

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
Faculdade de Medicina
Programa de Pós-graduação em Ciências Aplicadas à Cirurgia e Oftalmologia

FÁBIO HENRIQUE DE OLIVEIRA

**EFEITOS DO USO DE FIBRINA RICA EM PLAQUETAS APLICADA SOBRE
COLORRAFIA EM RATOS**

Belo Horizonte

2023

FÁBIO HENRIQUE DE OLIVEIRA

**EFEITOS DO USO DE FIBRINA RICA EM PLAQUETAS APLICADA SOBRE
COLORRAFIA EM RATOS**

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

Área de Concentração: Cicatrização

Orientador: Prof. Dr. Antônio Lacerda-Filho

Belo Horizonte

2023

FICHA CATALOGRÁFICA

Oliveira, Fábio Henrique de.
OL48e Efeitos do uso de Fibrina Rica em Plaquetas aplicada sobre Colorrafia em ratos [recursos eletrônicos]. / Fábio Henrique de Oliveira. - - Belo Horizonte: 2023.
102f.: il.
Formato: PDF.
Requisitos do Sistema: Adobe Digital Editions.

Orientador (a): Antônio Lacerda Filho.
Área de concentração: Cicatrização.
Tese (doutorado): Universidade Federal de Minas Gerais, Faculdade de Medicina.

1. Suturas. 2. Fibrina Rica em Plaquetas. 3. Cicatrização. 4. Pressão. 5. Deiscência da Ferida Operatória. 6. Dissertação Acadêmica. I. Lacerda Filho, Antônio. II. Universidade Federal de Minas Gerais, Faculdade de Medicina. III. Título.

NLM: WH 300

Bibliotecário responsável: Fabian Rodrigo dos Santos CRB-6/2697

FOLHA DE APROVAÇÃO

12/01/2024, 07:45

SEI/UFMG - 2893671 - Folha de Aprovação



UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS

FACULDADE DE MEDICINA

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS APLICADAS À CIRURGIA E À OFTALMOLOGIA

FOLHA DE APROVAÇÃO

RESULTADOS DO USO DE FIBRINA RICA EM PLAQUETAS APLICADA SOBRE COLORRAFIA EM RATOS

FÁBIO HENRIQUE DE OLIVEIRA

Tese de Doutorado defendida e aprovada, no dia vinte e dois de dezembro de dois mil e vinte e três, pela Banca Examinadora designada pelo PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS APLICADAS À CIRURGIA E À OFTALMOLOGIA da Universidade Federal de Minas Gerais constituída pelos seguintes professores:

Prof. Antônio Lacerda Filho (Orientador)

Universidade Federal de Minas Gerais

Prof. João Batista de Souza

Universidade de Brasília

Profa. Ivana Duval de Araújo

Universidade Federal de Minas Gerais

Prof. Fabio Gontijo Rodrigues

Universidade Federal de Minas Gerais

Prof. Denny Fabrício Magalhães Veloso

Universidade Federal de São João Del-Rei

Belo Horizonte, 22 de dezembro de 2023.



Documento assinado eletronicamente por **Antonio Lacerda Filho, Professor do Magistério Superior**, em 23/12/2023, às 18:54, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **João Batista de Sousa, Usuário Externo**, em 27/12/2023, às 14:15, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Denny Fabrício Magalhães Veloso, Usuário Externo**, em 02/01/2024, às 20:31, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Ivana Duval de Araujo, Professora do Magistério Superior**, em 09/01/2024, às 17:35, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Fabio Gontijo Rodrigues, Professor do Magistério Superior**, em 11/01/2024, às 17:56, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site https://sei.ufmg.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0, informando o código verificador **2893671** e o código CRC **A0F68999**.

*Dedico este trabalho ao
meu querido
pai.*

AGRADECIMENTOS

Ao **Prof. Dr. Antônio Lacerda Filho**, Professor Titular do Departamento de Cirurgia da Faculdade de Medicina da UFMG, por ter confiado no desenvolvimento deste trabalho e de maneira extremamente hábil e sábia, apontou os caminhos a serem seguidos dentro da prática científica. Por ter participado ativamente em minha formação como coloproctologista e por permitir, através de sua diplomacia e carisma, que os seus alunos trilhem sempre caminhos prósperos.

À **Profa. Dra. Rosy Iara Maciel de Azambuja**, vice-reitora da UFSJ e patologista clínica por suas análises críticas, sempre apresentando uma saída alternativa.

À **Profa. Dra. Luciana Xavier Pereira**, patologista por ter analisado as lâminas e orientado seu devido tratamento.

Ao **Prof. Dr. Lucas Silva de Oliveira**, engenheiro e professor do CEFET-MG, por ter abraçado este projeto, como se dele próprio.

Ao **Prof. Dr. Denny Fabrício Veloso**, pelo auxílio técnico nos procedimentos cirúrgicos experimentais.

Aos **acadêmicos Vanessa Cavazana Takata, João Pedro Rodrigues Vieira, Tainara Guazeli Maia, Maria Luísa Miranda Resende, Miller Augusto de Souza Campos, Guilherme Santos Couto e Ana Pilar** por auxiliarem nos procedimentos cirúrgicos, no cuidado aos animais e avaliação histopatológica

Ao **Prof. Dr. Vinícius Silva Belo**, que conduziu a análise estatística deste estudo e muito contribuiu com seus conhecimentos.

Ao técnico biólogo, **Flávio Martins de Oliveira**, pelo auxílio no manejo e cuidado da alimentação dos animais no biotério.

À **Sra. Daniela Regina Resende**, do Núcleo de Criação de Animais de Laboratório – UFSJ, pelo cuidado e manejo inicial dos animais.

À técnica **Me. Grazielle Aparecida Silva Maia** pelo apoio e consultoria bioquímica.

À **Camila Cristina Silva**, secretária do Programa de Pós-Graduação do Programa de Cirurgia e Oftalmologia da Faculdade de Medicina da UFMG, pelo auxílio atencioso fundamental na conclusão deste doutorado.

À amiga **Fernanda Elias Ferreira Rabelo**, por ter me apresentado o PRF e sempre sinalizar que superação e vontade de evoluir são combustíveis para grandes conquistas.

À minha esposa, **Marília Antonietto de Oliveira**, que cuida tão bem do nosso lar, resolve todas as pendências na ausência justificada pelo trabalho deste pesquisador e de maneira muito amorosa sempre estimula meus projetos.

Aos meus filhos, **Benício Antonietto de Oliveira** e **Laís Antonietto de Oliveira**, por estimularem minhas principais qualidades. Que um dia possam ler este trabalho com facilidade e entender que não há conquista sem esforço.

À minha mãe, **Adelina Fernandes de Oliveira**, pelas orações e por sempre incentivar meus estudos.

Ao meu irmão, **Luís Otávio de Oliveira**, pelo apoio constante.

A todos os colaboradores, voluntários, familiares e amigos que de alguma forma contribuíram com este trabalho.

