

JULIANO ALVES FIGUEIREDO

**EFEITOS INFLAMATÓRIOS E IMUNITÁRIOS DA COLECTOMIA ESQUERDA
POR LAPAROSCOPIA E POR LAPAROTOMIA
EM SUÍNOS**

**BELO HORIZONTE, MINAS GERAIS
2011**

Figueiredo, Juliano Alves.
F475a Efeitos inflamatórios e imunitários da colectomia esquerda por laparoscopia ou por laparotomia, em suínos [manuscrito]. / Juliano Alves Figueiredo. - - Belo Horizonte: 2011.
75f.: il.
Orientador: Andy Petroianu.
Área de concentração: Ciências Aplicadas à Cirurgia e à Oftalmologia.
Tese (doutorado): Universidade Federal de Minas Gerais, Faculdade de Medicina.
1. Colectomia. 2. Laparoscopia. 3. Reação de Fase Aguda. 4. Fagocitose. 5. Citocinas. 6. Colo. 7. Suínos. 8. Dissertações Acadêmicas. I. Petroianu, Andy. II. Universidade Federal de Minas Gerais, Faculdade de Medicina. III. Título.
NLM: WI 520

Ficha catalográfica elaborada pela Biblioteca J. Baeta Vianna – Campus Saúde UFMG

JULIANO ALVES FIGUEIREDO

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Aplicadas à Cirurgia e à Oftalmologia, da Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Minas Gerais, como requisito final para a obtenção do grau de Doutor.

Orientador: Prof. Dr. Andy Petroianu

Àrea de Concentração: Cicatrização
Linha de Pesquisa: Fatores intervenientes na Cicatrização Tecidual

FACULDADE DE MEDICINA

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS

**BELO HORIZONTE, MINAS GERAIS
2011**

FOLHA DE APROVAÇÃO

JULIANO ALVES FIGUEIREDO

Nível: Doutorado

Data da defesa:

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Aplicadas à Cirurgia e à Oftalmologia da Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Minas Gerais.

Comissão Examinadora formada pelos Professores:

Prof. Dr. Andy Petroianu (orientador) (UFMG)

Prof. Dr. Orlando Castro Silva Júnior (USP-RP)

Profa. Dra. Maria de Lourdes Pessole Biondo Simões (UC-PR)

Prof. Dr. Sérgio Alexandre da Conceição (UFMG)

Prof. Dr. Edson Samesima Tatsuo (UFMG)

Suplentes

Paula Martins (UFMG)

Roberto Carlos Oliveira Silva (UNIFENAS)

AUTORIDADES DA UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS

Reitor

Prof. Dr. Clélio Campolina Diniz

Pró-Reitor de Pós-Graduação

Prof. Dr. Ricardo Santiago Gomez

Pró-Reitor de Pesquisa

Prof. Dr. Renato de Lima dos Santos

FACULDADE DE MEDICINA

Diretor

Prof. Dr. Francisco José Penna

Coordenador do Centro de Pós-Graduação

Prof. Dr. Manoel Otávio da Costa Rocha

Chefe do Departamento de Cirurgia:

Prof. Dr. Marcelo Eller Miranda

Coordenador do Programa de Pós-Graduação em Ciências Aplicadas à Cirurgia e Oftalmologia

Prof. Dr. Marcelo Dias Sanches

Colegiado do Programa de Pós-Graduação

Prof. Dr. Alcino Lázaro da Silva

Prof. Dr. Edson Samesima Tatsuo

Prof^a. Dra. Ivana Duval de Araújo

Prof. Dr. Márcio Bittar Nehemy

Prof. Dr. Marco Aurélio Lana Peixoto

Prof. Dr. Tarcizo Afonso Nunes

Representante discente: Lívia Garcia Ferreira

DEDICATÓRIA

A Deus, Fonte inesgotável de paz e alegria! Pela vida, pelo trabalho; pelo Amor que nos sustenta nas provações!

A Sara, minha esposa, pela tolerância e companheirismo. Pelo amor com que me transforma. A minha filha, Sofia, desejada e amada de todas as horas!

A meu pai, Luís de Figueiredo Silva exemplo de trabalho responsável e bom humor. A minha mãe, Maria Alves de Figueiredo, exemplo de segurança íntima, força e perseverança. A ambos agradeço o amor e sacrifício de suas vidas, em meu nome, de meus irmãos e das netas Luisa, Lívia e Sofia.

Ao meu avô Jardelino (*in memoriam*), por ter sempre acreditado, desde eu menino, que era capaz. Obrigado pela família querida; "Teixeirada".

Aos meus irmãos, Maria Luisa, Lucas e João Paulo, aos meus cunhados Fabrício e Luciana; lapidários de minh' alma, meus amores.

AGRADECIMENTOS

Prof. Dr. Valentim Arabicano Gueler, Médico Veterinário, Douglas Kiarely Godoy de Araújo e Médico anestesiologista veterinário Oscar Henriques Rocha Ladeira pela grande contribuição na execução da tese e por tornarem-se meus amigos.

Ao amigo e médico veterinário, André Lages do Vale pelo esforço em nos auxiliar em várias fases da pesquisa.

A Profa. Dra. Luci Maria Sant Ana Dusse pela contribuição valiosa na análise das interleucinas.

A Amiga e Médica Veterinária Maria Angélica Baron Magalhães pela contribuição na pesquisa e por tornar mais alegre os dias trabalhosos das operações.

Profa. Dra. Fabíola de Oliveira Paes Leme, bióloga Renata Barbosa Peixoto e médica Veterinária Carolina Junqueira Moura pela contribuição na coleta de materiais, na disposição para o trabalho e pela amizade gratuita.

Ao médico Daniel Cruz dos Reis pelo auxílio na pesquisa.

Ao médico cirurgião André Rosseti Portela, o amigo entusiasmado com a cirurgia do aparelho digestivo, oncologia e laparoscopia.

A Laudislene Souza, técnica do laboratório de anatomia patológica pela confecção das Lâminas.

Equipe de estatística Meta, pela análise das variáveis, em especial pela valiosa atenção do amigo Prof. Dr. Marcelo Militão.

A patologista médica, mestre e professora da Faculdade de Medicina da UFMG, Cristiana Buzelin Nunes, pelo bom ânimo, pelo trabalho sério e metódico na leitura das Lâminas.

FUNDEP e Centro de Pós-graduação da Faculdade de Medicina da UFMG – além de FAPEMIG pelo auxílio financeiro durante a realização da pesquisa. Agradecimento às empresas Ethicon e HPF pela contribuição na doação dos grampeadores laparoscópicos. A farmácia de manipulação, Citopharma, pela manipulação do coloide com carbono.

Vivendo, se aprende; mas o que se aprende, mais, é
só fazer outras maiores perguntas.

JOÃO GUIMARÃES ROSA
Médico e Escritor Mineiro (1908-1967)

ÍNDICE GERAL

ÍNDICE DAS TABELAS	X
ÍNDICE DAS FIGURAS	XI
ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS	XIV
1. RESUMO	1
2. ABSTRACT	2
3. INTRODUÇÃO	3
3.1 História da laparoscopia colorretal	3
3.2 Reagentes da fase inflamatória pós-operatória	6
3.3 Efeitos imunológicos e Inflamatórios após operações laparoscópicas colorretais	8
3.4 Sistema mononuclear fagocitário	12
4.OBJETIVO	16
5.RELEVÂNCIA	17
6. MATERIAL E METODO	18
6.1 Ética	18

6.2 Animais e cuidados	18
6.3 Ato anestésico	19
6.4 Ato operatório	21
6.5 Morte e reoperação dos animais	26
6.6 Variáveis estudadas	27
6.7 Citocinas	28
6.8 Carbono coloidal	28
6.9 Análise Histológica do material	29
6.10 Estatística	32
7. RESULTADOS	33
7.1 Períodos de avaliação pós operatória	33
7.1.1 Momento duas horas após operação	33
7.1.2 Terceiro dia pós-operatório	36
7.1.3 Comparação entre as características nos dois momentos	39
8. DISCUSSÃO	43
9. CONCLUSÃO	49
10. REFERÊNCIAS	50
11. APÊNDICES	59

ÍNDICE DAS TABELAS

Tabela 1	Comparação entre os grupos para a gasometria duas horas do pós-operatório	34
Tabela 2	Comparação entre os grupos para as variáveis de Interesse após duas horas de pós-operatório.....	35
Tabela 3	Comparação da IL-6 entre o grupo B e Grupo D no momento 2 h após a operação.....	36
Tabela 4	Comparação entre os grupos para as variáveis de Interesse, três dias de pós-operatório.....	37
Tabela 5	Comparação da fagocitose pelos macrófagos, entre os grupos de suínos, para o fígado, baço e pulmão.....	39
Tabela 6:	Valores-p das comparações das características de interesse nos dois momentos (2h e 3 ^o DPO) de acordo com o grupo em estudo.....	40
Tabela A1:	Comparação 2x2 das variáveis significativas após duas horas do pós-operatório.....	59
Tabela A2:	Comparação 2x2 das variáveis significativas três dias após operação.....	60

ÍNDICE DAS FIGURAS

Figura 1:	Suíno fêmea, com identificador em orelha direita.....	19
Figura 2:	Material para anestesia : unidade ventilatória, recipiente cal sodada(seta), recipiente isoflurano (asterisco), cilindro de oxigênio	20
Figura 3:	Visão ventral do abdome de suíno fêmea, linha azul marca a extensão da incisão de 18 cm no abdome, para laparotomia com ou sem colectomia esquerda (Grupo B e C)	21
Figura 4:	Identificação de artéria e veia mesentérica caudal (seta), bexiga (asterisco) do suíno 6 (Grupo B)	22
Figura 5:	Quatro incisões para laparoscopia com ou sem colectomia esquerda. Seta no local dos trocartes (Grupo D e E)	23
Figura 6:	Sigmoide exteriorizado na fossa ilíaca esquerda do suíno (Suíno 16, Grupo D)	24
Figura 7:	Ogiva (seta) do endogrampeador circular intraluminal número 21, posicionada no cólon descendente após sigmoidectomia (Suíno 16, Grupo D)	25
Figura 8:	Visão do televisor, momento em que a ogiva foi conectada ao grampeador circular intraluminal para anastomose mecânica colorretal intracorpórea (Suíno 16, Grupo D)	25

Figura 9:	Fotomicrografia mostrou aspecto histológico do baço, coloração verde luz, aumento 400X. Macrófago após fagocitose de partículas de carbono (seta) Suíno 1 do Grupo A	30
Figura 10:	Fotomicrografia mostrou aspecto histológico do fígado, coloração verde luz, aumento 400X. Macrófago após fagocitose de partículas de carbono(seta) Suíno 1 do Grupo A	30
Figura 11:	Fotomicrografia mostrou aspecto histológico do pulmão, coloração verde luz, aumento 400X. Macrófago após fagocitose de partículas de Carbono(seta) Suíno 7 do Grupo B.....	31
Figura 12:	Fotomicrografia mostrou aspecto histológico do baço, coloração verde luz, aumento 400X. Macrófago após fagocitose de partículas de carbono, dentro do vaso sanguíneo (setas). Suíno 1 Grupo A.....	31
Figura 13:	Gráfico das médias dos valores referentes ao peso (quilogramas).....	34
Figura 14:	Gráfico das médias dos valores referentes à Hemoglobina (g/dl)	34
Figura 15:	Gráfico das médias dos valores referentes à hemoglobina (g/dl) no 3 ^o DPO	36
Figura 16:	Gráfico das médias dos valores de monócitos em porcentagem no 3 ^o DPO.....	38

Figura 17:	Gráfico das médias dos valores referentes a LDH (U/l).....	41
Figura 18:	Gráfico das médias dos valores referente a leucócitos (cels/mm ³).....	41
Figura 19:	Gráfico das médias dos valores referentes ao fibrinogênio (mg/dl).....	41
Figura 20:	Gráfico das médias dos valores referente à creatinina (mg/dl).....	41
Figura 21:	Gráfico das médias dos valores referentes ao ferro sérico (mcg/ml).....	42
Figura 22:	Gráfico das médias dos valores referente à capacidade total de ligação do ferro (mcg/ml).....	42
Figura 23:	Gráfico das médias dos valores referentes ao hemoglobina (g/dl).....	42
Figura 24:	Gráfico das médias dos valores referente à hematócrito (%).....	42

ABREVIATURAS, SIGLAS E SIMBOLOS

ANOVA	análise de variância
ALT	alaninoaminotrasferase
AST	aspartatoaminotrasferase
CETEA	Comitê de Ética em Experimentação Animal
CK	creatinaquinase
CO ₂	dióxido de carbono
CTLF	capacidade total de ligação do ferro
dpo	dia pós-operatório
dpm	desvio padrão da média
<i>et al</i>	e outros colaboradores
Fig	figura
FM UFMG	Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Minas Gerais
g/dl	grama por decilitro
h –	horas
HE	hematoxilina e eosina
IL-1	interleucina um
IL-6	interleucina seis
IL-8	interleucina oito
IL-10	interleucina dez
kg	quilograma
LDH	lactato desidrogenase
mmHg	milímetros de mercúrio
n	número de animais envolvidos
p	nível de significância
PCR	proteína C reativa
rpm	rotações por minuto
SMF	sistema mononuclear fagocitário
Tab	tabela
TNF-alfa	Fator de necrose tumoral alfa
®	marca registrada

1. RESUMO

Procedimentos operatórios no intestino grosso por via laparoscópica podem ter alguns aspectos inflamatórios e imunitários compreendidos com o uso de modelos animais. Ainda não foram estudados reagentes de fase aguda e fagocitose dos macrófagos do sistema mononuclear fagocitário, comparando colectomia por laparotomia ou por laparoscopia. O objetivo deste trabalho foi avaliar a resposta inflamatória pós-operatória de suínos submetidos a colectomia por laparoscopia em comparação com essa operação em suínos, por via aberta. Distribuição dos animais (n = 5): Grupo A - não houve intervenção operatória, Grupo B - colectomia esquerda por laparotomia, Grupo C - laparotomia somente, Grupo D - colectomia esquerda por laparoscopia e Grupo E – laparoscopia somente. Para avaliação da atividade imunitária e inflamatória foram avaliados os seguintes parâmetros sanguíneos: pH sanguíneo, leucócitos totais, percentual de monócitos, fagocitose de partículas pelos macrófagos do fígado, baço e pulmão, albumina, fibrinogênio séricos, ferro sérico, capacidade total de ligação do ferro e interleucina-6 plasmática. Essas variáveis foram analisadas antes da operação, duas horas após esse procedimento e no terceiro dia pós-operatório. Os resultados mostraram que a colectomia laparoscópica com ventilação espontânea, combinada a pneumoperitônio por CO₂ não alterou a homeostase acidobásica. A colectomia esquerda por laparotomia associou-se a queda no percentual de monócitos no sangue periférico, aumento do fibrinogênio e dos leucócitos totais, após a operação. A porcentagem de fagocitose de fígado, baço e pulmão não foi diferente entre os grupos operados. Os valores de interleucina-6 não diferiram entre os grupos de animais operados por laparoscopia e laparotomia. Há indícios de que a colectomia laparoscópica apresenta vantagens sob o aspecto inflamatório e imunitário, em comparação com a colectomia laparotômica.

Descritores

Laparoscopia, Laparotomia, Resposta de fase aguda, Suínos, Fagocitose, Citocinas, Cólon.

2. ABSTRACT

The use of animal models in laparoscopy of the large bowel is useful to study inflammatory and immunity pre and postoperative aspects. Acute phase reaction and phagocytosis in both techniques, were not compared. The purpose of this investigation was to assess the inflammatory postoperative response to laparoscopic colectomy comparative with open surgery. The groups consisted as follows: Group A(n = 5) – no surgical intervention, Group B(n = 5) – laparotomy left colectomy, Group C(n = 5) – only laparotomy, Group D(n = 8) – laparoscopic left colectomy, Group E (n = 5) – only laparoscopy. These groups were studied on the following parameters: acid base disorders after laparoscopic colectomy and spontaneous ventilation, acute phase proteins, albumin and fibrinogen, interleukin 6 values and incidence of the reticuloendothelial phagocytic system. The main variables studied were blood pH levels, total leukocytes count, monocyte percentages, liver, spleen and lungs phagocyte macrophages carbon particle, albumin and fibrinogen, interleukin 6. These parameters were analyzed before of the surgery, two hours after this surgery and three days after surgery. The results showed that laparoscopic colectomy with spontaneous ventilation combined with carbon dioxide pneumoperitoneum did not affect acid base homeostasis. On the third day postoperative left colectomy by laparotomy resulted in less percentages of peripheral blood monocytes and higher fibrogen as well as higher rates of total leukocytes and total iron-binding capacity. Liver, spleen and lungs phagocytosis percentages were not different in all of the groups submitted to surgery. The interleukin 6 values was not different in groups that underwent surgical laparoscopy and laparotomy. Our results colectomy through laparoscopy is more advantageous, inflammatory and immunity advantages, them by mean of laparotomy.

