DOS ANIMAIS DE 31 A 60 AVALIADO EM NEWTONS.

| ANIMAL | DROGA | DIA EUTAN | FORÇA DE RUPTURA |
|--------|----------|-----------|------------------|
| 31 | Controle | 3 | 0,49 |
| 32 | SMT | 3 | 0,45 |
| 33 | Controle | 3 | 0,11 |
| 34 | SMT | 14 | 2,33 |
| 35 | Controle | 14 | 1,60 |
| 36 | SMT | 3 | 0,49 |
| 37 | Controle | 7 | 1,29 |
| 38 | SMT | 14 | 1,96 |
| 39 | Controle | 14 | 1,33 |
| 40 | SMT | 7 | 1,64 |
| 41 | Controle | 3 | 0,41 |
| 42 | SMT | 3 | 0,58 |
| 43 | Controle | 14 | 2,04 |
| 44 | SMT | 14 | 0,00 |
| 45 | Controle | 3 | 0,45 |
| 46 | SMT | 7 | 2,25 |
| 47 | SMT | 3 | 0,49 |
| 48 | Controle | 7 | 0,94 |
| 49 | SMT | 7 | 0,86 |
| 50 | Controle | 7 | 0,92 |
| 51 | SMT | 3 | 0,54 |
| 52 | Controle | 3 | 0,15 |
| 53 | SMT | 14 | 1,82 |
| 54 | Controle | 14 | 1,44 |
| 55 | Controle | 7 | 1,96 |
| 56 | SMT | 7 | 0,92 |
| 57 | Controle | 3 | 0,27 |
| 58 | SMT | 14 | 2,99 |
| 59 | SMT | 3 | 1,00 |
| 60 | Controle | 14 | 2,23 |

Notas: Número do animal (ANIMAL)
 Grupo estudo (SMT)
 Grupo controle (Controle)

APÊNDICE 8 – CONCENTRAÇÃO DE NITRITO/NITRATO NO SORO DOS ANIMAIS DE 1 A 30. RESULTADO EXPRESSO EM μM

| ANIMAL | DOSAGEM DE NO3 |
|---------------|-----------------------|
| 1 | |
| 2 | 17.05 |
| 3 | 46.94 |
| 4 | 88.59 |
| 5 | 16.92 |
| 6 | 95.64 |
| 7 | 21.23 |
| 8 | 20.70 |
| 9 | 19.66 |
| 10 | 33.50 |
| 11 | 37.81 |
| 12 | 24.88 |
| 13 | 28.02 |
| 14 | 17.18 |
| 15 | |
| 16 | |
| 17 | 16.79 |
| 18 | 23.45 |
| 19 | 28.54 |
| 20 | 15.35 |
| 21 | 15.74 |
| 22 | |
| 23 | |
| 24 | |
| 25 | 24.23 |
| 26 | 28.93 |
| 27 | 23.84 |
| 28 | 21.23 |
| 29 | 22.66 |
| 30 | 26.58 |

APÊNDICE 9 – CONCENTRAÇÃO DE NITRITO/NITRATO NO SORO DOS ANIMAIS DE 31 A 60. RESULTADO EXPRESSO EM μM .

| ANIMAL | DOSAGEM DE NO3 |
|---------------|-----------------------|
| 31 | 20.97 |
| 32 | 14.18 |
| 33 | 11.30 |
| 34 | 15.87 |
| 35 | 20.44 |
| 36 | 16.66 |
| 37 | 15.48 |
| 38 | 25.27 |
| 39 | 18.75 |
| 40 | 21.88 |
| 41 | 15.61 |
| 42 | 12.61 |
| 43 | 24.75 |
| 44 | |
| 45 | 15.22 |
| 46 | 20.31 |
| 47 | 18.49 |
| 48 | 20.44 |
| 49 | 18.75 |
| 50 | 14.57 |
| 51 | 20.57 |
| 52 | 34.80 |
| 53 | 26.97 |
| 54 | 23.71 |
| 55 | 14.96 |
| 56 | 13.52 |
| 57 | 16.62 |
| 58 | |
| 59 | 15.61 |
| 60 | 25.40 |