*“Quem vence sem risco, triunfa sem glória...
Não tenha medo da vida, não tenha medo de vivê-la...”*

Augusto Cury, 2000

RESUMO

Introdução: A complicação mais temida na cirurgia intestinal é a deiscência anastomótica que está intimamente relacionada à deficiência na cicatrização e pode ocorrer em 2% a 15% dos pacientes operados. Esta complicação apresenta alto índice de morbimortalidade, interfere nos resultados cirúrgicos, aumenta custos hospitalares e em casos oncológicos, piora o prognóstico. Diversos fatores podem influenciar a cicatrização da anastomose cólica, como por exemplo o mal estado nutricional. A aplicação de biomateriais tem sido muito estudada, como a fibrina rica em plaquetas (PRF) que apresenta importantes propriedades na cicatrização e na restauração de tecidos. Os possíveis efeitos benéficos da PRF na cicatrização intestinal motivaram a realização deste estudo.

Objetivo: Avaliar os efeitos do PRF na cicatrização de suturas intestinais em ratos.

Material e método: 40 ratos foram distribuídos em 4 grupos. Dois grupos foram tratados com ração padrão e considerados nutridos (I e II). Outros dois grupos foram tratados com fubá, alimento pobre em proteínas e considerados desnutridos (III e IV). Todos os animais foram submetidos a cecotomia e cecorrafia. Os grupos II e IV tiveram as suturas sobrepostas por membrana de PRF humano. Foram avaliados os seguintes parâmetros: peso do animal, óbito, local de ruptura, pressão de ruptura, dosagem de colágeno e dosagem de reticulina, na linha de sutura.

Resultados: o emprego do PRF não influenciou nos óbitos, na pressão de ruptura ou no local de ruptura nos animais nutridos. Para os animais desnutridos, observou-se diferença significativa em relação ao local da ruptura ($p=0,038$) e na dosagem de reticulina ($p=0,040$), quando foi utilizado o PRF. Não houve diferença com relação às pressões de ruptura, mas houve uma tendência de aumento na dosagem de colágeno nos animais desnutridos que receberam a membrana de PRF.

Conclusão: A utilização de PRF não influenciou na cicatrização de ratos nutridos. No grupo de animais desnutridos seu emprego favoreceu a cicatrização e permitiu que a sutura cólica se apresentasse mais resistente que a parede cólica durante os testes de pressão de ruptura e avaliação do local de ruptura.

Palavras-chave: 1-sutura cólica; 2-fibrina rica em plaquetas (PRF); 3-cicatrização; 4-pressão de ruptura; 5-deiscência.

ABSTRACT

Introduction: The most feared complication in intestinal surgery is anastomotic dehiscence, which is closely related to poor healing and can occur in 2% to 15% of operated patients. This complication has a high morbidity and mortality rate, interferes with surgical results, increases hospital costs and, in oncological cases, worsens the prognosis. Several factors can influence the healing of the colic anastomosis, such as poor nutritional status. The application of biomaterials has been extensively studied, such as platelet-rich fibrin (PRF), which has important properties in healing and tissue restoration. The possible beneficial effects of PRF on intestinal healing motivated this study.

Objective: To evaluate the effects of PRF on the healing of intestinal sutures in rats.

Material and method: 40 rats were distributed into 4 groups. Two groups were treated with standard food and considered nourished (I and II). Two other groups were treated with cornmeal, a food low in protein, and considered malnourished (III and IV). All animals underwent cecotomy and cecorrhaphy. Groups II and IV had the sutures overlapped with a human PRF membrane. The following parameters were evaluated: animal weight, death, rupture site, rupture pressure, collagen dosage and reticulin dosage in the suture line.

Results: the use of PRF did not influence deaths, rupture pressure or rupture location in the fed animals. For malnourished animals, a significant difference was observed in relation to the rupture site ($p=0.038$) and reticulin dosage ($p=0.040$), when PRF was used. There was no difference in relation to burst pressures, but there was a tendency for an increase in collagen dosage in malnourished animals that received the PRF membrane.

Conclusion: The use of PRF did not influence the healing of nourished rats. In the group of malnourished animals, its use favored healing and allowed the colic suture to be more resistant than the colic wall during the rupture pressure tests and evaluation of the rupture site.

Keywords: 1-colic suture; 2-platelet-rich fibrin (PRF); 3-healing; 4-breaking pressure; 5-dehiscence.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1-Alocação de animais em grupos e subgrupos de acordo com o tratamento realizado.....	25	
Figura 2- Identificação e preparação do ceco.....	26	
Figura 3 - Membrana de PRF.....	27	
Figura 4a - Ração padrão	4b - Fubá.....	28
Figura 5 - Animais da mesma idade: A-Nutrido, B-Desnutrido.....	29	
Figura 6 - Centrífuga.....	30	
Figura 7 - Tubo com PRF pós centrifugação.....	31	
Figura 8 - Extração do complexo PRF + coágulo sendo retirado do tubo de ensaio.....	32	
Figura 9 - Aspecto do PRF antes da prensa.....	33	
Figura 10 - Aspecto final do PRF pronto para utilização.....	33	
Figura 11 - Balança.....	34	
Figura 12 - Alojamento de animais da Faculdade de Medicina - UFSJ.....	35	
Figura 13 - Ato anestésico.....	36	
Figura 14 - Exposição da cavidade abdominal após laparotomia por planos.....	37	
Figura 15 - Cecotomia.....	38	
Figura 16 - Cecorrafia.....	39	
Figura 17 - Aspecto final após cecorrafia.....	39	
Figura 18 - Rato grupo II- Aspecto final com PRF.....	40	
Figura 19 - Rato grupo IV - Aspecto final com PRF.....	41	
Figura 20 - Peça cirúrgica in locu – Grupo Com PRF.....	42	
Figura 21 - Peça cirúrgica contendo ceco e eventuais estruturas aderidas.....	43	
Figura 22 - Dispositivo CEFET para avaliação da pressão de ruptura.....	44	
Figura 23 - Ceco sendo adaptado ao dispositivo para avaliação da pressão de ruptura.....	45	
Figura 24 - Exemplo de documentação gráfica Grupo I.....	46	
Figura 25 - Ruptura fora da linha de sutura.....	47	
Figura 26 - Ruptura na linha de sutura.....	48	
Figura 27 - Linha de sutura sem PRF.....	49	
Figura 28 - Linha de sutura com PRF.....	49	
Figura 29 - Área de colágeno grupo III (A), Área de colágeno grupo IV (B).....	50	
Figura 30 - Área de colágeno grupo III (A), Área de colágeno grupo IV (B).....	51	
Figura 31 - Exemplo de documentação gráfica Grupo I.....	62	
Figura 32 - Exemplo de documentação gráfica Grupo II.....	62	
Figura 33 - Exemplo de documentação gráfica Grupo III.....	64	
Figura 34 - Exemplo de documentação gráfica Grupo IV.....	64	
Figura 35 - Análise de Colágeno (Grupo III).....	68	
Figura 36 - Análise do Colágeno (Grupo IV).....	68	
Figura 37 - Análise da Reticulina (Grupo III).....	71	
Figura 38 - Análise Reticulina (Grupo IV).....	71	