Key words:

Laparoscopy, laparotomy, acute phase response, suines, phagocytosis, cytokines, colon

3. INTRODUÇÃO

A via de acesso laparoscópica, como opção para o tratamento de doenças do intestino grosso, foi inserida há 20 anos,. Ao longo do tempo pesquisadores procuraram identificar diferenças na evolução clínica dos pacientes tratados por ambas as via de acesso. Tanto em animais como em humanos, vários aspectos inflamatórios e imunitários foram avaliados do ponto de vista oncológico. A laparoscopia permite abordagem da cavidade abdominal, com menor dano aos tecidos da parede abdominal; resultando em menor quantidade de tecidos necróticos e áreas inflamadas. É possível que isso beneficie o sistema mononuclear fagocitário (SMF), recrutando menor número de células fagocitárias para a área operada e oferecendo ao organismo uma depuração sanguínea mais próxima do normal. Se esse fenômeno puder ser confirmado, haverá indícios, da via laparoscópica, estar associada a menor índice de infecção de parede e de da cavidade abdominal.

3.1 História da Laparoscopia Colorretal

No final da década de 1980, foram realizadas as primeiras operações laparoscópicas planejadas, Moises Jacobs¹, em 1991, foi o primeiro a documentar a colectomia direita, para tratar adenoma de ceco. Dennis Fowler² publicou, no mesmo ano, a primeira colectomia esquerda com anastomose mecânica. No Brasil, Regadas e cols realizaram, em 1992, a primeira intervenção laparoscópica para reconstrução do trânsito intestinal, após operação de Hartmann³. Desde então, a via de acesso laparoscópica tem sido indicada como alternativa à laparotomia no tratamento de afecções colorretais.

A perspectiva de oferecer tratamento operatório menos invasivo, com dor menos intensa, permanência hospitalar mais curta e retorno rápido às

atividades profissionais e sociais, levou diversos cirurgiões a provar a exequibilidade da operação colorretal por acesso laparoscópico⁴. Houve aperfeiçoamento dessa via de acesso e os cirurgiões passaram a trabalhar com visão bidimensional por meio de um monitor, familiarizaram-se com instrumental específico sem palpar o intestino durante a operação⁵.

Na década de 1990, surgiram publicações que apontavam alto índice de recorrência neoplásica no local da inserção do trocarte ou na incisão de retirada da peça^{6,7,8,9,10}. Mesmo com tantas adversidades a operação minimamente invasiva acompanhou-se de diminuição do trauma operatório, com menor lesão na incisão e menor trauma durante a dissecação visceral.

A realização de intervenções laparoscópicas em cólon e reto representou avanço dessa operação. Entretanto, a maior complexidade técnica, que incluía a mobilização, desvascularização do intestino e a reconstrução do trânsito intestinal, teve impacto negativo na aceitação das colectomias laparoscópicas, cujo desenvolvimento ocorreu de maneira mais lenta do que em outros procedimentos abdominais.

A colectomia laparoscópica constitui procedimento complexo associado a curva de aprendizagem longa. A conversão para laparotomia representa mudança tática, sendo sua frequência maior em colectomias¹¹. Os índices de conversão em operação laparoscópica varia de 7% a 77%^{4,11}. Esse índice é maior nas primeiras 50 operações laparoscópicas colorretais.

Incisões auxiliares são utilizadas nos procedimentos laparoscópicos, para retirar a peça cirúrgica, facilitar determinado passo cirúrgico, aumentando a segurança do procedimento e possibilitando a anastomose manual extracorpórea. As incisões auxiliares nos procedimentos colorretais podem ser

feitas em vários quadrantes do abdome presumindo algumas vantagens e desvantagens, de acordo com o objetivo. A não uniformidade nas incisões auxiliares é motivo de controvérsia na literatura médica¹². Em 1998, evidenciou-se a possibilidade de ressecção de sigmoide por incisão em fossa ilíaca esquerda e anastomose colorretal laparoscópica¹³, em modelo suíno.

Até o início dos anos 2000, a possibilidade de tratamento laparoscópico das neoplasias colorretais foi debatida na literatura. Os argumentos usados contra a utilização da laparoscopia diziam respeito à não possibilidade de realizar operações radicais do ponto de vista oncológico. Havia dúvidas quanto à ocorrência de recidivas nos locais de inserção dos trocartes. Esses fatos determinaram seleção prévia dos pacientes operados, evitando o tratamento de indivíduos com tumores localmente avançados. Na casuística inicial brasileira, as neoplasias representavam somente 40% das indicações de colectomias laparoscópicas.

Até 2004, não se conheciam os resultados do tratamento laparoscópico para a doença neoplásica de cólon e reto¹⁴. Uma revisão sistemática¹⁵ mostrou seguimento de pacientes com câncer por um período de três e cinco anos, comparou as duas vias de acesso. A mortalidade entre os grupos foi semelhante. A mortalidade relacionada ao câncer e à recorrência da doença neoplásica não diferiu ao compararem-se os dois tipos de acesso operatório.

Revisão sistemática observou que a duração da colectomia por laparoscopia foi mais longa, variando entre 30 e 60 minutos^{15,16}. Os pacientes submetidos a cirurgia laparoscópica tiveram melhor tolerância a líquidos por via oral e perceberam eliminação de flatos em menor tempo pós-operatório^{14,15,16,17}. O acesso laparoscópico permitiu melhor recuperação

gastrointestinal, tempo de hospitalização mais curto e melhor efeito estético, com ferida suprapúbica medindo menos de sete centímetros. A incisão da laparotomia mediana mediu cerca de 15 cm. Pacientes submetidos a laparoscopia colorretal tiveram menor dor pós-operatória e utilizaram menos analgésicos narcóticos no pós-operatório^{15,16}. O tamanho do espécime cirúrgico, o número de linfonodos identificados e a adequada avaliação da margem cirúrgica não diferiram; comparando as ressecções oncológicas pelas duas vias de acesso à cavidade abdominal^{14,15,16,18,19}. A porcentagem de metástases nos locais de inserção dos trocartes não diferiu do índice de metástases na incisão da operação por via aberta, entre 0% e 2 %¹⁵.

Pacientes submetidos a laparoscopia tem menos complicações de parede abdominal, deiscência ou infecção^{14,15,16}. O acesso por laparoscopia associou-se a menor perda sanguínea, embora a necessidade de transfusão sanguínea não tenha diferido com relação à via de acesso^{14,16}. A sobrevida livre de doença neoplásica não foi diferente comparando as duas vias de acesso para tratamento do câncer de cólon.

3.2 Reagentes de fase inflamatória pós-operatória

O fibrinogênio circulante no plasma tem meia vida de quatro dias, e é reagente de fase aguda, aumentando sua concentração em resposta a várias formas de lesão tecidual, infecção e processo inflamatório^{20,21}. Ele é produzido pelos hepatócitos em condições normais, mas sob o estresse de operação outras células podem sintetizá-lo. Operações laparoscópicas de vesícula biliar aumentam o fibrinogênio plasmático nas primeiras 24 horas^{22,23}. O fibrinogênio tem valores plasmáticos maiores, no pós-operatório, de pacientes submetidos a colecistectomia por laparotomia que em pacientes submetidos a operação

laparoscópica^{20,24,25}. Outros autores encontraram resultados diferentes onde valores pós-operatórios de fibrinogênio plasmático não diferiram em colecistectomia laparoscópica e por laparotomia²⁶. Em humanos, após ressecção colorretal, notou-se que os valores plasmáticos de fibrinogênio não diferiram entre os grupos laparotomia e laparoscopia²⁷. O fibrinogênio pode influenciar o processo de cicatrização na adesão e proliferação de células endoteliais e de outros tecidos em processo de cicatrização.

A albumina diminui no pós-operatório de operações de médio e grande porte. Há redução também da síntese de ferritina no estado pós-operatório²⁸. A albumina é a proteína extracelular mais abundante. Ela é sintetizada no fígado possui vida média de 20 dias²⁹. Operações de grande porte, como a colectomia, reduzem os valores séricos da albumina em humanos. Essa alteração é fenômeno natural, de adaptação orgânica à condição pós-operatória. A queda dos valores de albumina em humanos, já pode ser constatada desde o no primeiro dia pós-operatório. Após colecistectomia laparoscópica, os valores de albumina sérica não diferiram em comparação com a pacientes operados por via aberta.

Em operações de grande porte, como hepatectomias, valores plasmáticos baixos, de fibrinogênio, albumina, fósforo e colesterol indicaram mal prognóstico^{29,30}. Em operações de grande porte, os valores plasmáticos, pós-operatórios, aumentados de PCR, fibrinogênio, lactato e leucócitos totais, têm relação inversa com colesterol plasmático³¹.

A capacidade de ligação do ferro e o ferro sérico foram utilizados em animais para identificação de resposta orgânica pós-operatória. Há aumento de valor sérico dessas duas variáveis, tanto em cães, quanto em cavalos^{32,33},

porém retornam ao normal em sete dias. Em cavalos, parece que valores de ferro sérico diminuem no período pós-operatório, quando esses animais apresentam sinais clínicos prolongados de inflamação e infecção de ferida operatória. Alterações desses reagentes de fase aguda, podem ter caráter diagnóstico ou prognóstico.

3.3 Efeitos imunitários e inflamatórios após operações colorretais laparoscópicas

O menor trauma cirúrgico do acesso laparoscópico acompanha-se de menor resposta inflamatória em comparação com a via laparotômica³⁴. A resposta inflamatória resulta da interação dos sistemas neuroendócrino, imunitário e metabólico, com a produção de mediadores pró-inflamatórios, que irão promover a ativação de mecanismos de defesa orgânica. A presença de proteínas de fase aguda e de citocinas na circulação sanguínea reflete a ativação dessa resposta³⁵. Uma resposta inflamatória menor ao trauma aponta possível benefício dessa via de acesso na resposta imune sistêmica. Nem todos os parâmetros estudados são preservados na operação laparoscópica, mas boa parte dos trabalhos aponta para a manutenção do sistema imune^{36,37}.

A agressão operatória provoca distúrbios sistêmicos mediados pelos fenômenos de adaptação orgânica à nova condição pós-operatória. Algumas variáveis são usadas para medir a resposta sistêmica ao trauma operatório, como citocinas, proteínas de fase aguda, medida das subpopulações de células T ou expressão de complexos de histocompatibilidade em células apresentadoras de antígeno^{34,35,36}. A imunidade celular consiste na defesa não específica e na defesa antígeno-específica do hospedeiro. A primeira delas emprega células *natural killer*, granulócitos, monócitos/macrófagos, todos

fazendo parte de uma reação inicial a patógenos. A segunda defesa é representada pelos linfócitos T e envolve uma reação imune mais durável. A classificação desses linfócitos tem como referência um marcador imunitário que os diferencia, a exemplo de CD4 e CD8. Esses métodos de avaliação não serão abordados nesta pesquisa.

Proteínas de fase aguda caracterizam-se por concentração no plasma que aumenta ou diminui em torno de 25% durante algum processo inflamatório³⁸. Elas são produzidas pelos hepatócitos, a exemplo da proteína C reativa, cujos valores máximos são inespecíficos e aumentam até 1000 vezes entre 24 horas e 72 horas após o ato operatório e podem manter-se altos por duas semanas³⁹. Essa reação dos hepatócitos é induzida por corticosteroides e citocinas, dentre elas, a IL-6 é a principal e por isso os valores de PCR e IL-6 são os mais frequentemente investigados no período pós-operatório.

Citocinas são polipeptídios sinalizadores intercelulares (rede sinalizadora ampla e complexa) produzidos por células ativas. A maioria tem várias fontes produtoras, múltiplos alvos e funções, após poucas horas do estímulo cirúrgico e são os primeiros estimuladores de produção das proteínas de fase aguda. Essas citocinas incluem a IL-6, IL-1, fator de necrose tumoral (alfa), interferon gama e IL-8. Elas são produzidas por diversos tipos celulares, principalmente macrófagos e monócitos no local da inflamação. Na prática clínica, não há medida para os valores séricos de citocinas, visto a sua meia-vida curta, alto custo e múltiplos fatores intervenientes. Um desses exemplos, é a presença de doença neoplásica metastática e também operações de magnitude diferentes⁴⁰. A identificação de valores aumentados de citocinas, chamadas proinflamatórias tais como IL-6, TNF-alfa, IL-1 beta, assim como os valores de

PCR têm sido relacionados à extensão e magnitude do procedimento operatório ou relacionados a presença de complicações^{41,42,43}.

Um estudo prospectivo e aleatório, em humanos, notou níveis altos de citocinas pro-inflamatórias (IL-6, IL-8, TNF-alfa) no fluido peritoneal em ambos os procedimentos aberto e laparoscópico para ressecção de câncer colônico. Em nível sérico, os valores de IL-6 e IL-8 foram menores no grupo de laparoscopia no período de duas horas após a operação laparoscópica. Esse estudo sugeriu que no ambiente intra-abdominal os dois acessos não mostraram diferença quanto a resposta ao trauma. Os valores de proteína C reativa foram mais altos no primeiro dia após a ambas operações e mantiveram-se altos até o quarto dia; não houve diferença entre as duas vias de acesso. Em outro estudo, TNF-alfa não se elevou após ambas operações e não houve diferença entre os grupos laparoscopia e laparotomia após ressecção de câncer de cólon. Os valores de proteína C reativa foram menores no grupo submetido a laparoscopia.

Valores de lactato e cortisol também foram avaliados em estudo sobre efeito imune da laparoscopia colorretal⁴⁴. O nível sérico de lactato e cortisol não mostrou variações pós-operatórias comparando ambas as técnicas. A proteína C reativa retornou a valores normais, precocemente no grupo colectomia por laparoscopia. Estudo feito por Kishi *et al*⁴⁵, mostrou valores menores de proteína C reativa e contagem de leucócitos após laparoscopia para ileocectomias em doentes com Crohn. Hildebrant *et al*⁴⁶ não notaram diferença em relação a IL-6 e IL-10 ou PCR no pós-operatório de pacientes com doença de Crohn submetidos a comparação com as duas vias de acesso. Schwenk *et al*, também encontraram maior aumento de IL-6 e proteína C

reativa no pós-operatório de colectomia aberta em relação laparoscópica⁴⁷. Um ensaio clínico com 200 pacientes, observou que não houve benefícios imunológicos ou inflamatórios com a laparoscopia colorretal⁴⁸. Esses autores usaram como parâmetros a contagem de linfócitos B, linfócitos T, proporção de CD4:CD8 e contagem de células *natural Killer*. Todas essas variáveis foram comparadas até o terceiro dia após a operação.

Em estudos não aleatórios, encontraram-se valores aumentados de IL-6 e PCR nas primeiras horas e primeiro dia após ressecção de tumores de cólon por via aberta⁴⁹. Evans *et al.* mostraram que a queda da porcentagem de linfócitos, produzida pelo trauma operatório, é recuperada a partir do quinto dia pós-operatório no grupo laparoscopia⁵⁰. O percentual de monócitos tem queda semelhante em ambos os grupos após três horas do término da operação. Os valores de IL-6 também são menores no grupo laparoscopia três horas após a operação. Vinte e quatro horas e cinco dias após a operação os valores de IL-6 não diferiram entre os grupos. Valores séricos de IL-10 não variaram nesse trabalho. Harmon *et al.* mostraram que valores séricos de IL-1 e cortisol não diferiram após colectomia por laparotomia ou laparoscopia, além disso os valores de IL-6 foram mais baixos nas primeiras 24 horas pós-operatórias laparoscópicas.

Em ratos, Kuntz *et al.* compararam ressecção colônica por diferentes vias de acesso e encontraram níveis de PCR e contagem global de leucócitos mais baixos no grupo laparoscopia⁵¹. Em cães, Johnson *et al.* notaram aumento de IL-6 na laparotomia para colectomia em relação à laparoscopia⁵².

Tanto em estudos com animais quanto em humanos há elevação de IL-1 e IL-6 além de PCR após os atos operatórios. Os estudos em animais

permitiram maior controle de variáveis estudadas, por outro lado, podem não representar os resultados em humanos. O benefício inflamatório e imunitário da via laparoscópica precisa ser melhor esclarecido.