**APÊNDICE 10 - INDICADORES HISTOPATOLÓGICOS DOS ANIMAIS DO GRUPO
CONTROLE COM EUTANÁSIA NO 3º DPO (N=9)**

| Animal | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 |
|-------------------|-----|------|------|------|------|-----|------|------|------|----|
| Congestão | +++ | +++ | ++ | +++ | ++ | +++ | +++ | +++ | +++ | |
| Edema | +++ | ++ | +++ | ++++ | ++ | ++ | + | +++ | +++ | |
| Hemorragia | + | +++ | + | ++++ | + | + | + | + | +++ | |
| Ulceração | 0 | + | 0 | +++ | ++ | 0 | +++ | 0 | 0 | |
| Necrose | 0 | ++ | +++ | ++++ | +++ | + | ++++ | ++++ | ++++ | |
| Polimorfonuclear | ++ | ++++ | ++++ | ++++ | ++++ | +++ | ++++ | ++++ | ++++ | |
| Mononuclear | ++ | ++ | + | + | + | ++ | + | + | + | |
| Vasos neoformados | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | |
| Granulação | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | |
| Fibrose | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | |

NOTA: Dia de pós-operatório (DPO)

Leve(+)

Moderada(++)

Marcante(+++)

Intensa(++++)

**APÊNDICE 11 - INDICADORES HISTOPATOLÓGICOS DOS ANIMAIS DO
GRUPO SMT COM EUTANÁSIA NO 3º DPO**

| Animal | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 |
|-------------------|-----|------|-----|-----|-----|------|-----|-----|------|----|
| Congestão | ++ | ++ | +++ | ++ | ++ | +++ | ++ | ++ | +++ | |
| Edema | ++ | ++++ | +++ | +++ | ++ | ++++ | +++ | +++ | +++ | |
| Hemorragia | + | +++ | + | 0 | + | +++ | +++ | ++ | ++ | |
| Ulceração | + | +++ | 0 | + | + | + | + | 0 | ++ | |
| Necrose | +++ | ++++ | 0 | + | ++ | ++++ | ++ | +++ | ++++ | |
| Polimorfonuclear | ++ | ++++ | + | ++ | +++ | ++++ | ++ | +++ | +++ | |
| Mononuclear | ++ | ++ | ++ | + | + | + | + | + | + | |
| Vasos neoformados | 0 | + | + | + | + | + | + | + | 0 | |
| Granulação | + | ++ | + | + | + | + | ++ | ++ | 0 | |
| Fibrose | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | |

NOTA: Dia de pós-operatório (DPO)

Leve(+)

Moderada(++)

Marcante(+++)

Intensa(++++)

**APÊNDICE 12 - INDICADORES HISTOPATOLÓGICOS DOS ANIMAIS DO GRUPO
CONTROLE COM EUTANÁSIA NO 7º DPO**

| Animal | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 |
|-------------------|-----|-----|-----|-----|-----|------|------|-----|-----|------|
| Congestão | + | + | + | + | + | + | ++ | + | + | + |
| Edema | + | + | ++ | + | +++ | + | + | + | ++ | + |
| Hemorragia | 0 | + | 0 | 0 | 0 | 0 | + | 0 | 0 | 0 |
| Ulceração | +++ | + | ++ | +++ | + | ++++ | +++ | 0 | ++ | ++++ |
| Necrose | ++ | + | +++ | ++ | ++ | +++ | ++++ | 0 | + | +++ |
| Polimorfonuclear | +++ | +++ | +++ | ++ | +++ | +++ | +++ | + | ++ | +++ |
| Mononuclear | + | + | + | ++ | + | + | + | +++ | ++ | + |
| Vasos neoformados | +++ | ++ | +++ | +++ | +++ | +++ | +++ | ++ | ++ | ++ |
| Granulação | +++ | +++ | +++ | +++ | +++ | +++ | +++ | +++ | ++ | ++ |
| Fibrose | + | + | + | ++ | ++ | ++ | ++ | +++ | +++ | +++ |