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1 - Peso dos animais nutridos sem PRF	56
Gráfico 2 - Peso Animais nutridos com PRF.....	57
Gráfico 3 - Peso animais desnutridos com PRF	58
Gráfico 4 - Peso Animais desnutridos sem PRF	58
Gráfico 5 - Variação de peso por grupo	60
Gráfico 6 - Comparação de peso – sem deiscência	61
Gráfico 7 - Animais nutridos – Pressão de ruptura	63
Gráfico 8 - Animais desnutridos - Pressão de ruptura	65
Gráfico 9 - Animais desnutridos – Pressão de ruptura / local da ruptura.....	66
Gráfico 10 - Comparação área de colágeno – Desnutridos	70
Gráfico 11 - Comparação área de reticulina – Desnutridos	73

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Animais desnutridos – local da ruptura	53
Tabela 2 - Local da ruptura por status nutricional	54
Tabela 3 - Local de ruptura COM e SEM PRF	55
Tabela 4 - Valores dos pesos dos animais nutridos.....	55
Tabela 5 - Peso Animais Desnutridos	57
Tabela 6 - Variação de peso por grupo antes e após procedimento	59
Tabela 7 - Comparação de peso – sem deiscência	60
Tabela 8 - Animais nutridos – Pressão de ruptura (mmHg)	62
Tabela 9 - Animais desnutridos – Pressão de ruptura	63
Tabela 10 - Pressão de ruptura- desnutridos / local da ruptura	65
Tabela 11 - Pressão de ruptura global	66
Tabela 12 - Pressão de ruptura – sem deiscência.....	67
Tabela 13 - Pressão de ruptura – Grupo I comparado ao Grupo IV	67
Tabela 14 - Animais Desnutridos – Colágeno.....	69
Tabela 15 - Animais Desnutridos – Análise estatística	69
Tabela 16 - Animais Desnutridos – Reticulina	72
Tabela 17 - Animais Desnutridos – Análise estatística	73

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ABNT	Associação Brasileira de Normas Técnicas
CCO	Campus Centro-Oeste
CEUA	Comitê de Ética no Uso Animal
COBEA	Colégio Brasileiro de Experimentação Animal
FDA	Food and Drug Administration
Fr	French
g	Gramas
HE	Hematoxilina Eosina
ICG	Indocianina verde
kcal	quilocaloria
NIR	Imagens de infravermelho próximo
PGDF	Fator de crescimento derivado de plaquetas
PRF	Fibrina rica em plaquetas
PRP	Plasma rico em plaquetas
RBC	Glóbulos vermelhos
TGF- β	Fatores transformadores de crescimento β
TGI	Trato gastro intestinal
UFSJ	Universidade Federal de São João del-Rei
VEGF	Fator de crescimento endotelial vascular

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	18
3 MATERIAL E MÉTODOS	24
3.1 Considerações gerais	24
3.2 Animal de experimentação	24
3.3 Desenho experimental	24
3.4 Nutrição dos animais	27
3.5 Confeção de PRF	29
3.6 Análise do peso dos animais	34
3.7 Procedimento anestésico e cirúrgico	34
3.7.1 Considerações gerais	34
3.7.2 Anestesia	35
3.7.3 Preparo do campo operatório e laparotomia.....	36
3.7.4 Cecotomia e cecorrafia.	37
3.7.5 Posicionamento de membrana de PRF.	40
3.8 Evolução pós-operatória	41
3.9 Eutanásia e ressecção do cólon direito.	42
3.10 Estudo da pressão de ruptura da anastomose	43
3.11 Avaliação do local da ruptura	46
3.12 Estudo histopatológico	48
3.12.1 Quantificação do colágeno.....	50
3.12.2 Quantificação da reticulina.....	51
3.13 Análise estatística	51
4 RESULTADOS	53
4.1 - ÓBITOS	53
4.2 LOCAL DA RUPTURA	53

4.3 – PESO DOS ANIMAIS.....	55
4.4 – PRESSÃO DE RUPTURA.....	61
4.5 - ANÁLISE DO COLÁGENO.....	68
4.6 - ANÁLISE DA RETICULINA.....	70
5 DISCUSSÃO.....	74
6 CONCLUSÃO.....	83
7 REFERÊNCIAS.....	84
8 ANEXOS.....	89
9 APÊNDICES.....	101

1 INTRODUÇÃO

A cirurgia definitivamente alcançou seu principal objetivo a partir do século XIX. O desenvolvimento da anestesia e o controle das infecções com o advento das técnicas assépticas permitiram que a cura pelas mãos fosse cada vez mais acessível. Neste período houve um crescente acúmulo de conhecimento e o estudo da cirurgia passou a ser sistematicamente apurado. Novas técnicas foram criadas, outras aprimoradas e o corpo humano com suas mais diversas enfermidades passou a ser tratado com intervenções cirúrgicas cada vez mais precisas e eficazes (THORWALD, JURGEN, 2010).

Procedimentos cirúrgicos envolvendo órgãos do trato gastrointestinal começaram a ser realizados com maior refinamento, envolvendo ressecções com ou sem reconstrução do trânsito. Entretanto, dentre as diversas operações realizadas, muitas culminariam com complicações como hemorragias, lesões inadvertidas de vísceras, infecções secundárias e falhas na cicatrização, que resultariam em deiscências de suturas e deiscências anastomóticas (SCHLICH, 2017).

A cirurgia colorretal abrange o tratamento de enfermidades como o câncer colorretal, doenças inflamatórias intestinais e doença diverticular. As duas primeiras caracterizam-se por comprometimento do estado nutricional dos pacientes devido ao catabolismo patológico que ocorre, seja por consumo insuficiente ou por deficiência de absorção dos nutrientes. Estes indivíduos ao serem candidatos ao tratamento cirúrgico, na maioria das vezes, se apresentam em condições nutricionais desfavoráveis. Já com relação ao acometimento patológico perianal pode-se dizer que as deiscências criptoglandulares complexas exigem tratamentos cirúrgicos desafiadores, cuja taxa de recidiva pode ser alta e os resultados podem ser comprometedores, principalmente quando ocorre violação do aparelho esfinteriano (STEELE *et al.*, 2022).

A complicação mais temida na cirurgia intestinal é a deiscência anastomótica, que pode ocorrer em 2% a 15% dos pacientes operados e esta intimamente relacionada à falha no processo de cicatrização. Esta complicação apresenta alto índice de morbimortalidade, interfere nos resultados cirúrgicos, aumenta custos hospitalares e em casos oncológicos, piora o prognóstico. Diversos fatores podem influenciar a cicatrização da anastomose cólica, como preparo de cólon, técnica

cirúrgica, estado nutricional, tensão na linha de sutura, utilização de sutura manual ou mecânica, infecção e uso de agentes farmacológicos. De forma semelhante, a cicatrização do leito da ferida de uma deiscência perianal é comprometida pela área contaminada, excesso de fibrose e carência de tecido saudável adjacente (RENCUZOGULLARI et al., 2017), (JESTIN; PAHLMAN; GUNNARSSON, 2008), (GOLDA et al., 2020).