3.4 Sistema Mononuclear Fagocitário

Os monócitos têm sua origem na medula óssea. Os monócitos entram na corrente circulatória, na qual constituem cerca de 1% a 3 % dos glóbulos brancos e sua vida média é de 8 a 10 horas⁵³. Após penetrarem nos tecidos, sofrem transformações; passando a ser denominados macrófagos. Os macrófagos são células especializadas em fagocitose. Conforme os órgãos, o macrófago recebe nomes diferentes. No fígado, são denominados células de Kupffer, e nos pulmões “macrófagos alveolares”. Os macrófagos têm como função imunitária além da fagocitose, a apresentação de antígenos para os linfócitos T e linfócitos B, secreção de fatores inflamatórios e enzimas, ação tumorocida e modulação da resposta imune. Apresentam, em sua superfície, numerosos receptores e moléculas de adesões celulares; assim como receptores para os diversos componentes do sistema de complementos. É também uma célula rica em enzimas proteolíticas, além de ser capaz de produzir componentes do sistema inflamatório do complemento, interferon α e β e interleucinas. Em humanos, o baço é o órgão que apresenta maior quantidade de macrófagos por grama de tecido, embora o fígado contenha mais macrófagos devido à sua maior massa.

Os órgãos linfoides primários são a medula óssea e o timo. Os órgãos linfoides secundários são o baço, pulmão, fígado, nódulos linfáticos e placas de Peyer, e esses órgãos são responsáveis por iniciar a resposta imune. Os macrófagos são células especializadas em apresentar antígenos e fazem do

baço o principal órgão envolvido no início da resposta imune⁵⁴. A eficácia de depuração pelos macrófagos fixos em cada órgão é dependente de fatores como fluxo sanguíneo, integridade das células do SMF, presença de opsoninas, tamanho das partículas, número e características das superfícies das partículas⁵⁵.

Partículas introduzidas no sistema circulatório não são removidas do sangue por macrófagos circulantes. Macrófagos do fígado, baço e pulmão são responsáveis pela depuração sanguínea. Esses, após operações abdominais produzem fator de necrose tumoral alfa e IL-6⁵⁶.

O fígado é o maior órgão linfóide do organismo sendo este o principal local das respostas imunes a antígenos originados no sangue. O fígado é o órgão com maior capacidade de depuração sanguínea de substâncias coloidais e bactérias, seguido pelo baço, que remove principalmente substâncias coloidais, enquanto o pulmão é o principal órgão para depuração de bactéria do sangue. Fígado, pulmão e baço contêm mais de 95% da quantidade total de macrófagos do SMF^{57,58}. Como a medida da captação bacteriana nos demais órgãos do SMF – placas de Peyer, medula óssea e linfonodos- não é rotineiramente factível, realiza-se a mensuração da captação nos órgãos principais, acrescidos do remanescente no sangue. O fígado é o órgão com maior participação na depuração sanguínea⁵⁹. O baço é responsável por 25% a 30 % da depuração sanguínea realizada pelo SMF e apresenta o segundo maior índice fagocitário dentre os órgãos dos SMF^{60,61,62,63}.

No baço, a polpa vermelha é o local onde os monócitos transformam-se em macrófagos. A polpa vermelha, age como um filtro, removendo partículas indesejadas da circulação pela ação dos macrófagos. A polpa branca é uma

parte menor do órgão e contém os nódulos linfáticos responsáveis pela produção de linfócitos⁶⁴. Em humanos, a função do baço como órgão linfático é verificada pela ação dos macrófagos, especializados em remover hemácias envelhecidas ou alteradas e plaquetas. O estudo do SMF, atualmente, dá-se mediante a remoção de partículas coloidais, marcadas com radionuclídeos. Coloides são suspensões de partículas de tamanhos entre um nanômetro e cinco micrômetros. Desse modo, as cintilografias com coloides mostram o fígado, baço, e por vezes medula óssea e pulmões. Uma vez fagocitados, esses coloides marcados têm meia-vida efetiva igual à meia-vida física do radionuclídeo utilizado. O método nuclear foi importante quando desejou-se uma avaliação funcional de órgãos e sistemas. Existem vários métodos para avaliar-se a função fagocitária do SMF. Utilizou-se coloide sulfuroso marcado com tecnécio, carbono coloidal, bactérias marcadas com tecnécio, dentre outros^{57,61}. Estudos com ratos auxiliaram no entendimento sobre os mecanismos de defesa e fagocitose dos órgãos do SMF em animais submetidos a pneumoperitônio com gás carbônico. O modelo murinho mostrou evidências de supressão da atividade fagocitária quando o animal foi exposto ao pneumoperitônio com CO₂^{65,66}.

Pesquisadores, do Departamento de Cirurgia, da Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Minas Gerais, publicaram vários estudos sobre o sistema mononuclear fagocitário^{67,68,69,70,71,72,73,74,75,76,77,78,79}. Em 1992, Petroianu e colaboradores mostraram que dois coloides administrados concomitantemente bloqueiam a fagocitose um do outro. O grupo que recebeu carbono coloidal teve subtração de imagem na cintilografia de baço e fígado. Petroianu e cols, em 1991, e Marques e cols, em 2002, comprovaram que o

transplante autógeno esplênico preservava a função fagocitária do baço. O método utilizou bactéria marcada com tecnécio. O número de bactérias que permaneceu na corrente sanguínea foi maior no grupo esplenectomizado. Acredita-se que a depuração de bactérias possa constituir método mais complexo que a depuração de substâncias coloidais, fornecendo indícios mais seguros da atividade fagocitária dos órgãos do SMF^{67,68}.

A participação dos órgãos do SMF na fagocitose da bactéria parece diferir daquela observada com substâncias coloidais. A preservação do implante autógeno esplênico, e da função do remanescente esplênico, resultaram da avaliação da capacidade do SMF em fagocitar partículas ou bactérias^{68,77}. O estudo da esplenectomia total isolada ou combinada com implante esplênico, a influência da ooforectomia e da gravidez na função fagocitária, a influência das operações sobre o baço na fagocitose bacteriana por macrófagos são também estudos experimentais, em modelos animais, que auxiliaram no entendimento do funcionamento do SMF sob a influência daquelas variáveis^{75,77,78}.

Dentro dessa linha de pesquisa, este estudo propõe uma avaliação dos reagentes de fase aguda, fagocitose do SMF (fígado, baço e pulmão) após um grupo de animais ser exposto a laparotomia ou laparoscopia combinada com colectomia esquerda.

4. OBJETIVO

- Comparar valores hematológicos, bioquímicos e reagentes de fase aguda, no pós-operatório de colectomia por laparotomia e por laparoscopia.
- Comparar a fagocitose por macrófagos dos órgãos do sistema mononuclear fagocitário após colectomia por laparotomia e por laparoscopia.
- Verificar se há diferença na resposta inflamatória pós-operatória de colectomia por laparotomia e por laparoscopia.

5. RELEVÂNCIA

A colectomia por laparoscopia provoca menor agressão à parede abdominal do que a laparotomia. É necessário verificar se, essa agressão menor, induz menor resposta ao trauma. Cabe ainda ressaltar a importância da menor agressão à parede abdominal na resposta imunitária em operações de grande porte, visto a colectomia laparoscópica ter ampla utilização nos dias atuais.

Existem reagentes de fase aguda, valorizados em pesquisas em animais, cujas alterações séricas pós-operatórias devem ser conhecidas. A partir do conhecimento fisiopatológico desses reagentes em animais, eles poderão tornar-se marcadores úteis em estudos com humanos

O menor trauma na parede abdominal pode produzir menor repercussão metabólica nas células e órgãos do sistema mononuclear fagocitário. Estudos que avaliem o comportamento das células fagocitárias, e o produto dessas células ativadas, poderão mostrar benefícios das operações minimamente invasivas.

6. MATERIAL E MÉTODOS

6.1 Ética

Este trabalho foi aprovado pelo Comitê de Ética em Experimentação Animal da UFMG, sob o registro 6/2008 (Apêndices).

6.2 Animais e cuidados

Os animais foram provenientes da Fazenda Veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais. Estudo realizado no Biotério do Hospital Veterinário da UFMG.

Utilizaram-se suínos *Sus scrofa domesticus*, fêmeas, saudáveis, que permaneceram em espaço apropriado, com cinco animais por baia, sendo oferecida água e ração à vontade. Todos os suínos foram inspecionados por médico veterinário, para verificar se estavam saudáveis, por período mínimo de sete dias. Os animais foram pesados imediatamente antes da operação. As amostras de sangue foram colhidas, em animais não operados, nos animais operados nos momentos duas horas após a operação e no terceiro dia pós-operatório. Não se utilizou antimicrobianos em período algum do tratamento operatório. Não se utilizou preparo mecânico intestinal. No dia anterior à operação foi oferecida apenas dieta líquida.

Os suínos foram distribuídos em cinco grupos de acordo com o protocolo seguinte:

Grupo A (n = 5): Controle - animais não operados.

Grupo B (n = 5): Animais submetidos a colectomia esquerda por laparotomia .

Grupo C (n = 5): Animais submetidos a laparotomia apenas.

Grupo D (n = 8): Animais submetidos a colectomia esquerda por laparoscopia.

Grupo E (n = 5): Animais submetidos a laparoscopia apenas.

No grupo D, dois animais morreram durante o experimento, um deles no segundo dia pós-operatório em decorrência de isquemia na anastomose, o outro foi morto, após ter sido lesado o intestino grosso, durante a manipulação do grampeador circular, ao final do procedimento laparoscópico.

A idade dos suínos variou entre 10 e 12 semanas. Cada animal foi identificado por meio de marca em sua orelha direita (Fig. 1)



Figura 1: Suíno fêmea, com identificador em orelha direita

6.3 Ato Anestésico

A medicação pré-anestésica foi administrada por via intramuscular: midazolan 0,3 mg/kg (ampola 15mg/3ml, Dormonid®, Roche); meperidina 3mg/kg (cloridrato de petidina ampola 100 mg/2ml, Dornot ®, Bioquímico); quetamina 6mg/kg (ampola de 500mg/10ml, Vetanacor®) . As três medicações foram administradas na mesma seringa, com volume total de 4 ml (1 ml de midazolan, 1 ml de meperidina, e 2 ml de quetamina). Após um minuto e três

minutos da administração dessa medicação os animais passaram a ter deambulação vacilante, taquicardia e deitavam-se, com diminuição quase completa da vocalização. Sob sedação, cada suíno foi pesado.

Após 15 minutos, realizou-se a cateterização com jelco número 20 em veia dorsal da orelha, e infusão de sete ml de propofol (ampola 100 mg/10ml, Diprivan®, AstraZeneca) para indução da anestesia. O animal foi intubado por médico veterinário com tubo endotraqueal número quatro, este foi conectado a fonte de O₂ e fonte de isoflurano (Fig. 2). A manutenção da anestesia foi feita com isoflurano combinado com oxigênio a um litro por minuto. Todos os suínos permaneceram em ventilação espontânea durante os procedimentos por laparotomia ou laparoscopia.



Figura 2: Material para anestesia : unidade ventilatória, recipiente cal sodada (seta), recipiente isoflurano (asterisco), cilindro de oxigênio.

O animal foi colocado na posição supina, com contenção das quatro patas. Para laparoscopia, manteve-se declive de 20 graus, cefálico, da mesa

operatória (posição de Trendelenburg). Para hidratação venosa utilizou-se solução salina estéril a 0,9%, a 10 ml/kg/h.

6.4 Ato Operatório

Todos os animais do grupo B e C foram submetidos a laparotomia mediana com 18 cm de extensão, da região medioumbilical até próximo do púbis (Figura 3).



Figura 3: Visão ventral do abdome de suíno fêmea, linha azul marca a extensão da incisão de 18 cm, no abdome, para laparotomia com e sem colectomia esquerda (Grupo B e C).

Um segmento de aproximadamente 8 cm de cólon sigmoide foi retirado somente no Grupo B da seguinte forma:

- identificação de bifurcação da artéria e veia mesentéricas caudais, ramo proximal e distal (Fig 4).

- Secção de segmento de ramificação distal desta artéria e da veia após ligadura com fio de seda 2-0.
- Ressecção do segmento colônico de 8 cm
- A anastomose feita com sutura manual contínua, utilizando fio de seda 3-0.

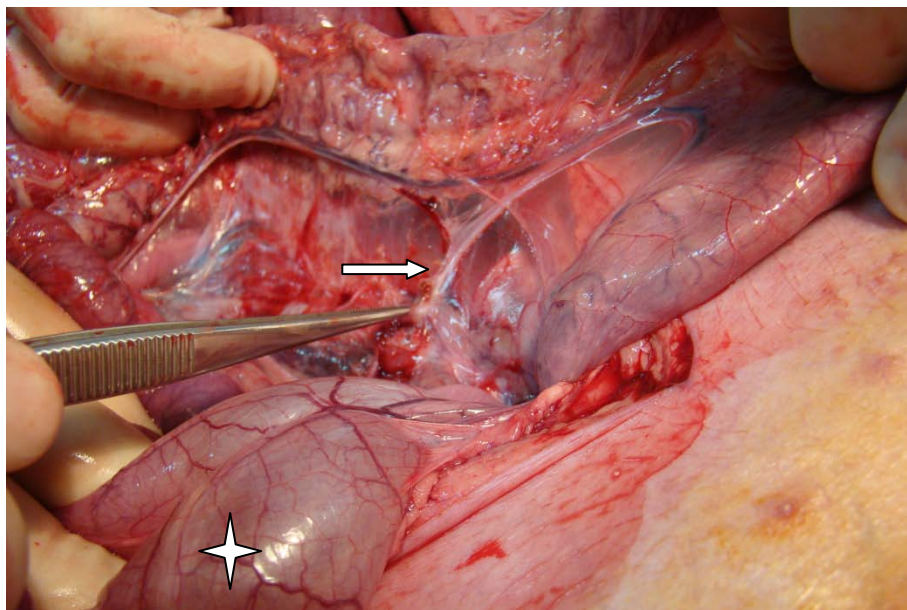


Figura 4: Identificação de artéria e veia mesentérica caudal (seta), bexiga (asterisco) do Suíno 6 (Grupo B)

A laparoscopia foi realizada com o primeiro trocarte (Ethicon®) posicionado aproximadamente 4 cm acima da cicatriz umbilical, na linha mediana (Fig 5). Realizou-se incisão de um centímetro da pele até o peritônio e o trocarte foi posicionado, sob visão direta na cavidade abdominal. Insufiou-se dióxido de carbono, no abdome, com pressão de 10 mmHg. Posicionou-se um trocarte de 12 mm em fossa ilíaca direita, um trocarte de 5 mm em flanco direito e outro de 5 mm em fossa ilíaca esquerda. Utilizou-se uma óptica de 30 graus com 10 mm de diâmetro.

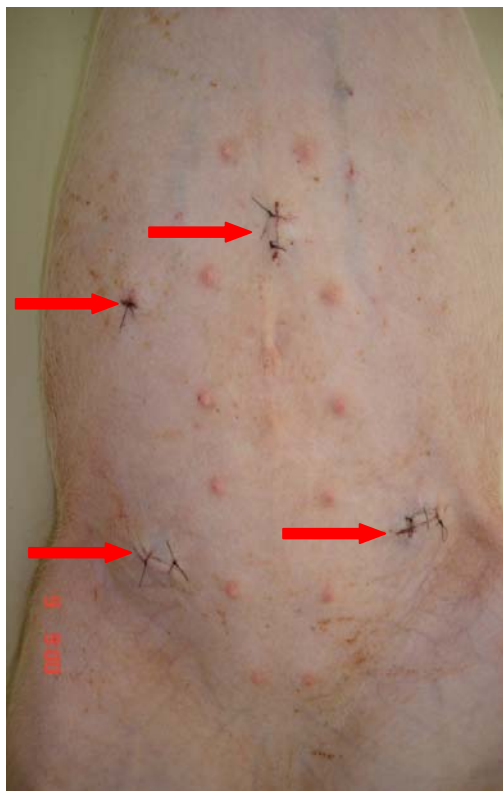


Figura 5: Quatro incisões para laparoscopia com ou sem colectomia esquerda. Seta no local dos trocartes (Grupo D e E).