NOTA: Dia de pós-operatório (DPO)

Leve(+)

Moderada(++)

Marcante(+++)

Intensa(++++)

**APÊNDICE 13 - INDICADORES HISTOPATOLÓGICOS DOS ANIMAIS DO
GRUPO SMT COM EUTANÁSIA NO 7º DPO**

| Animal | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 |
|-------------------|-----|-----|-----|-----|-----|-----|------|-----|---|----|
| Congestão | + | ++ | + | + | + | +++ | + | + | | |
| Edema | + | +++ | + | + | + | + | + | ++ | | |
| Hemorragia | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | + | + | 0 | | |
| Ulceração | 0 | ++ | + | ++ | +++ | ++ | ++++ | + | | |
| Necrose | 0 | ++ | +++ | +++ | +++ | + | ++ | ++ | | |
| Polimorfonuclear | + | +++ | ++ | +++ | ++ | ++ | ++ | ++ | | |
| Mononuclear | +++ | + | ++ | ++ | ++ | ++ | ++ | ++ | | |
| Vasos neoformados | ++ | +++ | +++ | +++ | +++ | +++ | +++ | +++ | | |
| Granulação | ++ | +++ | +++ | +++ | +++ | +++ | +++ | +++ | | |
| Fibrose | +++ | + | ++ | + | + | + | ++ | ++ | | |

NOTA: Dia de pós-operatório (DPO)

Leve(+)

Moderada(++)

Marcante(+++)

Intensa(++++)

**APÊNDICE 14 - INDICADORES HISTOPATOLÓGICOS DOS ANIMAIS DO GRUPO
CONTROLE COM EUTANÁSIA NO 14° DPO**

| Animal | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 |
|-------------------|----|------|-----|------|------|------|------|------|-----|-----|
| Congestão | ++ | + | 0 | 0 | + | ++ | 0 | 0 | + | +++ |
| Edema | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| Hemorragia | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| Ulceração | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | + | 0 | 0 | + | + |
| Necrose | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | + | 0 | 0 | + | + |
| Polimorfonuclear | ++ | + | + | + | + | ++ | + | + | + | + |
| Mononuclear | ++ | +++ | +++ | ++ | +++ | +++ | +++ | +++ | +++ | +++ |
| Vasos neoformados | ++ | +++ | ++ | +++ | ++ | +++ | ++++ | +++ | +++ | +++ |
| Granulação | + | ++ | ++ | ++ | ++ | ++ | ++ | + | +++ | +++ |
| Fibrose | ++ | ++++ | + | ++++ | ++++ | ++++ | ++++ | ++++ | ++ | +++ |

NOTA: Dia de pós-operatório (DPO)

Leve(+)

Moderada(++)

Marcante(+++)

Intensa(++++)

**APÊNDICE 15 - INDICADORES HISTOPATOLÓGICOS DOS ANIMAIS DO
GRUPO SMT COM EUTANÁSIA NO 14° DPO**

| Animal | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 |
|-------------------|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|---|----|
| Congestão | ++ | ++ | ++ | + | + | + | + | + | | |
| Edema | + | ++ | + | + | + | 0 | + | 0 | | |
| Hemorragia | 0 | + | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | | |
| Ulceração | ++ | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | ++ | 0 | | |
| Necrose | ++ | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | +++ | 0 | | |
| Polimorfonuclear | +++ | + | + | + | + | + | ++ | + | | |
| Mononuclear | +++ | +++ | +++ | + | +++ | +++ | +++ | +++ | | |
| Vasos neoformados | ++ | + | ++ | +++ | ++ | ++ | +++ | ++ | | |
| Granulação | ++ | ++ | ++ | +++ | ++ | ++ | +++ | ++ | | |
| Fibrose | + | +++ | +++ | +++ | + | +++ | +++ | +++ | | |

NOTA: Dia de pós-operatório (DPO)

Leve(+)

Moderada(++)

Marcante(+++)

Intensa(++++)

ANEXO