A cicatrização de feridas em indivíduos saudáveis ocorre como uma resposta celular à lesão tecidual e envolve a ativação de queratinócitos, fibroblastos, células endoteliais, macrófagos e plaquetas. O processo envolve migração celular organizada e recrutamento de células endoteliais para a angiogênese. Os diversos fatores de crescimento e citocinas liberados por esses tipos de células coordenam e mantêm o evento. O processo cicatricial é caracterizado por fases sobrepostas de inflamação, epitelização, fibroplasia e maturação (DIEGELMANN; EVANS, 2004), (KOH; DIPIETRO, 2011), (MOR-VAKNIN et al., 2003), (TOON et al., 2015).

Os fibroblastos sintetizam o colágeno, a principal proteína estrutural do corpo. A produção dessa proteína inicia-se no segundo dia de pós-operatório, quando é secretado como um gel amorfo desprovido de força. A produção máxima de colágeno começa a partir do quinto dia e continua por pelo menos seis semanas. A matriz de colágeno em desenvolvimento estimula a angiogênese, sendo que o tecido de granulação é o resultado da produção combinada de colágeno e crescimento de capilares (DOILLON et al., 1985).

O comprometimento da cicatrização de feridas geralmente ocorre no contexto de vários problemas menores que contribuem para interromper o processo de cicatrização, tais quais infecção, isquemia, idade, imunossupressão e desnutrição (MORBACH et al., 2012), (MILLS et al., 2014)

Embora não haja evidências suficientes de que a suplementação nutricional ajude na cicatrização de feridas, a nutrição adequada é imperativa para a prevenção da infecção, que tem efeitos deletérios na cicatrização (KHAN et al., 2020).

A ingestão calórica reduzida resulta em perda de gordura, músculo, pele e, finalmente, ossos e vísceras, com subsequente perda de peso e expansão do compartimento de líquido extracelular. As necessidades nutricionais diminuem à medida que a massa corporal de um indivíduo diminui, refletindo uma utilização mais eficiente dos alimentos ingeridos e uma redução na capacidade de trabalho no nível celular. No entanto, a combinação de massa de tecido diminuída e capacidade de

trabalho reduzida impede respostas homeostáticas normais a agentes traumáticos, como cirurgia ou doença crítica (NAJAFI et al., 2020).

O estresse da cirurgia ou trauma cria um estado catabólico, aumentando a utilização de proteínas e energia. Os macronutrientes (gordura, proteína e glicogênio) das reservas lábeis do tecido adiposo e do músculo esquelético são redistribuídos para tecidos com maior metabolismo, como o fígado e as vísceras ocas. Essa resposta pode levar ao início da desnutrição calórico-protéica, definida como um balanço negativo de 100 g de nitrogênio e 10.000 kcal em poucos dias. Em contexto cirúrgico de pós-operatório este período pode ser crucial. A taxa de desenvolvimento de desnutrição pós-operatória para um determinado indivíduo depende de seu estado nutricional preexistente, da natureza e complexidade do procedimento cirúrgico, do grau de hipermetabolismo pós-operatório e de sua capacidade de consumir um número ideal de calorias (LIPSKY et al., 2012).

A desnutrição está associada a uma série de consequências negativas como: maior suscetibilidade a infecções, má cicatrização de feridas, aumento da frequência de úlceras de decúbito, supercrescimento de bactérias no trato gastrointestinal e perdas anormais de nutrientes pelas fezes. Uma preocupação particular para os pacientes submetidos à cirurgia são os riscos de infecção pós-operatória e má cicatrização de feridas. A desnutrição leva à disfunção do sistema imunológico ao prejudicar a ativação e produção do complemento, a opsonização bacteriana e a função de neutrófilos, macrófagos e linfócitos. Pacientes com desnutrição podem apresentar reações cutâneas subnormais a *Candida sp* e baixos níveis de anticorpos a vários fitomitoógenos, reflexo do comprometimento da imunidade humoral e daquela mediada por células (HORAN et al., 1992).

As anastomoses grampeadas e manuais há muito são consideradas equivalentes e devem ser escolhidas pelo cirurgião, dependendo da preferência pessoal, da experiência anterior e das condições anatômicas e clínicas do paciente (CHOY et al., 2007). Importante também a avaliação do suprimento sanguíneo, pois quando inadequado é um importante fator de risco para complicações da sutura intestinal (MODASI et al., 2019). A perfusão peri-anastomótica é frequentemente avaliada apenas subjetivamente pelo cirurgião. A angiografia com Indocianina verde (ICG) usando imagens de infravermelho próximo (NIR) surgiu como uma nova tecnologia que permite a avaliação em tempo real da micro-vascularização intestinal, métodos aliados à prevenção de deiscências (CHAN; LEE; ANG, 2020).

Em situações de urgência e emergência pode-se abdicar da confecção de anastomose, principalmente no trato gastrointestinal baixo. O cirurgião pode confeccionar um estoma derivativo, que evita consequências sépticas das deiscências (RULLIER et al., 1998). Quando o seguimento a ser exteriorizado apresenta um alto fluxo de efluente e está em topografias mais proximais do TGI a derivação não é viável, sendo necessária realização de sutura.

Pacientes com Doença de Crohn perfurada, por exemplo, por serem potencialmente desnutridos certamente correrão maior risco de insucesso com a sutura simplesmente (WERBIN et al., 2003). Da mesma forma, cenários que envolvam fístulas perianais, reto-vaginais, reto-uretrais apresentam sítio cirúrgico desfavorável à cicatrização.

Dentro deste contexto, novas estratégias estão sendo desenvolvidas como o emprego de células mesenquimais e cola de fibrina junto às suturas. A incorporação desses biomateriais visa oferecer ao tecido em cicatrização substratos que corroborem com um desfecho favorável, restabelecendo a integridade das estruturas, se possível abreviando o tempo de maturação da cicatriz (VAN DER HAGEN et al., 2011).

Fibrina rica em plaquetas (PRF) é um derivado do PRP onde plaquetas e leucócitos autólogos estão presentes em uma matriz de fibrina complexa para acelerar a cicatrização de lesões moles e tecido rígido. O PRF é uma substância aprovada pela FDA (*Food and Drug Administration*, USA). Foi descrito na França por Choukroun e colaboradores (CHOUKROUN et al., 2001).

Para obter PRF, a quantidade necessária de sangue é retirada rapidamente em tubos de ensaio sem anticoagulante e centrifugada imediatamente. O sangue é centrifugado e produto resultante consiste em três camadas; camada superior contendo plasma pobre em plaquetas, coágulo de PRF no centro e glóbulos vermelhos (GV) na parte inferior. O coágulo de PRF pode ser removido do tubo de ensaio usando uma pinça estéril. Após a retirada do recipiente, o complexo coágulo-PRF pode ser cuidadosamente manipulado e individualizado usando-se uma tesoura esterilizada, obtendo-se assim o concentrado de fibrina rica e plaquetas em sua forma bruta. Este produto é então comprimido, ganhando a forma de membrana (CHOUKROUN et al., 2006).