- A colectomia iniciou com a identificação de artérias e veias mesentéricas caudais.
- Foram utilizados cliques de número 300 (Ethicon®) para hemostasia dos vasos. As incisões foram feitas com tesoura curva conectada a eletrocautério.
- A pinça de apreensão da fossa ilíaca esquerda expôs o cólon sigmoide e os vasos sanguíneos.
- Para a secção intestinal utilizou-se um endogrampeador laparoscópico linear cortante de 45 mm (Covidien®, New Jersey, USA).
- O segmento de cólon foi exteriorizado pela fossa ilíaca esquerda (Fig 6) com aumento da incisão da pele do portal de 5 mm para 25 mm. Através dessa incisão retirou-se o intestino grosso, de tamanho similar ao grupo

laparotomia. Uma ogiva de endogrampeador intraluminal circular número 21 (Ethicon®) foi posicionado dentro da extremidade proximal do cólon (Fig 7) e reinserido no abdome.

- Esta incisão foi fechada, e a conexão da ogiva foi realizada com o grampeador introduzida pelo ânus do animal. A anastomose foi realizada sob visão laparoscópica (Fig 8).



Figura 6: Sigmoide exteriorizado na fossa ilíaca esquerda do suíno (Suíno 16, Grupo D).

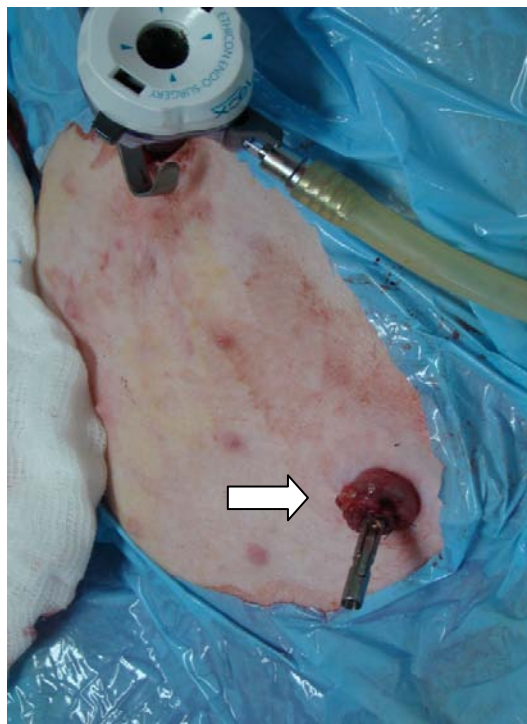


Figura 7: Ogiva (seta) do endogrampeador circular intraluminal número 21, posicionada no cólon descendente após sigmoidectomia (Suíno 16, Grupo D).

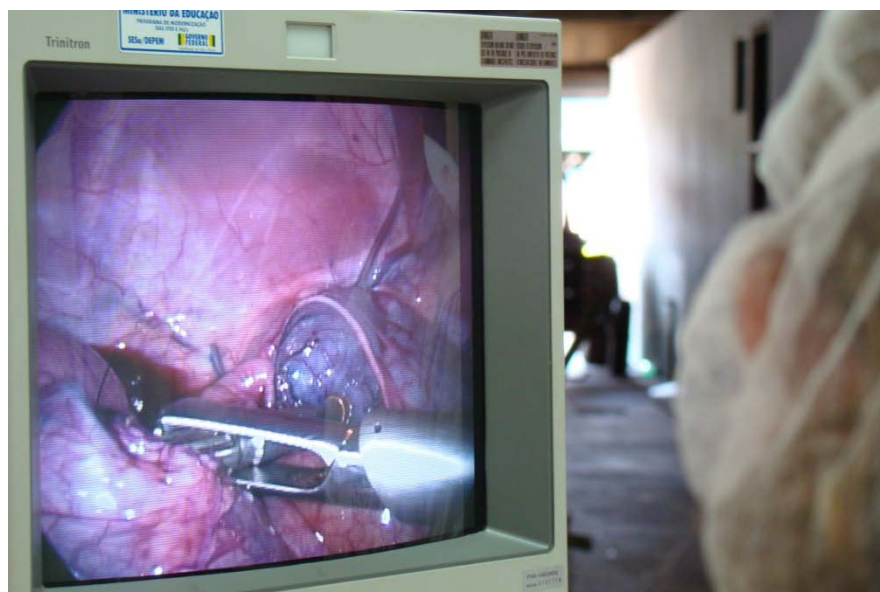


Figura 8: Visão do televisor, no momento em que a ogiva foi conectada ao grampeador circular intraluminal, para anastomose mecânica colorretal intracorpórea. (Suíno 16, Grupo D)

Após cerca de 50 minutos do término da operação, os animais começavam a despertar. Após duas horas do término da operação foi colhida a

primeira coleta de sangue. Cerca de quatro horas após a operação deambulavam, alimentavam e tinham micção espontânea.

O tempo médio operatório do grupo B (colectomia por laparotomia) foi de 40 minutos. O grupo C (simulado para laparotomia) foi submetido a laparotomia e permaneceu com abdome aberto durante 40 minutos. O tempo operatório iniciou com a incisão de pele, estendendo-se até o último ponto de síntese de pele. O tempo médio operatório dos grupos D (colectomia por laparoscopia) foi de 80 minutos. O grupo E (simulado para laparoscopia) foi submetido a incisão de pele para passagem dos trocartes e insuflação de pnemoperitônio. O tempo operatório foi avaliado do mesmo modo dos grupos anteriores. Após a operação, os animais receberam analgesia com tramadol intramuscular, de 12 em 12 horas, durante 48 horas.

6.5 Morte e Reoperação dos Animais

No terceiro dia após a operação, os animais foram anestesiados, houve coleta de sangue e infusão de carbono coloidal (tinta nanquim estéril a 1%) na veia periférica da pata dianteira. Após 30 minutos da infusão, os animais foram laparotomizados e realizou-se biopsia de fígado, baço e biopsia do lobo inferior do pulmão esquerdo. Essas amostras de tecido foram imersas em solução de formaldeído a 10%.

Os animais foram anestesiados com o dobro da dose inicial de medicações anestésicas e a morte foi provocada por secção da aorta abdominal e exsanguinação.

6.6 Variáveis estudadas

Foram avaliadas as seguintes variáveis:

- peso dos animais
- hemoglobina, hematócrito, leucócitos totais, monócitos (valor absoluto e percentual)
- pH, PCO₂, HCO₃, sódio, lactato
- fibrinogênio, albumina.
- interleucina 6
- capacidade total de ligação do ferro, ferro sérico, lactato desidrogenase (LDH), creatina quinase (CK).
- Colesterol total, creatinina
- Fagocitose por macrófagos em baço, pulmão e fígado

A gasometria foi medida imediatamente após a retirada da amostra de sangue, utilizando cartuchos descartáveis (EC8+, Abbot, Illinois, EUA) apropriados para aparelhagem automática (I-Stat, Abbot, Illinois, EUA). Os valores de gasometria foram avaliados somente duas horas após a operação.

As amostras de sangue foram colhidas em frascos com EDTA e preparadas para avaliação do plasma. Essas variáveis foram avaliadas duas horas após a operação e no terceiro dia após a operação, utilizando o aparelho de análises clínicas Cobas Mira (Roche, EUA) para avaliações bioquímicas e o aparelho Abaccus Junior Vet (Diamond Diagnostics, Massachusetts, EUA) para avaliação de hemograma.

As amostras de sangue para fibrinogênio foram coletadas em frasco com EDTA, centrifugado a 10.000 rpm para coleta do plasma. A leitura foi realizada em refratômetro manual.

6.7 Citocinas

A dosagem da citocina foi feita por coleta de amostras de 3 ml de sangue periférico. O sangue foi armazenado em tubo seco para interleucina seis. O material coletado foi centrifugado a 3.000 rpm durante cinco minutos. Após a centrifugação, o plasma foi armazenado em tubos de Eppendorf e estocados a - 70^o C, para dosagem posterior. As concentrações séricas foram obtidas utilizando o kit Quantikine[®] respectivo (R& D systems, Minneapolis, EUA).

6.8 Carbono Coloidal

O carbono coloidal utilizado neste trabalho foi tinta Nanquim, que é constituída por carvão da fumaça combinado com goma arábica, água e essência de perfume. Com vista ao perfeito conhecimento dessa solução, nesta pesquisa, a tinta Nanquim (Pelikano), foi completamente desidratada em estufa de esterilização a 200 graus. A pasta composta por carvão e goma arábica foi diluída em água bidestilada até alcançar uma solução de um litro com concentração 1%.

O carbono coloidal esterilizado foi administrado por via endovenosa no terceiro dia pós-operatório, em todos os animais, utilizando uma veia da pata dianteira. Foi injetado 1 ml da solução por 1000 g de peso do animal. Após 30 minutos foram colhidos fragmentos de tecido hepático, esplênico e pulmonar. Logo após essa coleta os suínos foram mortos.

Os tecidos hepáticos, pulmonares e esplênicos foram processados para estudo histológico. Esses fragmentos de tecido foram incluídos em parafina. Depois, foram feitos cortes de cinco micra de espessura e processados para fixação em lâmina de microscópio.

6.9 Análise histológica do Material

O exame histológico foi realizado com microscópio binocular comum. Utilizaram-se duas colorações, hematoxilina e eosina, para estudo morfológico, e verde luz, para contagem dos macrófagos que continham os pigmentos negros de carbono. A função fagocitária foi verificada pela contagem de macrófagos que continham partículas de carbono coloidal (Fig 9, Fig 10, Fig 11). A contagem de macrófagos foi feita em dez campos consecutivos do microscópio óptico, com aumento de 400 vezes. O campo inicial foi aleatório. Somente foram contados os macrófagos localizados nos tecidos. Os macrófagos dos vasos sanguíneos não foram incluídos (Fig 12). Um único patologista analisou as lâminas, sem conhecer a qual grupo pertencia cada lâmina. Para cálculo estatístico considerou-se a média de macrófagos contendo carbono coloidal encontrada nesses campos em cada órgão do animal. A porcentagem também foi considerada somando todos os valores de macrófagos encontrados no baço, pulmão e fígado como sendo 100% da fagocitose do animal. Para avaliação da fagocitose foram analisados os valores absolutos de macrófagos no baço, pulmão e fígado e a porcentagem desses macrófagos em cada um desses órgãos.

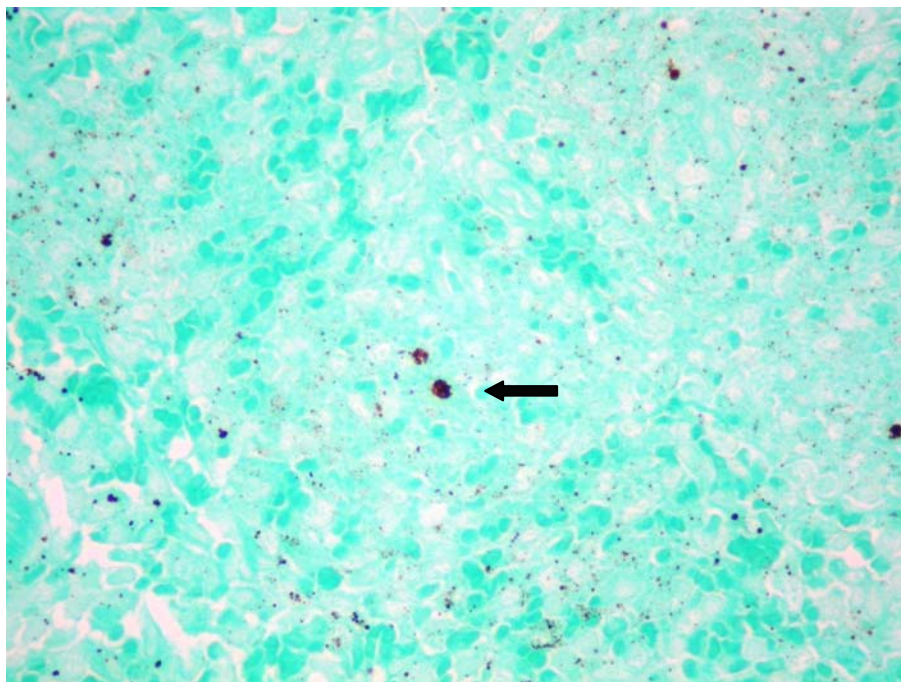


Figura 9: Fotomicrografia mostrou aspecto histológico do baço, coloração verde luz, aumento 400X. Macrófago após fagocitose de partículas de carbono (seta). Suíno 1 do Grupo A.

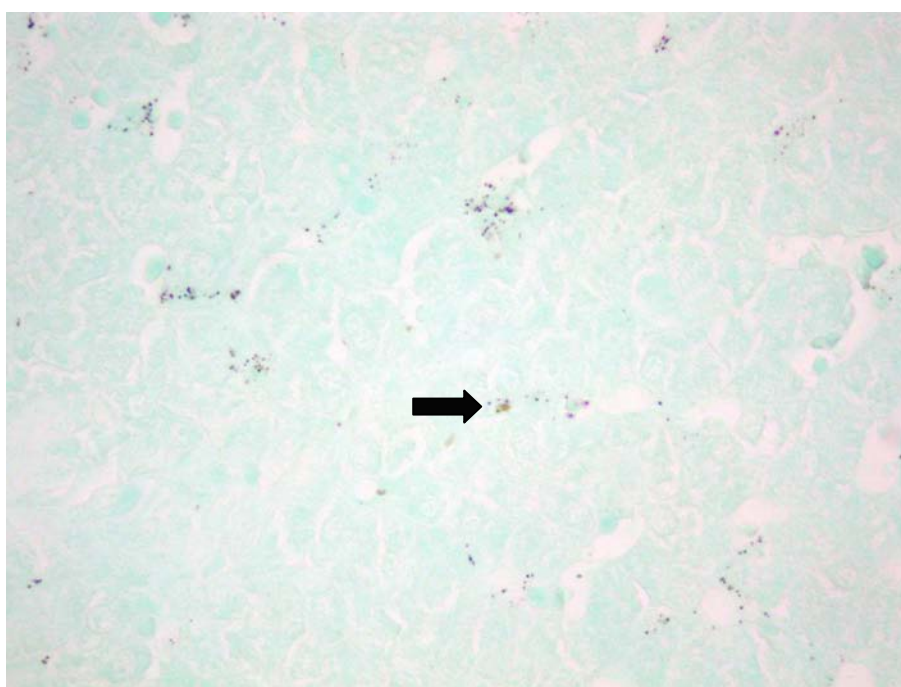


Figura 10: Fotomicrografia mostrou aspecto histológico do fígado, coloração verde luz, aumento 400X. Macrófago após fagocitose de partículas de carbono (seta). Suíno 1 do Grupo A.

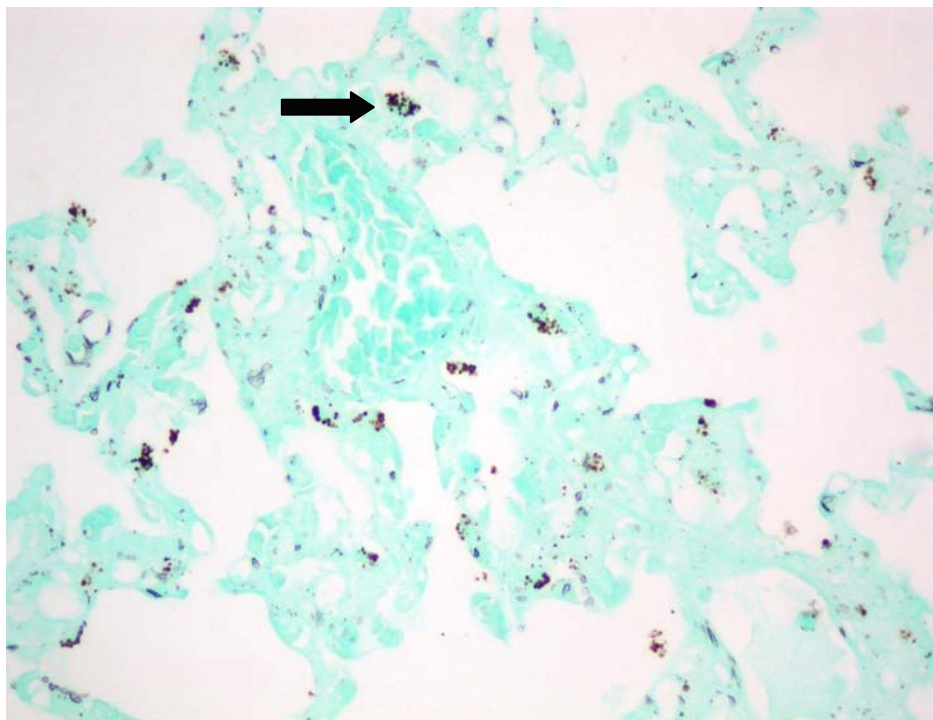


Figura 11: Fotomicrografia mostrou aspecto histológico do pulmão, coloração verde luz, aumento 400X. Macrófago após fagocitose de partículas de carbono (seta). Suíno7 do Grupo B.