A ativação plaquetária em resposta ao dano tecidual ocorre durante o processo de produção do PRF, liberando várias proteínas biologicamente ativas, incluindo;

grânulos alfa plaquetários, fator de crescimento derivado de plaquetas (PGDF), fatores transformadores de crescimento β (TGF- β), fator de crescimento endotelial vascular (VEGF) e fator de crescimento epidérmico. Na verdade, as plaquetas e as citocinas leucocitárias desempenham papéis importantes nesse biomaterial, mas a matriz de fibrina que as sustenta é a que mais auxilia na constituição dos elementos determinantes responsáveis pelo real potencial terapêutico da PRF (MARX et al., 1998).

Este estudo foi idealizado para avaliar os possíveis efeitos benéficos da utilização de PRF como coadjuvante na cicatrização de suturas cólicas.

2 OBJETIVOS

- 2.1- Avaliar os efeitos da aplicação de membrana de PRF na resistência de suturas intestinais em ratos nutridos e desnutridos;
- 2.2- Avaliar as pressões e o local da ruptura intestinal entre os grupos de ratos nutridos e desnutridos, com ou sem aplicação do PRF;
- 2.3- Quantificar a concentração de colágeno e reticulina na linha de sutura intestinal de ratos que receberam a membrana de PRF.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Considerações gerais

O presente estudo foi realizado no Laboratório de Técnica Cirúrgica e Setor de Experimentação do Biotério da Faculdade de Medicina da Universidade Federal de São João del-Rei, Campus Centro Oeste – UFSJ/CCO, com colaboração do Laboratório de Patologia da Faculdade de Medicina da Universidade Federal de São João del-Rei, Campus Centro Oeste – UFSJ/CCO.

O protocolo de pesquisa foi avaliado e aprovado pelo Comitê de Ética no Uso Animal – CEUA, da Universidade Federal de São João del-Rei, sob o número 018/2018. Os procedimentos experimentais foram realizados de acordo com as diretrizes do Colégio Brasileiro de Experimentação Animal – COBEA.

O protocolo de pesquisa foi também avaliado e aprovado pelo Comitê de Ética da Universidade Federal de São João del-Rei, cujo número de parecer é 4.552.997. O projeto encontra-se devidamente cadastrado na Plataforma Brasil.

A redação do trabalho foi realizada de acordo com as normas da Associação Brasileira de Normas Técnicas (ABNT NBR/2021).

3.2 Animal de experimentação

Foram utilizados 40 ratos, *Rattus norvegicus*, da linhagem *Wistar*, machos, com aproximadamente 90 dias de vida. Os animais foram produzidos e adquiridos do Biotério Central da Universidade Federal de São João Del-Rei, Campus Dom Bosco, São João Del-Rei, MG.

3.3 Desenho experimental

Os ratos foram alocados em dois grupos com 20 indivíduos em cada, de acordo com o estado nutricional:

A – animais nutridos

B – animais desnutridos

Os dois grupos foram divididos aleatoriamente em outros dois subgrupos, que se diferenciam pela utilização de PRF ou não, ficando assim determinados:

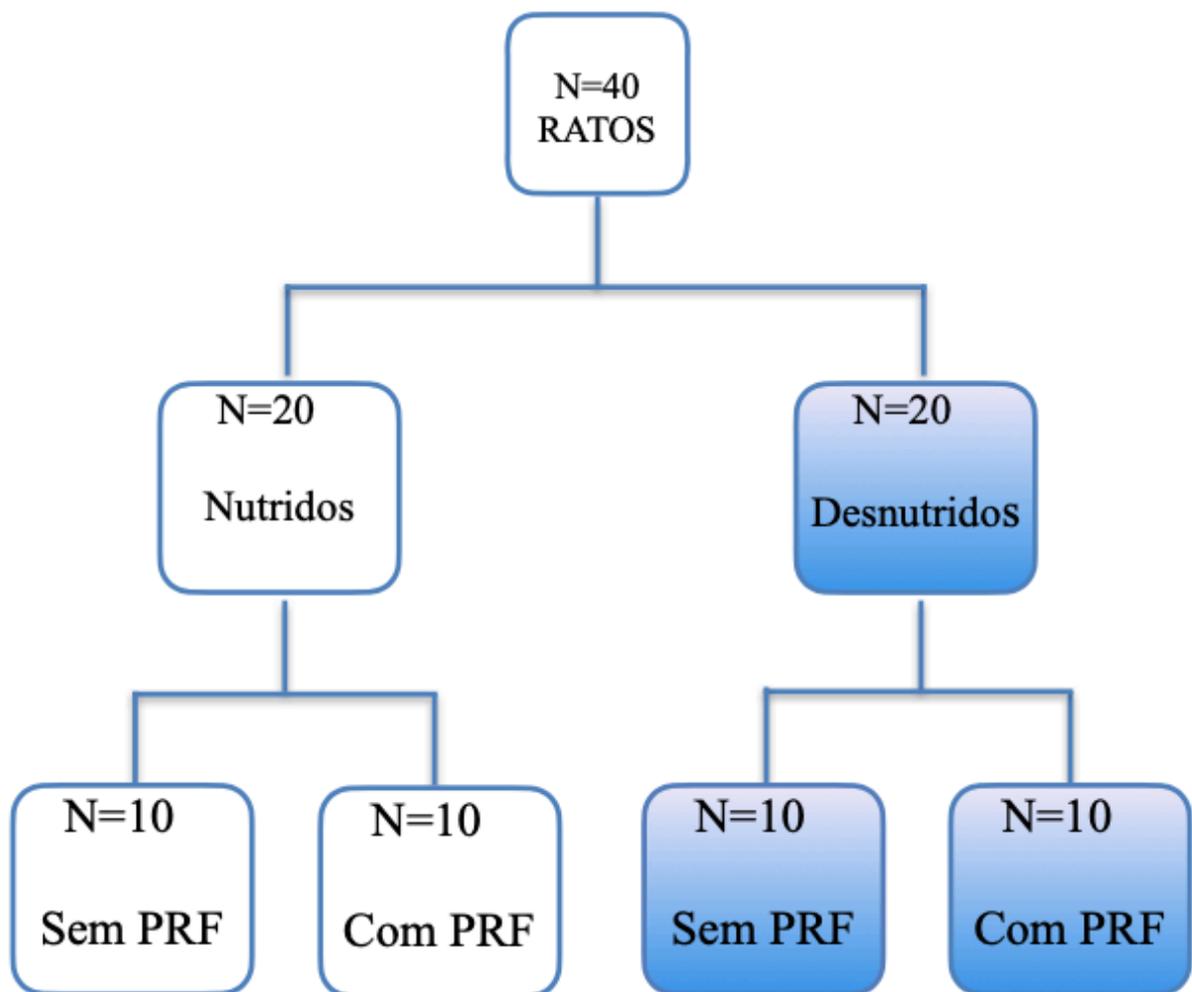
I – Ratos nutridos submetidos apenas à sutura intestinal – N=10

II – Ratos nutridos submetidos sutura com posicionamento de PRF – N=10

III – Ratos desnutridos submetidos apenas à sutura – N =10

IV – Ratos desnutridos submetidos sutura com posicionamento PRF – N=10

Figura 1-Alocação de animais em grupos e subgrupos de acordo com o tratamento realizado



FONTE: Elaborado pelo autor (2023).

Todos os animais foram anestesiados e submetidos a laparotomia mediana de 3 cm, colotomia de 2 cm e colorrafia ao nível do ceco, e síntese da parede abdominal por planos. A escolha da incisão ao nível cecal objetivou obter uma peça sacular que

facilitou a adaptação do dispositivo barômetro responsável pela avaliação da pressão de ruptura (Figura 2).

Nos animais dos grupos II e IV, além do procedimento citado, foi posicionada membrana de PRF produzida a partir de sangue humano, que cobriu toda linha de sutura do cólon formando um *patch* artificial, a semelhança de uma tela utilizada em tratamento de hérnias inguinais (Figura 3).

Figura 2- Identificação e preparação do ceco



Fonte: O autor (2023)

Figura 3 - Membrana de PRF



Fonte: O autor (2023)

Todos os animais foram reoperados no sétimo dia pós-operatório.

Caso algum animal viesse a óbito antes do sétimo dia pós-operatório por causa não relacionada à anastomose, seria realizada sua substituição.

As operações foram realizadas em sessões, por lotes de cinco animais, sendo o subgrupo nutrido realizado na primeira etapa e o subgrupo desnutrido em segunda etapa.

Os animais foram numerados sequencialmente de 1 a 40, de acordo com a ordem de realização das operações.

3.4 Nutrição dos animais

Os animais foram recebidos no Biotério do Campus Centro Oeste da UFSJ com 21 dias de vida e já desmamados. Água foi oferecida sem restrições.

Os animais do grupo A (nutridos) foram alimentados sob livre demanda com ração padrão para roedores (Figura – 4A) com a seguinte composição: milho integral moído, farelo de soja, farelo de trigo, óleo vegetal, carbonato de cálcio, fosfato bicálcico, cloreto de sódio (sal comum), vitamina A, vitamina D3, vitamina E, vitamina K3, vitamina B1, Vitamina B2, Vitamina B6, vitamina B12, Niacina, pantotenato de cálcio, ácido fólico, biotina, cloreto de colina, sulfato de ferro, sulfato de magnésio,

sulfato de zinco, sulfato de cobre, iodato de cálcio, selenito de sódio, sulfato de cobalto, lisina, metionina, BHT. A concentração proteica bruta nesta ração é de 22%.

Figura 4a - Ração padrão



4b - Fubá



Fonte: O autor (2023)

Os animais do grupo B (desnutridos) foram alimentados exclusivamente com fubá de milho (Figura-4B) uma composição proteica de 3,7%, nível aproximadamente 6 vezes menor que o grupo A.

Os animais então adquiriram composições físicas distintas entre grupo A e B. (Figura 5).

**Figura 5 - Animais da mesma idade:
A-Nutrido, B- Desnutrido**



Fonte: O autor (2023)

3.5 Confeção de PRF

O PRF foi confeccionado através da coleta de amostras de 10 ml de sangue humano de 5 doadores voluntários que assinara, o TCLE. As amostras foram obtidas antes dos procedimentos cirúrgicos por punção em veias da fossa cubital do doador voluntário e despejadas em um tubo de centrifuga de vidro sem anticoagulante. Os tubos foram imediatamente levados à centrifuga (figura 6) e centrifugados a 1920 rotações por minuto durante 10 min. A coleta de sangue e a transferência para a centrifuga devem ser o mais rápidas possível, pois sem anticoagulante as amostras de sangue começam a coagular instantaneamente. Se a duração for superior a alguns

minutos, a fibrina polimerizará de forma difusa e ocorrerá falha. Se a técnica estiver correta, as plaquetas devem ficar presas maciçamente nas malhas de fibrina.

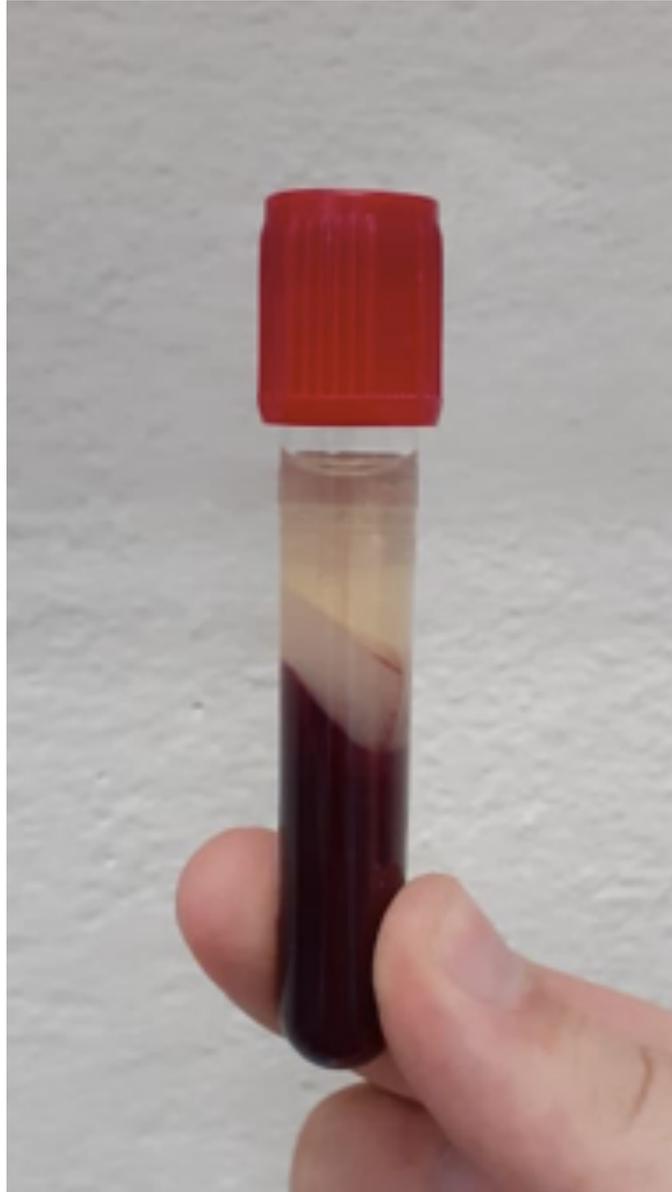
Figura 6 - Centrífuga



Fonte: O autor (2023)

Três estratos de centrifugação foram obtidos; um coágulo de fibrina (PRF) no meio do tubo, imediatamente entre os glóbulos vermelhos na parte inferior e o plasma acelular na parte superior (Figura 7).