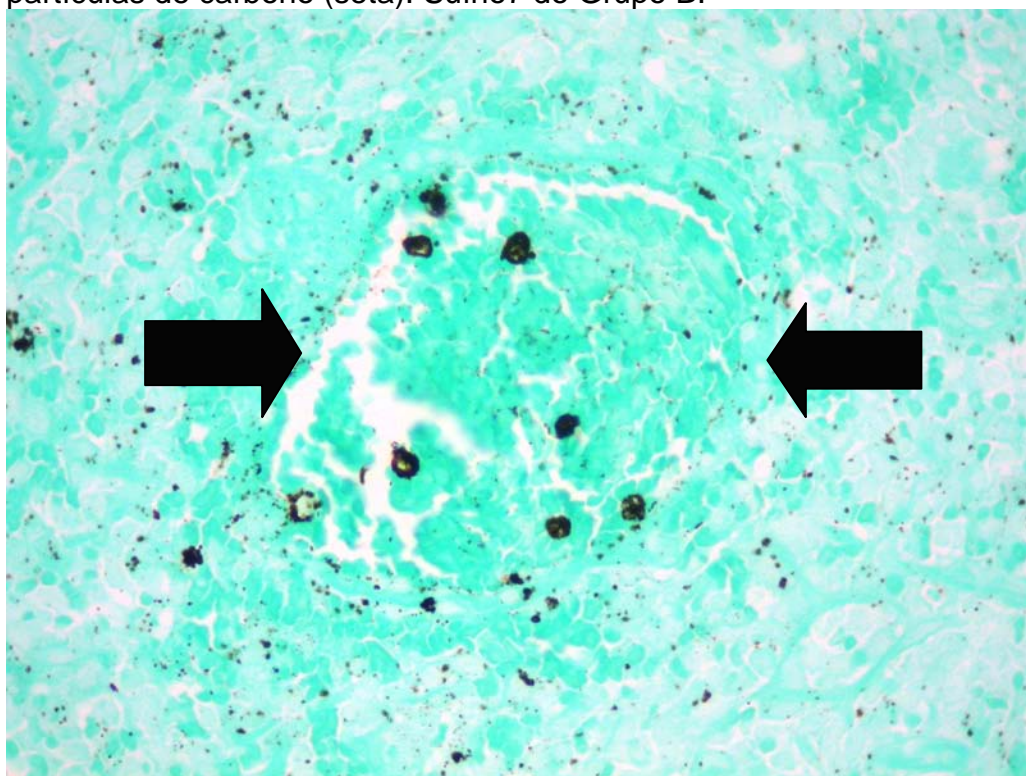


Figura 12: Fotomicrografia mostrou aspecto histológico do baço, coloração verde-luz, aumento 400X. Macrófago após fagocitose de partículas de carbono, dentro do vaso sanguíneo (setas). Suíno 1 do Grupo A.

6.10 Estatística

O banco de dados foi confeccionado no programa de computador Excel®. As análises foram realizadas utilizando o programa *software* R, de domínio público. O nível de significância adotado correspondeu a p menor que 0,05.

As comparações entre as características quantitativas e os grupos foram realizadas por meio do teste F para análise de variância (ANOVA) se a suposição de normalidade foi atendida. Caso contrário foi utilizado o teste Kruskal-Wallis. A suposição de normalidade foi verificada pelo teste de Shapiro-Wilk⁸⁰.

Inicialmente compararam-se as variáveis entre os cinco grupos. Essa comparação foi feita duas horas após a operação e terceiro dia pós-operatório. Ao constatar-se diferença entre os grupos, localizavam-se os grupos diferentes entre si, por meio do teste de Mann-Whitney.

Pelo risco de aumentar erro tipo I, aplicou-se o método de Bonferroni e de Tukey quando necessário. Foram construídos, gráficos para ilustrar a diferença significativa entre grupos com valor correspondente a p menor que 0,05.

Uma segunda etapa de avaliação estatística foi realizada com a comparação, no mesmo grupo, das características entre os períodos duas horas e três dias após a operação. O objetivo foi verificar se, para cada grupo, havia alteração nos valores com o passar do tempo. Essa avaliação chama-se amostra pareada. Assim, caso a suposição de normalidade fosse satisfeita foi aplicado o teste t pareado. Caso contrário foi utilizado teste de Wilcoxon.

7. RESULTADOS

O peso dos animais foi avaliado no dia da operação . O peso médio, entre todos suínos, foi $16,0 \pm 2,8$ kg. Após pesagem dos animais no pré-operatório imediato notou-se que o peso do grupo D foi maior que do Grupo C (Fig 13).

Dois animais foram mortos no grupo colectomia por laparoscopia. A morte do animal no Grupo D foi justificada por uma lesão extensa na região da anastomose, secundária a manipulação inadequada do grampeador circular intestinal. O outro suíno, que morreu no segundo dia pós-operatório, foi submetido a avaliação da cavidade abdominal. Notou-se área de isquemia em segmento aproximado de 2,0 cm de circunferência, junto a anastomose.

Em todos os animais que viveram até o final do experimento não se notou processo infeccioso de parede ou cavidade abdominal.

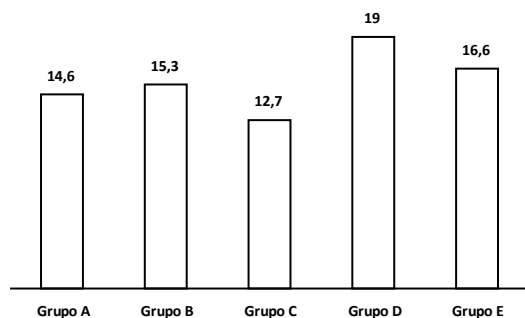
7.1 Períodos de avaliação pós-operatória

Na avaliação entre os grupos os animais foram avaliados nos momentos duas horas de pós-operatório e terceiro dia após a operação.

Na avaliação de amostra pareada, tentou-se perceber alguma variação em cada grupo comparando-se os dois momentos pós-operatórios.

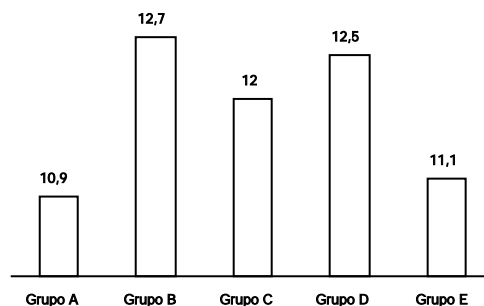
7.1.1 Duas horas após a operação

Para hemoglobina (Fig 14) observou-se que o Grupo B teve valores maiores que o Grupo A.



P < 0,001

Figura 13: Gráfico das médias dos valores referentes ao peso (quilogramas).



P < 0,01

Figura 14: Gráfico das médias dos valores referente à hemoglobina (g/dl).

- A - Controle
- B - Colectomia laparotomia
- C - Simulado Laparotomia
- D - Colectomia laparoscópica
- E - Simulado laparoscopia

No exame de gasometria os valores de sódio, ph, pCO₂ e HCO₃⁻ não mostraram diferença entre os grupos (Tab 1).

Tabela 1: Comparação entre os grupos para gasometria duas horas do pós-operatório.

Grupos	A		B		C		D		E		p
	média	dpm	média	dpm	média	dpm	média	dpm	média	dpm	
Gasometria											
sódio (mEq/l)	131,2	3,3	127,6	6,0	121,6	9,6	123,9	11,7	123,4	6,1	0,265 ²
pH	7,36	0,1	7,34	0,1	7,45	0,1	7,32	0,1	7,36	0,1	0,991 ²
pCO ₂	38,7	1,7	46,3	3,7	36,0	6,3	45,3	13,6	35,1	6,8	0,109 ¹
HCO ₃ ⁻	22,1	2,1	25,3	3,0	20,5	4,6	23,7	6,1	19,8	2,0	0,221 ¹

1: Teste F (Anova); 2: Kruskal-Wallis; dpm: desvio-padrão da média
 A - Controle, B – Colectomia laparotomia, C - Simulado Laparotomia
 D – Colectomia laparoscópica, E - Simulado laparoscopia

Os valores de albumina, fibrinogênio, creatinina, lactato, CK, LDH, leucócitos totais, monócitos e percentual de monócitos, colesterol total, ferro e

capacidade total de ligação do ferro (CTLF) e creatinina, não diferiram entre os grupos no momento duas horas após a operação (Tab. 2).

Tabela 2: Comparação entre os grupos para as variáveis de interesse duas horas do pós-operatório.

Grupos	A		B		C		D		E		p
	média	dpm	média	dpm	média	dpm	média	dpm	média	dpm	
variáveis											
peso (kg)	14,6	1	15,3	1,2	12,7	1,2	19,0	1,8	16,6	2,5	0,001 ²
Hb (g/dl)	10,9	0,6	12,7	1,2	12	1	12,5	0,7	11,1	0,8	0,010 ¹
hematocrito	33,3	2	37	2,9	37,3	2,9	36,3	3,5	34,6	2,2	0,151 ¹
albumina(g/dl)	2,6	0,3	2,4	0,1	2,7	0,3	2,5	0,2	2,6	0,4	0,398 ²
Fibrinogênio (mg/dl)	279,6	217,2	119,2	45,2	149,3	100,5	216,5	98,6	219,8	109,8	0,241 ²
Lactato (mMol/l)	73,6	51,1	43,3	10,2	49,3	24,3	59,2	13,4	58,6	10,4	0,434 ¹
CK (U/l)	1.924	834	2.083	534	2.222	2.789	2.789	902	1.806	487	0,318 ¹
LDH(U/l)	219,8	53	250,2	51,3	332,8	156,5	298,7	107,9	233,1	165,7	0,778 ²
Leucócitos (cels/mm ³)	18.583	2.995	20.180	4.294	22.000	11.177	21.086	5.551	22.180	8.327	0,922 ¹
Monócito (cels/mm ³)	746	263	381	390	692	371	456	239	354	251	0,089 ²
monócito%	4	1,2	2	2,2	3	0,8	2,4	0,9	1,5	1	0,049 ²
colesterol total (mg/dl)	92,2	17,9	76	16,4	92,2	8,9	81	27,3	123	26,5	0,024 ¹
Ferro(mcg/ml)	157,8	29	43,6	14,7	73,2	39,5	111,3	80,4	149	53	0,065 ¹
CTLF(mcg/dl)	72,3	53,8	237,8	64,9	163,2	36,9	215	49	190,6	112,2	0,061 ¹
Creatinina (mg/dl)	1	0,2	1,4	0,4	1,2	0,5	1,1	0,3	1,1	0,2	0,113 ¹

1: Teste F (Anova); 2: Kruskal-Wallis; dpm: desvio-padrão da média.

Hb : hemoglobina, CTLF: capacidade total de ligação do ferro, CK creatino quinase, LDH lactato desidrogenase, % porcentagem

A - Controle, B – Colectomia laparotomia, C - Simulado Laparotomia, D – Colectomia laparoscópica, E- Simulado laparoscopia

Os valores de porcentagem de monócitos e colesterol total; não mostraram diferenças entre os grupos (Tabela A1 em Apêndices).

Para interleucina-6 apenas os grupos B e D tiveram valores

detectados pelo método e capazes de serem avaliados. Esses grupos não tiveram valores diferentes (Tab 3). Os Grupos A, C e E não tiveram valores detectáveis pelo método.

Tabela 3: Comparação da IL-6 entre o grupo B e Grupo D no momento 2 h após operação.

IL-6	n	média	dpm	Valor-p
Grupo B	5	249.6	142.4	0.670 ¹
Grupo D	6	317.0	313.0	

dpm: desvio padrão da média; 1: teste t Student
 Grupo B – colectomia laparotômica , Grupo D – Colectomia laparoscópica

7.1.2 Terceiro dia pós-operatório

Os valores de hemoglobina dos suínos dos grupos B e C foram maiores que os valores do Grupo E (Fig 15).

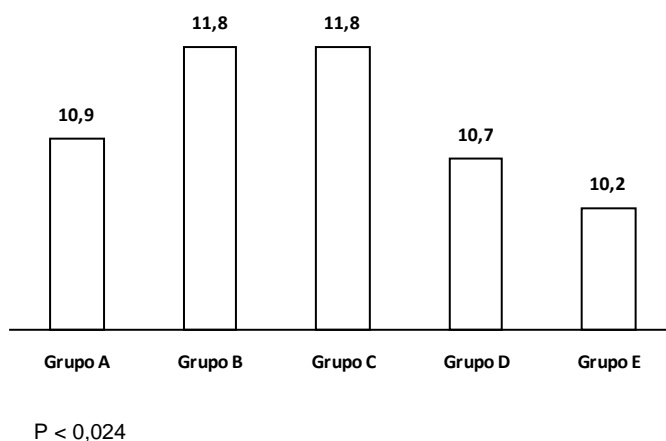


Figura 15: Gráfico das médias dos valores referentes à hemoglobina (g/dl) do 3º dia pós-operatório.

Os valores de albumina, lactato, fibrinogênio, creatinina, CK, LDH, leucócitos totais, monócitos (valor absoluto), colesterol total, ferro sérico e CTLF não foram diferentes entre os grupos no terceiro dia pós-operatório (Tab 4). As variáveis ferro e capacidade total de ligação do ferro não tiveram valores diferentes entre o grupos após serem avaliados pelos testes estatísticos específicos.

Tabela 4: Comparação entre os grupos para as variáveis de interesse três dias de pós-operatório.

Grupos	A		B		C		D		E		p
	média	dpm	média	dpm	média	dpm	média	dpm	média	dpm	
variáveis											
Hb(g/dl)	10,9	0,6	11,8	0,7	11,8	0,9	10,7	1,1	10,2	0,8	0,024 ¹
Hematócrito %	33,3	2	35,2	2,2	35,5	3,2	31	3,5	31,8	2,5	0,053 ¹
Albumina(g/dl)	2,6	0,3	2,4	0,2	2,6	0,2	2,7	0,4	2,4	0,3	0,487 ²
Fibrinogênio (mg/dl)	279,6	217,2	320	109,5	259,8	134,5	216,3	147,5	139,6	55,1	0,328 ²
Lactato(mMol/l)	73,6	51,1	85	41,5	56,8	16,8	62,6	20,6	45,2	13	0,357 ¹
CK(U/l)	1.924	834	1.093	758	1.098	503	1.424	1.224	922	548	0,371 ¹
LDH (U/l)	219,8	53	211	35,6	244,8	96,2	283,8	131,7	244	90	0,861 ²
Leucócitos (cels/mm ³)	18.583	2.995	26.020	2.480	18.380	2.615	23.770	9.189	26.200	5.367	0,071 ¹
Monócito (cels/mm ³)	746	263	347	175	372	169	499	403	755	425	0,173 ¹
monócito%	4	1,2	1,3	0,6	2	0,7	2	1,	2,8	1,5	0,027 ¹
colesterol total(mg/dl)	92,2	1,9	86,6	7,4	80,8	7,8	92,3	17,4	78,6	12,9	0,373 ¹
Ferro (mcg/ml)	157,8	29	133,4	17,5	42,2	49,9	105,6	42,4	90,2	92,2	0,026 ¹
CTLF (mcg/dl)	72,3	53,8	436,7	36,5	150	52,6	161,5	29	177,8	27,4	0,022 ²
Creatinina mg/dl	1	0,2	0,7	0,3	0,8	0,3	1,1	0,2	0,9	0,2	0,252 ¹

1: Teste F (Anova); 2: Kruskal-Wallis; dpm: desvio padrão da média

Hb : hemoglobina , CK: creatinofosfoquinase, CTLF: capacidade total de ligação do ferro, CK creatino quinase, LDH lactato dehidrogenase, % porcentagem

A - Controle, B – Colectomia laparotomia, C - Simulado Laparotomia, D - Colectomia laparoscópica, E - Simulado laparoscopia

Para monócitos (em porcentagem) observa-se que os valores do grupo B, colectomia por laparotomia, são menores do que o grupo A, controle (Fig 16).