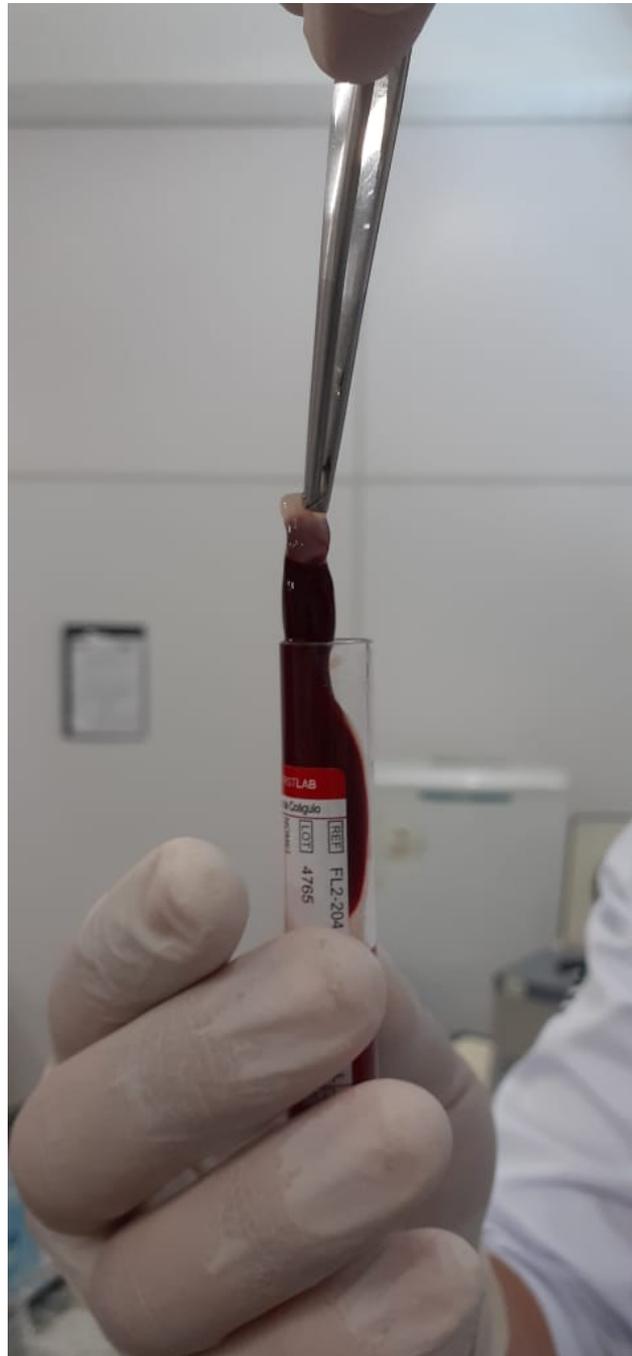
Figura 7 - Tubo com PRF pós centrifugação



Fonte: O autor (2023)

Foi procedida a remoção da camada superior cor de palha e a fração do meio foi coletada. Obteve-se então membrana de fibrina, removendo-se o soro e o coágulo. A polimerização da fibrina do PRF é muito lenta e natural durante a centrifugação e, portanto, é constituída uma membrana estruturalmente flexível, elástica e forte. Este material foi então separado e pressionado contra superfície lisa e com furos para se obter apenas a porção funcional da membrana. (Figura 8, 9 e 10).

**Figura 8 - Extração do complexo PRF
do tubo de ensaio**



Fonte: O autor (2023)

Figura 9 - Aspecto do PRF antes da prensa



Fonte: O autor (2023)

Figura 10 - Aspecto final do PRF pronto para utilização



Fonte: O autor (2023)

3.6 Análise do peso dos animais

Imediatamente antes da indução anestésica, todos os animais tiveram seus pesos aferidos, assim como logo após a eutanásia, em balança eletrônica (Marte balança eletrônica modelo AS5500 C, Marte Balanças e Aparelhos de Precisão Ltda – São Paulo, SP). Os números foram comparados para definir a variação ponderal, suas implicações e correlação com os resultados. (Figura 11).

Figura 11 - Balança



Fonte: O fabricante (2023)

3.7 Procedimento anestésico e cirúrgico

3.7.1 Considerações gerais

Os ratos foram recebidos logo após os desmame, com aproximadamente 21 dias e permaneceram no Alojamento de Animais da Faculdade de Medicina, confinados em gaiolas, em lotes de dois animais, com regime de doze horas de luz artificial e doze horas de escuridão. Durante 70 dias passaram pelo período de aclimação. O grupo de animais nutridos recebeu dieta com ração padrão e água à

vontade. Já o grupo de animais desnutridos recebeu a dieta especial a base de fubá e também água a vontade. (Figura 12).

Figura 12 - Alojamento de animais da Faculdade de Medicina - UFSJ



Fonte: O autor (2023)

As operações foram realizadas com material cirúrgico esterilizado. Todos os procedimentos cirúrgicos foram realizados pelo mesmo cirurgião.

3.7.2 Anestesia

Os animais foram anestesiados com cloridrato de xilazina, na dose de 5 mg/kg peso por via intramuscular e cloridrato de cetamina, na dose de 25 mg/kg peso também por via intramuscular. No período transoperatório, doses adicionais de anestésico foram administradas, de acordo com as necessidades, quando ocorriam contraturas musculares ou estigmas álgicos (Figura 13).

Figura 13 - Ato anestésico



Fonte: O autor (2023)

3.7.3 Preparo do campo operatório e laparotomia.

Cada animal foi colocado em decúbito dorsal sobre campo cirúrgico em bancada, com seus membros fixados com fita de esparadrapo. Após tricotomia da região abdominal anterior, procedeu-se, então a antissepsia da pele do abdome com solução de polivinilpirrolidona iodo alcoólico.

Todos os grupos foram submetidos a laparotomia mediana de 2 cm com bisturi de lâmina número 15, sendo a diérese realizada por planos até a cavidade peritoneal. (Figura 14).