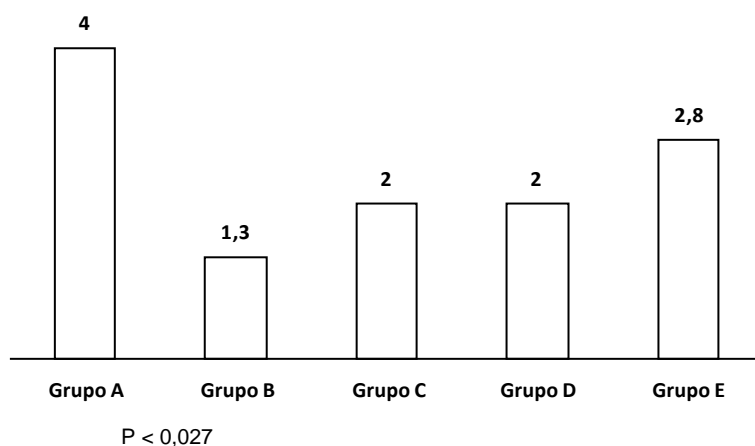


FIGURA 16: Gráfico das médias dos valores referentes aos monócitos em porcentagem no 3ºDPO.

Para valores de Ferro e CTLF que apareceram na tabela com $p < 0,05$, não houve diferença entre os grupos, assim que foram avaliados pelo método de Mann-Whitney com correção de Bonferroni (Tabela A2 – Apêndices).

A interleucina-6 não foi avaliada nesse período, visto que os resultados foram não detectáveis pelo método.

No terceiro dia após a operação, avaliou-se a fagocitose de macrófago pelo baço, pulmão e fígado. Uma tabela (Tab 5) apresentou a comparação entre os grupos, dos macrófagos com coloide fagocitado no 3º dia pós-operatório, em valor absoluto e em porcentagem. Não houve diferença entre os grupos. O resultado do grupo que não foi submetido a operação (Grupo A), mostrou que o baço é o maior responsável pela fagocitose no suíno; com 53,4% das partículas sendo fagocitadas por esse órgão, em seguida pelo pulmão com 28,6% e fígado com 18%. Uma proporção semelhante, de porcentagem de fagocitose, repete-se nos grupos de animais operados.

Tabela 5: Comparação da fagocitose pelos macrófagos, entre os grupos de suínos, para o fígado, baço e pulmão.

Grupos	A		B		C		D		E		p
	média	dpm	média	dpm	média	dpm	média	dpm	média	dpm	
Variáveis											
Valor Absoluto											
Fígado	19,4	9,8	14,4	4,8	19,6	12,5	18,0	6,0	18,4	8,1	0,875 ¹
Baço	89,8	53,4	182,0	138,8	96,2	49,9	106,0	86,3	138,2	78,9	0,593 ²
Pulmão	43,0	16,8	74,8	19,8	71,2	30,3	49,8	9,9	45,6	25,3	0,071 ¹
Porcentagem											
Fígado(%)	18,0	13,3	6,5	3,4	10,5	4,5	12,8	7,4	9,5	4,9	0,234 ²
Baço(%)	53,4	15,1	59,4	21,8	50,2	13,3	51,2	25,2	63,7	18,6	0,772 ¹
Pulmão(%)	28,6	11,4	34,1	19,7	39,2	11,8	36,1	19,3	26,7	17,5	0,732 ¹

1: Teste F (ANOVA); 2: Kruskal-Wallis; dpm: desvio-padrão da média.

A - Controle, B – Colectomia laparotomia, C - Simulado Laparotomia, D - Colectomia laparoscópica, E - Simulado laparoscopia

7.1.3 Comparação entre as características após duas horas e no terceiro dia pós-operatório

A comparação entre as características nos dois períodos pós-operatórios para cada grupo em estudo, foi apresentada na Tabela 6. Vale destacar que os valores das características do grupo controle (A) não foram comparáveis, pois apenas foram avaliados em um período.

Considerando o grupo colectomia esquerda por laparotomia (B), observou-se que valores de LDH e creatinina foram maiores na medição duas horas de pós-operatório. Além disso, os valores de fibrinogênio, leucócitos

totais, Ferro e capacidade total de ligação do ferro (CTLF) foram maiores na medição realizada no terceiro dia pós-operatório.

Para o grupo simulado laparotomia (C) a albumina e colesterol total mostraram valores maiores na medição realizada duas horas pós-operatório.

Para o grupo colectomia por laparoscopia (D) observou-se que os valores de hemoglobina e hematócrito foram maiores na medição realizada duas horas pós-operatória.

Observou-se que, para o Grupo simulado laparoscopia (E) os valores de hemoglobina, hematócrito, CK e colesterol total foram maiores na medição realizada duas horas pós-operatória.

Tabela 6: Valores-p das comparações das características de interesse nos dois momentos (2 horas e 3 DPO) de acordo com o grupo em estudo.

Grupos	B	C	D	E
características				
Hb (g/dl)	0,175 ¹	0,294 ¹	<0,002¹	0,004¹
Hematócrito(%)	0,313 ¹	0,262 ¹	<0,001¹	0,003¹
Albumina(mg/dl)	1,000 ¹	0,034¹	0,234 ¹	0,068 ²
CK(U/l)	0,060 ¹	0,066 ¹	0,286 ¹	0,016¹
Lactato mg/dl	0,076 ¹	0,542 ¹	0,673 ¹	0,238 ¹
LDH(U/l)	0,032¹	0,374 ¹	0,575 ¹	0,500 ²
Leucócitos(cels/mm ³)	0,037¹	0,561 ¹	0,485 ¹	0,246 ¹
Monócitos(cels/mm ³)	0,582 ¹	0,292 ¹	0,184 ¹	0,314 ¹
monócitos %	0,430 ¹	0,058 ¹	0,500 ¹	0,342 ¹
Fibrinogênio(mg/dl)	0,011¹	0,141 ¹	0,590 ¹	0,241 ¹
Creatinina(mg/dl)	0,037¹	0,254 ¹	0,474 ¹	0,189 ¹
colesterol total(mg/dl)	0,361 ¹	0,046¹	0,282 ¹	0,025¹
Ferro(mcg/ml)	<0,001¹	0,170 ¹	0,300 ¹	0,076 ¹
CTLF(mcg/ml)	0,002¹	0,583 ¹	0,748 ¹	0,842 ¹

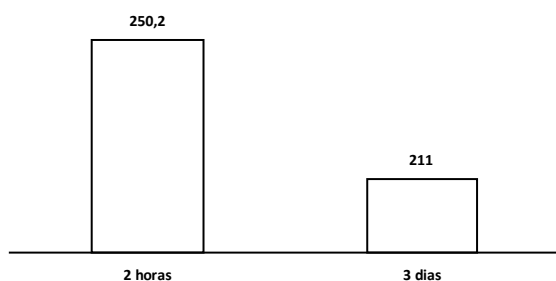
1: Teste t-pareado; 2: Teste Wilcoxon;

B – Colectomia laparotomia, C - Laparotomia para simulação

D – Colectomia laparoscópica, E- Laparoscopia para simulação

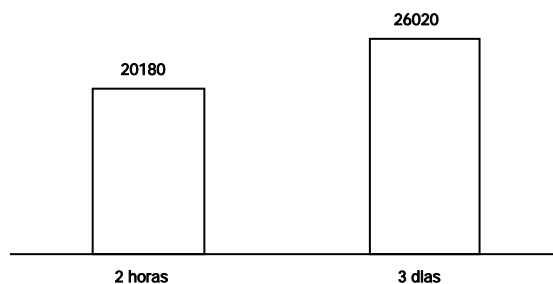
Hb – hemoglobina, CK – creatinofosquinase, LDH – lactato desidrogenase, CTLF - capacidade total de ligação do ferro.

Os gráficos (Fig 17, Fig 18, Fig 19, Fig 20, Fig 21 e Fig 22) ilustram as variáveis que foram diferentes entre os dois períodos de avaliação no grupo B(amostras pareadas).



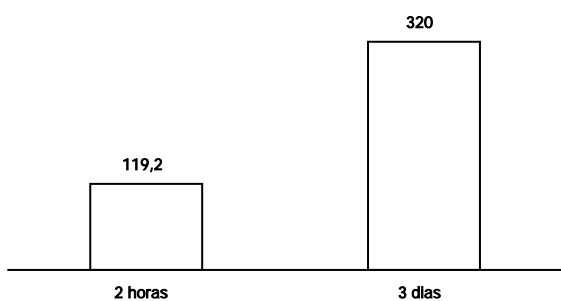
P = 0,032

Figura 17: Gráfico das médias dos valores referentes a LDH (U/l).



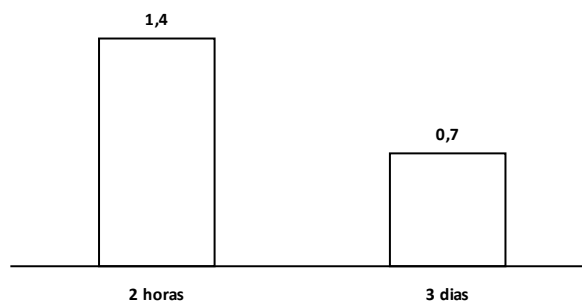
P = 0,037

Figura 18: Gráfico das médias dos valores referente a leucócitos (cels/mm³).



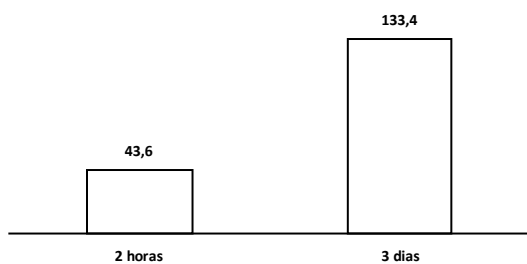
P = 0,011

Figura 19: Gráfico das médias dos valores referentes ao fibrinogênio (mg/dl).



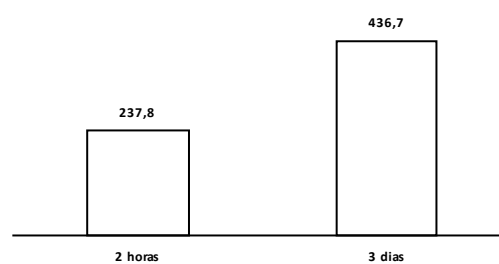
P = 0,037

Figura 20: Gráfico das médias dos valores referente à creatinina (mg/dl).



P = 0,001

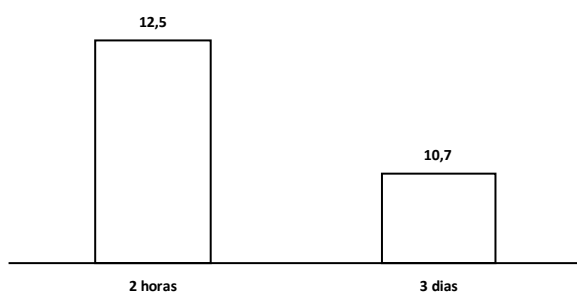
Figura 21: Gráfico das médias dos valores referentes ao ferro sérico (mcg/ml).



P = 0,002

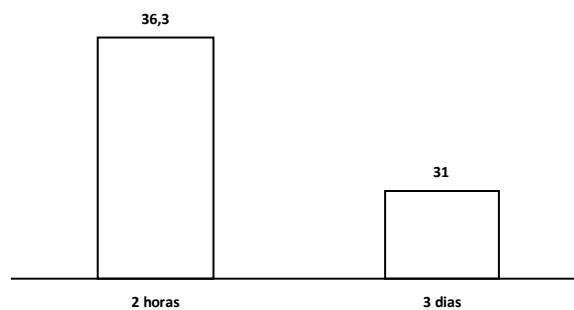
Figura 22: Gráfico das médias dos valores referente à capacidade total de ligação do ferro (mcg/dl).

Os gráficos (Fig 23 e Fig 24) ilustram as variáveis que foram diferentes entre os dois períodos de avaliação no grupo D(amostras pareadas).



P = 0,002

Figura 23: Gráfico das médias dos valores referentes ao hemoglobina (g/dl).



P = 0,001

Figura 24: Gráfico das médias dos valores referente à hematócrito (%).

8. DISCUSSÃO

Os suínos foram escolhidos como modelo experimental, por serem utilizados em estudos laparoscópicos. O tamanho do animal permitiu o mesmo material laparoscópico das operações em humanos. Um grupo piloto auxiliou os pesquisadores a definir o método anestésico mais adequado, a sistematização dos tempos operatórios; além do tamanho adequado das incisões no abdome, por via aberta e por via laparoscópica.

Neste estudo, os autores mostraram que o pneumoperitônio a 10 mmHg com insuflação de CO₂ não interferiu no equilíbrio acidobásico duas horas após colectomia laparoscópica. Ressalta-se que o tempo anestésico e operatório dos animais submetidos a laparoscopia foi o dobro, em relação aos animais submetidos a laparotomia. O inventário da cavidade peritoneal não foi prejudicado pela pressão intracavitária escolhida, permitindo a identificação adequada das estruturas anatômicas a serem operadas. Vale destacar, que a assistência ventilatória manual per-operatória, quando necessária, foi realizada por médico veterinário e foi fundamental para a homeostase ventilatória. A insuflação de pneumoperitônio motivou diversos pesquisadores a estudar seus efeitos locais e sistêmicos. É conhecido que o CO₂ reduz o pH da superfície peritoneal^{81,82,83}, porém retorna ao normal quando o pneumoperitônio é desfeito. Alguns autores mostraram que a pressão intra-abdominal de 10 mmHg foram seguras por não produzir distúrbio acidobásico sistêmico^{84, 85}. A pressão intra-abdominal com insuflação de CO₂, a 10 mmHg, não compromete o equilíbrio acidobásico e não altera o valor sérico de lactato^{82,86}. No presente estudo, a posição de Trendelenburg a 20° combinada com anestesia geral e ventilação espontânea, não alterou o equilíbrio ácido básico. A inclinação de

20° para operação laparoscópica já foi documentada por outro autor, não comprometendo a acidemia⁸⁷. Em humanos, ensaio clínico aleatório comparou colectomia, por laparoscopia e por laparotomia, mostrando vários parâmetros da função respiratória preservados no pós-operatório de doentes submetidos a laparoscopia⁸⁸, mas outros dois autores contestaram esses resultados^{89,90}.

É inédito o método e resultado dessa pesquisa, pois não há relato na literatura científica de trabalho experimental que utilize, em um único estudo, as variáveis pneumoperitônio com pressão 10 mmHg, anestesia geral combinada a ventilação espontânea, posição de Trendelenburg 20° e colectomia laparoscópica. A identificação de equilíbrio ácido básico pós-operatório foi importante para avaliar se adequadamente a fagocitose de macrófagos, além dos reagentes de fase aguda já mencionados. Essas variáveis poderiam sofrer interferência de acidemia pós-operatória e produzir erro de interpretação de resultados. A não utilização de bloqueadores neuromusculares e não utilização de ventilação artificial mecânica favoreceram o despertar mais rápido dos animais, além de proporcionar menor interferência nas variáveis inflamatórias que deveriam ser estudadas.

Os valores de hemoglobina no grupo colectomia por laparotomia foi maior que nos outros grupos, no período pós-operatório de duas horas e terceiro dia. É possível que, em suínos, a contração do baço, efeito conhecido em cães e cavalos⁹¹, possa explicar essa alteração pós-operatória. Haveria liberação de quantidade maior de hemácias para a corrente sanguínea. O desvio padrão da média de hemoglobina foi pequeno, notando-se diferença. Em humanos identifica-se o contrário, no pós-operatório de colectomia, valores maiores de hemoglobina são encontrados nos pacientes submetidos a

laparoscopia⁹², embora a necessidade de transfusão de hemácias não seja diferente comparando as duas vias de acesso peritoneal.

A medida adequada das incisões operatórias, o controle da infusão de volume de solução salina e tática operatória uniforme permitiram animais hemodinamicamente estáveis e adequadamente hidratados no período pós-operatório. Esse resultado foi confirmado com exames de hematócrito e sódio séricos. A partir dessa constatação houve segurança na comparação dos reagentes de fase aguda.

A desidrogenase láctica é uma enzima liberada na corrente sanguínea após dano celular e a creatinina é um produto catabólico da fosfato creatina do músculo esquelético, excretada por filtração renal. Ambas estiveram aumentadas duas horas após a operação no grupo colectomia por laparotomia (Grupo B), em conformidade com o dano mais extenso da parede abdominal e manipulação da colectomia. Alterações nessas variáveis também poderiam ser encontradas no grupo colectomia por laparoscopia, de acordo com outros autores que encontraram variações da perfusão e função renal^{93,94,95}. Nessas pesquisas a piora na perfusão e função renal aconteceu em obesos e operações laparoscópicas com mais de duas horas de duração, com pressão intra-abdominal de 15 mmHg. No presente estudo, a pressão intra-abdominal de 10 mmHg e duração menor da operação reduziram as alterações de creatinina e desidrogenase láctica no pós-operatório imediato.

Leucócitos totais, fibrinogênio, ferro e CTLF elevaram-se somente após colectomia por laparotomia no terceiro DPO. Nesse período o grupo que o percentual de monócitos diminuiu. Outros autores já haviam notado o efeito da laparotomia nos valores de leucócitos totais^{41,45,96,97} e fibrinogênio^{20,24,25}. Um

trabalho ⁵⁰ identificou, em humanos, o decréscimo do número de monócitos nas colectomias por laparotomia e laparoscopia três horas após a operação.

Os valores de ferro sérico e CTLF elevados após colectomia por laparotomia em comparação com laparoscópica ainda não foram encontrados na literatura.

Os valores de IL-6 e PCR são bons medidores de reação orgânica ao trauma operatório. Uma hora após a incisão da pele nota-se elevação de IL-6. A concentração plasmática de IL-6 correlaciona-se com o tempo operatório e a extensão do trauma⁹⁸. Os valores de IL-6 no pós-operatório sem diferença entre os grupos colectomia por laparoscopia ou laparotomia, foram observados e também por outros autores^{99,100}. Alguns estudos mostraram valores de IL-6 mais baixos no período pós-operatório de ressecções colorretais laparoscópicas^{39,41,43,46,47,101,102}. Entretanto não ficou clara a divisão entre os grupos, de pacientes com doenças benignas ou doenças malignas metastáticas, sem contar a diferença existente na experiência dos grupos com a operação laparoscópica. Outros autores mostraram valores de IL-6 elevados nos pacientes submetidos a laparoscopia para ressecções colorretais^{40,52,103}. Cabe salientar que, ao contrário dos estudos em animais, os ensaios clínicos sofrem a influência de fatores externos. É necessário reconhecer, no presente estudo, que eventuais medidas de IL-6 no período de 24 horas e 48 horas após a operação^{47,90} seriam úteis no entendimento de seu comportamento.

Os resultados desta pesquisa revelaram que a contagem de macrófagos, que fagocitaram pigmentos de tinta nanquim foi um bom método para se estudar quantitativamente a distribuição da fagocitose entre os órgãos mais importantes do sistema mononuclear fagocitário: baço, pulmão e fígado.

Todavia, foi surpreendente a identificação do baço como o órgão com maior proporção de depuração sanguínea realizada pelo SMF em suínos, visto outros estudos apontarem o fígado como o órgão com maior proporção de depuração de partículas estranhas^{58,61}. Segundo alguns autores, ratos, cães, gatos e coelhos tiveram o fígado como o órgão de maior capacidade de fagocitose de partículas infundidas no sangue^{58,61}. Serão necessários novos estudos de depuração sanguínea em suínos, para esclarecer os achados da atual pesquisa. A injeção de coloides com partículas de tamanhos diferentes ou injeção de bactérias marcadas com radiofármaco, podem dar novas contribuições ao entendimento da depuração sanguínea nesses animais. É conhecido o efeito supressor da capacidade fagocitária do SMF após operações, em modelo experimental¹⁰⁴. A colectomia por qualquer via de acesso, manteve a proporção de fagocitose pelo macrófago nos órgãos do SMF. Pode-se supor que o decréscimo de monócitos circulantes esteja vinculado à migração dessas células para a área operada.

Com esse estudo utilizou-se um modelo de operação laparoscópica com anestesia geral, ventilação espontânea e posição de Trendelenburg, que permite o acesso adequado aos órgãos pélvicos e boa recuperação dos animais. Operações em ovários, útero, bexiga e vasos sanguíneos pélvicos poderão utilizar a mesma via de acesso.

Os reagentes de fase aguda apresentaram alterações no terceiro dia pós-operatório. Existe uma perspectiva de que avaliações em outros dias pós-operatórios, possam trazer mais entendimento sobre o comportamento dos reagentes pesquisados. O estudo atual trouxe uma compreensão sobre o mecanismo de fagocitose no sistema mononuclear fagocitário em suínos. A

avaliação da fagocitose de partículas de carbono não havia sido utilizado associada a operações laparoscópicas . Outra linha de pesquisa poderá surgir com diferente avaliação do sistema mononuclear fagocitário, utilizando coloides radioativos ou células (hemácias ou bactérias) marcadas, resultando em melhor entendimento sobre os mecanismos de defesa orgânicos após o ato operatório por laparoscopia.

Em humanos, ensaios prospectivos fundamentados nos estudos em animais, poderão identificar o comportamento fisiopatológico de alguns reagentes de fase inflamatória menos comuns, ou menos utilizados até o momento, como por exemplo, colesterol total, ferro sérico e capacidade total de ligação do ferro. Há expectativa de identificarem-se reagentes plasmáticos que poderiam sinalizar precocemente complicações pós-operatórias.

9. CONCLUSÃO

A colectomia por laparotomia associou-se a elevação dos valores de creatinina e lactato desidrogenase duas horas após a operação. No terceiro dia após a operação por laparotomia, houve redução de monócitos séricos, elevação do número de leucócitos totais, aumento de fibrinogênio sérico, ferro sérico e capacidade total de ligação do ferro. Essas repercussões sistêmicas não foram encontradas após colectomia por laparoscopia.

Não houve diferença, entre ambas as vias de acesso para colectomia, nos valores de interleucina-6 plasmática e na capacidade fagocitária dos macrófagos do sistema mononuclear fagocitário.

A colectomia por via laparoscópica acompanhou-se de menor resposta inflamatória do que a realizada por laparotomia.

10. REFERÊNCIAS

Nota: Formato Vancouver

- 1 Jacobs M, Verdeja JC, Godstein HS. Minimally invasive colon resection (laparoscopic colectomy). *Surg Laparosc Endosc* 1991;1:138-43.
- 2 Fowler DL, White SA. Laparoscopic assisted sigmoid resection. *Surg Laparosc Endosc* 1991; 1: 183-8.
- 3 Regadas FSP, Nicodemo AM, Rodrigues LV, Garcia JHP, Nóbrega AGS. Anastomose colorretal por via laparoscópica. *Rev Bras Coloproct* 1992;12: 21-3.
- 4 Campos FG, Souza Jr AH, Carmel APW, Habr-Gama A, Carmel APW, Gonçalves CA. Cirurgia laparoscópica colo-retal: resultados do inquérito nacional brasileiro. *Rev Bras Coloproct*, 2001; 21:135-43.
- 5 Pandini LC, Gonçalves CA. Cirurgia laparoscópica colorretal. Análise de 82 casos. *Rev Bras Coloproct* 1996; 16: 112-6.
- 6 Alexander RJ, Jacques BC, Mitchell KG. Laparoscopically assisted colectomy and wound recurrence. *Lancet* 1993; 341: 249.
- 7 Berends FJ, Kazemier G, Bonjer HJ, Lange JF. Subcutaneous metastases after laparoscopic colectomy (letter). *Lancet* 1994; 344: 58.
- 8 Cirocco WC, Schwartzman A, Golub RW. Abdominal wall recurrence after laparoscopic colectomy for colon cancer. *Surgery* 1994;116: 842-6.
- 9 Jacquet P, Averbach AM, Stephens AD, Sugarbaker PH. Cancer recurrence following laparoscopic colectomy: report of two patients with heated intraperitoneal chemotherapy. *Dis Colon Rectum* 1995; 38: 1110-4.
- 10 Nduka CC, Monson JRT, Menzies-Gow N, Darzi A. Abdominal Wall metastases following laparoscopy. *Br j Surg* 1994; 81: 648-52.
- 11 Araújo SEA, Haddad LBP, Camos FG. Conversão em cirurgia laparoscópica colorretal. *Rev Bras Coloproct* 2003; 23: 47-52.
- 12 Lupinacci RA, Pedroso MA, Lupinacci RM, Farah FJM, Campos FGCM. Incisões auxiliares em cirurgia colorretal vídeo-laparoscópica. *Rev Bras Coloproct* 2005; 25: 192-8.
- 13 Bermamaschi R, Haugstvedt TK, Marvik R. Facilitating intracorporeal colorectal anastomoses. *JLS* 1998; 2:47-9.
- 14 Abraham NS, Young JM, Solomon MJ. Meta-analysis of short-term outcomes after laparoscopic resection for colorectal câncer. *Br J Surg* 2004; 91: 1111- 24.

-
- 15 Reza MM, Blasco JA, Andradas E, Cantero R, Mayol J. Systematic review of laparoscopic versus open surgery for colorectal cancer. *Br J Surg* 2006; 93: 921-8.
- 16 Tjandra JJ, Chan MKY. Systematic review on the short-term outcome of laparoscopic resection for colon and rectosigmoid cancer. *Colorec Dis* 2006; 8: 375-88.
- 17 Tan JJY, Tjandra JJ. Laparoscopic surgery for colitis – a meta-analysis. *Colorec Dis* 2006; 8: 626-36.
- 18 Abraham NS, Byrne CM, Young JM, Solomon MJ. Meta-analysis of non-randomized comparative studies of the short-term outcomes of laparoscopic resection for colorectal cancer. *ANZ J Surg* 2007; 77: 508-16.
- 19 Bonjer HJ, Hop WC, Nélon H, Sargent DJ, Lacy AM, Castells A. Laparoscopically assisted vs open colectomy trials Study Group. *Arch Surg* 2007; 142: 298-303.
- 20 Diamantis T, Tsiminikakis N, Skordylaki A, Samiotaki F, Vernadakis S, Bongiorno C, Tsagarakis N, Marikakis F, Bramis I, Bastounis E. Alterations of hemostasis after laparoscopic and open surgery. *Hematol* 2007; 12: 561-70.
- 21 Tennent GA, Breennan SO, Stangou AJ, Grady JO, Hawkins PN, Pepys MB. Human plasma fibrinogen is synthesized in the liver. *Blood* 2007; 109: 1971-4.
- 22 Marakis G, Pavlidis TE, Ballas K, Karvounaris D, Rafailidis S, Sakantamis AK. Changes in coagulation and fibrinolysis during laparoscopic cholecystectomy. *J laparoend Adv Surg Tech* 2006; 16: 582-6.
- 23 Vecchio R, Cacciola E, Martino MD, Cacciola RR, Mafadyen BV. Modifications of coagulation and fibrinolytic parameters in laparoscopic cholecystectomy. *Surg Endosc* 2003; 17: 428-33.
- 24 Schietroma M, Carlei F, Mownah A, Franchi L, Mazzota C, Sozio A. Changes in the blood coagulation, fibrinolysis and cytokine profile during laparoscopic and open cholecystectomy. *Surg Endosc* 2004; 18: 1090-6.
- 25 Prisco D, De Gaudio AR, Carla R, Gori AM, Fedi S, Cella AP, Gensini GF, Abbate R. Videolaparoscopic cholecystectomy induces a hemostasis activation of lower grade than does open surgery. *Surg Endosc* 2000; 14: 170-4.
- 26 Barle H, Nyberg B, Ramel S, Essen P, Mcnurlan MA, Wernerman J, Garlick PJ. Inhibition of liver protein synthesis during laparoscopic surgery. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 1999; 277:E591-6.
- 27 Neudecker J, Junghans T, Ziemer S, Raue W, Schwenk W. Prospective randomized trial to determine the influence of laparoscopic and conventional

colorectal resection on intravasal fibrinolytic capacity. *Surg Endosc* 2003; 17: 73-7.

28 Petroianu A, Albeti LR, Indelicato R, Andrade-Junior JCCG. Influência do trauma cirúrgico na concentração sérica de albumina no pós-operatório imediato. *Rev Col Bras Cir* 2004; 31: 194-9.

29 Giovannini I, Chiarla C, Giuliante F, Vellone M, Nuzzo G. The relationship between albumin, other plasma proteins and variables, and age in the acute phase response after liver resection in man. *Amino acids* 2006; 31: 463-9.

30 Giovannini I, Chiarla C, Giuliante F, Vellone M, Nuzzo G. Modulation of plasma fibrinogen levels in acute-phase response after hepatectomy. *Clin Chem Lab Med* 2004; 42: 261-5.

31 Chiarla C, Giovannini I, Siegel JH. The relationship between plasma cholesterol, amino acids and acute phase proteins in sepsis. *Amino Acids* 2004; 27: 97-100.

32 Jacobsen S, Nielsen JV, Kjelgaard-Hansen M, Toelboell T, Fjeldborg J, Halling-Thomsem M, Martinussen T, Thoenfner MB. Acute phase response to surgery of varying intensity in horses: a preliminary study. *Vet Surg* 2009; 38: 762-9.

33 Bayramli G, Ulutas B. Acute phase protein response in dogs with experimentally induced gastric mucosa injury. *Vet Clin Pathol* 2008; 37: 312-6.

34 Campos FGCM, Caravatto PP, Araújo SEA. Avaliação dos efeitos imunológicos em operações colorretais minimamente invasivas. *Rev Bras Coloproct* 2005; 25: 285-92.

35 Campos FGCM, Caravatto PPP, Araújo SEA, Imperiale AR, Seid VE. Efeitos da cirurgia colorretal minimamente invasiva sobre a resposta imune. In Sagae et al. *Coloproctologia, clínica e cirurgia videolaparoscópica*. Primeira edição. São Paulo. 2010; cap. 6, p. 57-64.

36 Buunen M, Gholghesaei M, Veldkamp R, Meijer DW, Bonjer HJ, Bouvy ND. Stress response to laparoscopic surgery. *Surg Endosc* 2004; 18: 1022-8.

37 Allendorf JD, Bessler M, Whelan RL, Trokel M, Laird DA, Terry MB . Better preservation of immune function after laparoscopic-assisted vs open bowel resection in a murine model. *Dis Colon Rectum* 1996; 39:S 67-72.

38 Gabay C, Kushner I. Mechanism of disease: acute-phase proteins and other systemic responses to inflammation. *N Eng J Med* 1999; 340 : 448-54.

39 Leung KL, Lai PBS, Ho RLK, Meng WCS, Yiu RYC, Lee JFY, Lau W Y. Systemic cytokine response after laparoscopic assisted resection of rectosigmoid carcinoma. *Ann Surg* 2000; 231: 506-11.

40 Stage JG, Schulze S Moller P. Prospective randomized study of laparoscopic versus open colonic resection for adenocarcinoma. *Br J Surg* 1997; 84: 391-6.

41 Wu FPK, Sietses C, von Blomberg BME, Van Leeuwen PAM, Meijer S, Cuesta MA. Systemic and peritoneal inflammatory response after laparoscopic or conventional colon resection in cancer patients. *Dis Colon Rectum* 2003; 46: 147-55.

42 Gupta A, Watson DI. Effect of laparoscopy on immune function. *Br J Surg* 2001; 88: 1296-1306.

43 Harmond GD, Senagore AJ, Kilbride MJ, Warzynski MJ. Interleukin-6 response to laparoscopic and open colectomy. *Dis Colon Rectum* 1994; 37: 754-9.

44 Braga M, Vignali A, Zuliani W, Radaelli G, Gianotti L, Martani C, Toussoun G, Di Carlo V. Metabolic and functional results after laparoscopic colorectal surgery. *Dis Colon Rectum* 2002; 45: 1070-7.

45 Kishi D, Nezu R, Ito T, Taniguchi E, Momiyama T, Obunai S, Ohashi S, Matsuda H. Laparoscopic-assisted surgery for Crohn's disease: reduced surgical stress following ileocectomy. *Surg Today* 2000; 30: 219-22.

46 Hildebrant U, Kessler K, Plusczyk T. Comparison of surgical stress between laparoscopic and open colonic resections. *Surg Endosc* 2003; 17: 242-6.

47 Schwenk W, Jacobi C, Mansmann U, Bohn B, Muller JM. Inflammatory response after laparoscopic and conventional colorectal resections – results of a prospective randomized trial. *Langenbecks Arch Surg* 2000; 385: 2-9.

48 Tang C, Eu KW, Tai BC, Soh JGS, Machin D, Seow-Choen F. Randomized clinical trial of the effect of open versus laparoscopically assisted colectomy on systemic immunity in patients with colorectal cancer. *Br J Surg* 2001; 88: 801-7.

49 Nishiguchi K, Okuda J, Toyoda M, Tanaka K Tanigawa N. Comparative evaluation of surgical stress of laparoscopic and open surgeries for colorectal carcinoma. *Dis Colon rectum* 2001; 44: 223-30.

50 Evans C, Galustian C, Kumar D, Hagger R, Melville DM, Bodman-Smith M, Jourdan K, Gudgeon AM, Dalgleish AG. Impact of surgery on immunologic function: comparison between minimally invasive techniques and conventional laparotomy for surgical resection of colorectal tumors. *Am J Surg* 2009, 197: 238-45.

51 Kuntz C, Wunch A Bay F, Windeler J, Glaser F, Herfarth C. Prospective randomized study of stress and immune response after laparoscopic vs conventional colonic resection. *Surg Endosc* 1998; 12: 963-7.

-
- 52 Johnson DRE, Spencer MP, Cerra FB, Konstantidides F, Rothenberger DA, Madorr RD. Laparoscopic versus open colectomy: a comparative study of systemic stress response. *Surg Endosc* 1994; 8: 568-9.
- 53 Doan T, Melvonld R, Susan V, Walternbaugh C. Células do Sistema Inato. In: Doan et al. *Imunologia Ilustrada*, Porto Alegre: Artmed, 2008, Cap. 4, p. 33-40.
- 54 Oliveira RC. Baço e função imunitária . IN O baço. Andy Petroianu. São Paulo: Balieiro, 1^a edição, Cap 7, 2003.p 49-51.
- 55 Simal CJR. In O baço, Andy Petroianu Cap 11 Cintilografia esplênica, 2003,p. 75-9.
- 56 Vittimberga FJ, Nolan B, Perugini RA, Spector L, Callery MP. Laparoscopic surgery and Kupffer cell activation. *Surg endosc* 2000; 14: 1171-6.
- 57 Marques RG, Petroianu A, Oliveira MBN, Bernardo-Filho M, Boasquevisque E M, Portela M C. Bacterial clearance after total splenectomy and splenic autotransplantation in rats. *Appl Radiat Isot* 2002; 57: 767-71.
- 58 Marques RG, Petroianu A. Distribuição da Escherichia Coli nos órgãos do sistema mononuclear fagocitário após esplenectomia total isolada ou combinada com auto-implante esplênico em rato. *Rev Col Bras Cir* 2003; 30:330-6.
- 59 Petroianu A. Estudo quantitativo da função fagocitária de macrófagos de macrófagos em baços íntegros e em remanescentes de esplenectomia subtotal, em mamíferos (TESE). Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Minas Gerais. Belo Horizonte; 1990; 102 p.
- 60 Petroianu A, Barbosa AJA. Quantitative studies on macrophage phagocytosis in whole spleen and in remnant of subtotal splenectomy. *Med Sci Res* 1991; 19: 373-5.
- 61 Petroianu A, Simal CJS, Barbosa AJA. Impairment of phagocytosis by mammalian splenic macrophages by ⁹⁹Tc^m sulphur colloid. *Med Sci Res* 1992; 20: 847-9.
- 62 Marques R G, Petroianu A, Oliveira MBN, Bernardo-Filho M. Importância da preservação de tecido esplênico para a fagocitose bacteriana. *Act Cir Bras* 2002; 17: 388-93.
- 63 Petroianu A, Simal CJR. Shifts in the reticuloendothelial system uptake pattern induced by carbon colloid in the rat. *Med Sci Res* 1993; 21: 311-2.
- 64 Antunes LJ. Generalidades sobre Imunologia e Baço. In: o Baço. Petroianu A. São Paulo: Balieiros 1^a edição. Cap 6. 2003; p. 43-8.

-
- 65 Ishida H, Nakada H, Takeuchi I, Yokoyama M, Okita T, Hashimoto D, Hosono M, Mori T. Distribution of intraesplenically injected colon cancer cells following pneumoperitoneum in mice. *Surg Endosc* 2003; 17:1278-82.
- 66 Gutt CN, Heinz P, Kaps W, Paolucci V The phagocytosis activity during conventional and laparoscopic operations in the rat: a preliminary study. *Surg Endosc* 1997; 11: 899-901.
- 67 Marques RG, Petroianu A. Distribuição da Escherichia Coli nos órgãos do Sistema mononuclear fagocitário após esplenectomia total isolada ou combinada com auto-implante esplênico em rato. *Rev Col Bras Cir* 2003;30:330-6.
- 68 Marques RG, Petroianu A, Oliveira MBN, Bernardo-Filho M, Boasquevisque EM, Portela MC. Bacterial clearance after total splenectomy and splenic autotransplantation in rats. *Appl Radiat Isot* 2002; 57: 767-71.
- 69 Petroianu A. Estudo quantitativo da função fagocitária de macrófagos de macrófagos em baços íntegros e em remanescentes de esplenectomia subtotal, em mamíferos (TESE). Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Minas Gerais. Belo Horizonte; 1990; 102 p.
- 70 Petroianu A, Barbosa AJA. Quantitative studies on macrophage phagocytosis in whole spleen and in remnant of subtotal splenectomy. *Med Sci Res* 1991; 19: 373-5.
- 71 Petroianu A, Simal CJS, Barbosa AJA. Impairment of phagocytosis by mammalian splenic macrophages by $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}$ sulphur colloid. *Med Sci Res* 1992; 20: 847-9.
- 72 Petroianu A, Simal CJS, Barbosa AJA. Assessment of phagocytic function in remnants of subtotal splenectomy and in autologous spleen implantation. *Med Sci Res* 1993; 21: 715-7.
- 73 Petroianu A, Barbosa AJA. Quantitative studies on macrophage phagocytosis in whole spleen and in the remnant of subtotal splenectomy. *Med Sci Res* 1991; 19: 373-5.
- 74 Petroianu A, Marques RG, Coelho JMCO. Regeneration of phagocytic function after splenic autotransplantation. *Biomed Res* 2002; 13: 15-8.
- 75 Petroianu A, Gomes da Silva R, Silva MG, Diniz SOF, Cardoso VN. Influência das operações sobre o baço na distribuição da escherichia coli no sistema mononuclear fagocitário. *Rev Col Bras Cirurgias* 2003; 30: 65-71.
- 76 Petroianu A. Avaliação da função fagocitária em remanescente de esplenectomia subtotal e auto-implante esplênico autógeno. *Rev Bras Hematol Hemoter* 2003; 25: 25 -30.

77 Petroianu A, Vasconcellos LS, Sabino KR, Simal CJR. Atividade fagocitária do sistema mononuclear fagocitário na gravidez. *Rev Bras Hematol Hemoter* 2003; 25: 213-8.

78 Petroianu A, Marques RG, Coelho JMCO, Portela MC. Morfologia e função fagocitária de implante esplênico autógeno regenerado em ratos. *Acta Cir Bras* 2004; 19: 642-8.

79 Petroianu A, Silva RG, Cardoso VN, Alberti LR, Silva MG. Effect of spleen surgeries on escherichia coli distribution on the mononuclear phagocytic system. *Int J Surg* 2010; 8: 48-51, 2010.

80 Triola, Mario F. *Introdução à estatística*. 9. ed. Rio de Janeiro: LTC, 2005.

81 Newhaus SJ, Watson DI, Ellis T, Lafullarde T, Jamieson GG, Russell WJ. Metabolic and immunologic consequence of laparoscopy with helium or carbon dioxide insfflation: A randomized clinical study. *ANZ J Surg* 2001; 71: 447-52.

82 Volz J, Hoser S, Weis M, Schmitdt R, Larbaschek R, Melchert F, Albrecht M. Pathophysiologic features of a pneumoperitoneum at laparoscopy: a swine model. *Am J Obstet Gynecol* 1996; 174: 132-40.

83 Bergstrom M, Falk P, Park PO, Holmdah IL. Peritoneal and systemic ph during pneumoperitoneum with CO₂ an helium in a pig model. *Surg Endosc* 2008; 22: 359-64.

84 Gutt CN, Onin T, Mihrabi A, Schemmer P, Kashfir A, Kraus T, Buchler MW. Circulatory and respiratory complications of carbon dioxide insufflations. *Dig Surg* 2004; 21: 95-105.

85 Horvarth KD, Whelan BL, Visconi S, Barry L, Buck K, Bessler M. The effects of elevated intraabdominal pressure, hipercarbia and position on the hemodynamic responses to laparoscopic colectomy in pigs. *Surg* 1998; 12: 107-14.

86 Lemos SLS, Vinha JM, Silva IS, Novaes PAC, Oliveira MF, Paula GB, Rebelo CC, Marinho ML. Efeitos do pneumoperitônio com ar e CO₂ na gasometria de suínos. *Acta Cir Bras* 2003; 18: 445-9.

87 Suh MK, Seong KW, Jung SH, Kim SS. The effect of pneumoperitoneum and trendelenburg position on respiratory mechanics during pelvic surgery. *Korean J Anesth* 2010; 59: 329-34.

88 Schwenk W, Bohn B, Witt C, Junghans T, Grundel K, Muller JM. Pulmonary function following Laparoscopic or convencional colorectal resection. *Arch Surg* 1999; 134: 6 -12.

-
- 89 Azagra JS, Goergen M, Gilbert E, Jacobs D, Lejeune P, Carlier E. Anterior resection: The total laparoscopic approach. In Monson JRT, Darzi A, eds. Laparoscopic colorectal surgery. Oxford, England: Isis Medical Media, 1995: 38-55.
- 90 Stage Jg, Schulze S Moller P. Prospective randomized study of laparoscopic versus open colonic resection for adenocarcinoma. Br J Surg 1997; 84: 391-6.
- 91 Petroianu A. Estudos experimentais sobre o baço. In Petroianu A. O Baço. São Paulo, Editora Baliero, 1ª edição; 2003, p 414-24.
- 92 Color. Laparoscopic surgery versus open surgery for colon cancer: short term outcomes of a randomized trial. Lancet 2005; 6: 477- 84.
- 93 Perez J, Taurá P, Rueda J, Balust J, Anglada T, Beltran J, Lacy AM, Garcia-Valdecasas JC. Role of Dopamine in renal dysfunction during laparoscopic surgery. Surg Endosc 2002; 16: 1297-1301.
- 94 Demyttenaere S, Feldman LS, Fried GM. Effect of pneumoperitoneum on renal perfusion and function: a systematic review. Surg Endosc 2007; 21: 152-60.
- 95 Ettinger JE, Souza CAM, Azarro E, Mello CA, Santos Filho PV, Orrico J, Santana RC, Amaral P, Fahel E, Batista PB. Clinical features of rhabdomyolysis after open and laparoscopic Roux-em-Y gastric by-pass. Obes Surg 2008; 18: 635-43.
- 96 Filho IA, Sobrinho AAH, Rego ACM, Garcia ACMA, Fernandes DP, Cruz TM, Costa TC, Medeiros AC. Influence of laparoscopy and laparotomy on gasometry, leukocytes and cytokines in a rat abdominal sepsis model. Acta Cir Bras 2006; 21:74 -9.
- 97 Mealy K, Gallagher H, Barry M, Lennon F, Traynor O, Hyland J. Physiological and metabolic response to open and laparoscopic cholecystectomy. Br J Surg 1992; 79: 1061-4.
- 98 Shenkin A, Fraser WD, Seier J, Winstanley FP, McCartney AC, Burns HJG, Vandamme J. The serum interleukin 6 response to elective surgery. Lynphokine Res 1989; 8: 123
- 99 Dunker MS, Ten Hove T, Bemelman WA. Interleukin-6, C-reactive protein, and expression of human leukocyte antigen-DR on peripheral blood mononuclear cells in patients after laparoscopic vs. conventional bowel resection: a randomized study. Dis Colon Rectum 2003; 46: 1238-44.
- 100 Sietses C, Beelen RH, Meijer S, Cuesta MA. Immunological consequences of laparoscopic surgery. Speculations on the cause and clinical implications. Langbecks Arch Surg 1999; 384: 250-8.

101 Delgado S, Lacy AM, Filela. Acute-phase response in laparoscopic and conventional colectomy in colon cancer: a randomized study. *Dis Colon Rectum* 2001; 44: 638-46.

102 Hewitt PM, Io SM, Kwok SPY, Somers SS, Li K, Leung KL, Li AKC. Laparoscopic-assisted versus open surgery for colorectal cancer. Comparative study of immune effects. *Dis Colon rectum* 1998; 41:901-9.

103 Bessler M, Treat M, Halverson A. Laparoscopic colectomy induces a hormonal stress response. *Surg endosc* 1994; 8: 447.

104 Scovil WA, Saba TM. Humoral recognition deficiency in the etiology of reticuloendothelial depression induced by surgery. *Ann Surg* 1973; 178: 59-64.

11. APENDICES

Tabela A1: Comparação 2x2 das variáveis significativas após duas horas do pós-operatório.

Características	Grupos			
	A	B	C	D
Peso ²				
B	0,251			
C	0,037	0,037		
D	0,007	0,010	0,004	
E	0,076	0,531	0,012	0,092
Hemoglobina ¹				
B	0,027			
C	0,299	0,708		
D	0,058	0,996	0,889	
E	0,997	0,054	0,469	0,110
Monócitos em % ²				
B	0,144			
C	0,221	0,178		
D	0,095	0,144	0,327	
E	0,037	1,000	0,112	0,178
Colesterol total ²				
B	0,210			
C	1,000	0,210		
D	0,330	0,745	0,051	
E	0,060	0,022	0,060	0,035

1: F(ANOVA), com Método de Tukey (nível de significância = 0,05); 2: Mann-Whitney, com Método de Bonferroni (nível de significância = 0,005).

A - controle, B - colectomia por laparotomia, C – Laparotomia apenas
D – Colectomia por laparoscopia, E – Laparoscopia apenas.

Tabela A2: Comparação 2x2 das variáveis significativas três dias após operação.

Características	Grupos			
	A	B	C	D
Hemoglobina ¹				
A				
B	0,447			
C	0,491	1,000		
D	0,995	0,300	0,334	
E	0,627	0,039	0,045	0,867
Monócitos em % ¹				
A				
B	0,031			
C	0,072	0,918		
D	0,144	0,944	1,000	
E	0,450	0,396	0,780	0,855
Ferro ¹				
A				
B	0,947			
C	0,019	0,084		
D	0,536	0,917	0,350	
E	0,291	0,698	0,612	0,990
Capacidade total de ligação do ferro ²				
A				
B	0,081			
C	0,233	0,037		
D	0,052	0,052	0,903	
E	0,037	0,037	0,835	0,391

1: F(ANOVA), com Método de Tukey (nível de significância = 0,05); 2: Mann-Whitney, com Método de Bonferroni (nível de significância = 0,005).

A - controle, B - colectomia por laparotomia, C – Laparotomia para comparação, D – Colectomia por laparoscopia, E – Laparoscopia para comparação.

APENDICE 3



UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
COMITÊ DE ÉTICA EM EXPERIMENTAÇÃO ANIMAL
- C E T E A -

CERTIFICADO

Certificamos que o **Protocolo nº 6/2008**, relativo ao projeto intitulado "**Avaliação do sistema mononuclear fagocitário comparando a colectomia esquerda por laparoscopia e por laparotomia, em modelo animal**", que tem como responsável(is) **Andy Petroianu**, está(ão) de acordo com os Princípios Éticos da Experimentação Animal, adotados pelo **Comitê de Ética em Experimentação Animal (CETEA/UFMG)**, tendo sido aprovado na reunião de **9/ 04/2008**.

Este certificado expira-se em **9/ 04/ 2013**.

CERTIFICATE

We hereby certify that the **Protocol nº 6/2008**, related to the project entitled "**Evaluation of the mononuclear phagocyte system compared left laparoscopy colectomy and left colectomy laparotomy, in animal model**", under the supervisors of **Andy Petroianu**, is in agreement with the Ethical Principles in Animal Experimentation, adopted by the **Ethics Committee in Animal Experimentation (CETEA/UFMG)**, and was approved in **April 9, 2008**.

This certificate expires in **April 9, 2013**.

Belo Horizonte, 14 de Abril de 2008.

Prof. Humberto Pereira Oliveira
Coordenador do CETEA/UFMG

Universidade Federal de Minas Gerais
Avenida Antônio Carlos, 6627 – Campus Pampulha
Unidade Administrativa II – 2º Andar, Sala 2005
31270-901 - Belo Horizonte, MG - Brasil
Telefone: (31) 3499-4516 – Fax: (31) 3499-4592
www.ufmg.br/bioetica/cetea - cetea@prpg.ufmg.br