Figura 14 - Exposição da cavidade abdominal após laparotomia por planos

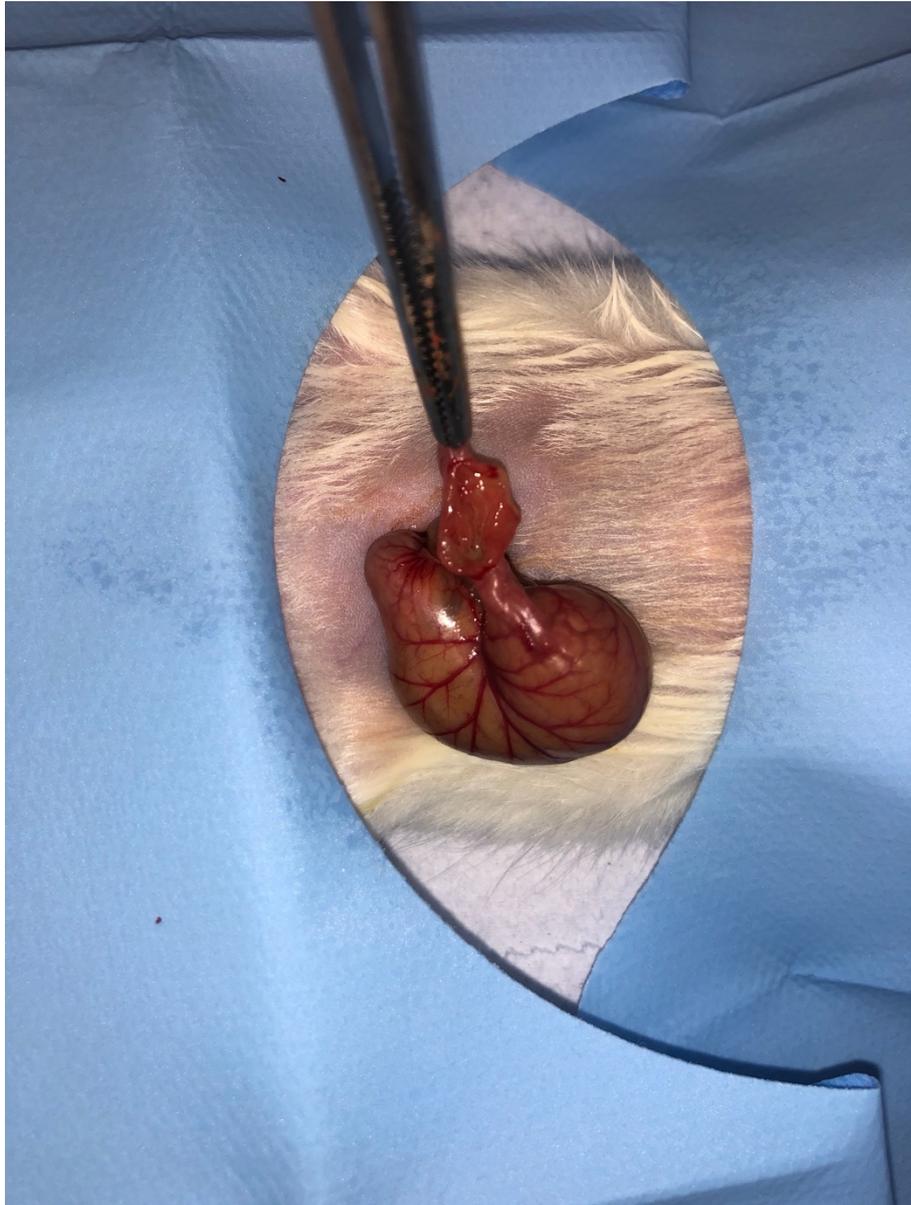


Fonte: O autor (2023)

3.7.4 Cecotomia e cecorrafia.

Obtendo-se acesso à cavidade o cólon direito foi identificado, podendo-se definir muito bem a localização do ceco. Após sua identificação foi realizada ordenha do conteúdo fecal no sentido distal para proximal com objetivo de diminuir a contaminação com fezes, além de manter o campo operatório limpo. Foi realizada incisão de 2 cm na borda anti-mesocólica da parede do ceco (Figura 15).

Figura 15 - Cecotomia



Fonte: O autor (2023)

Em seguida foi realizada colorrafia, com sutura contínua, com fio de polipropileno, 5.0, com agulha cilíndrica de 1,3 cm (BRASUTURE – São Sebastião da Grama, SP) (Figuras 16 e 17).

Figura 16 - Cecorrafia



Fonte: O autor (2023)

Figura 17 - Aspecto final após cecorrafia



Fonte: O autor (2023)

3.7.5 Posicionamento de membrana de PRF.

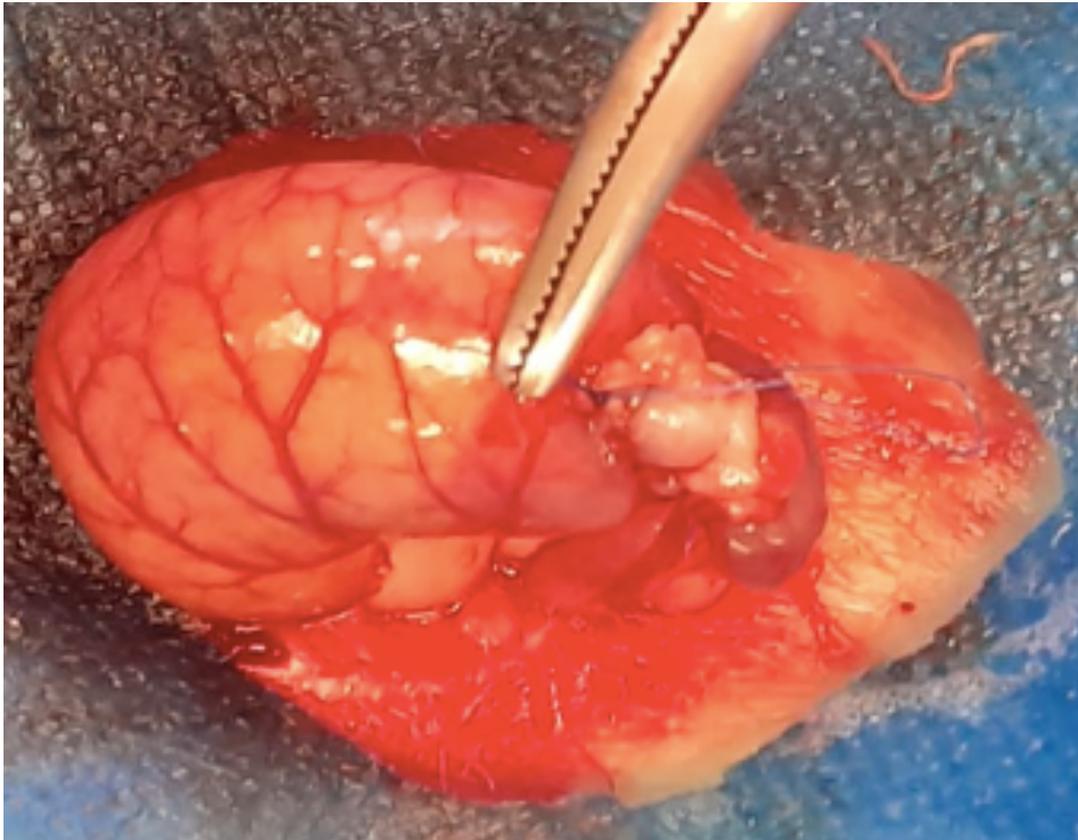
Nos animais dos grupos II e IV foi posicionada membrana de PRF de 2 cm cobrindo a linha de sutura cólica, criando um *patch*. Ela foi fixada com sutura contínua com fio de polipropileno, 5.0, com agulha cilíndrica de 1,3 cm (BRASUTURE – São Sebastião da Gramma, SP). (Figuras 18 e 19)

Figura 18 - Rato grupo II- Aspecto final com PRF



Fonte: O autor (2023)

Figura 19 - Rato grupo IV - Aspecto final com PRF



Fonte: O autor (2023)

A síntese da parede abdominal, em todos os grupos, foi realizada em dois planos – o primeiro, incluindo o peritônio, músculo e aponeurose, com sutura contínua simples e o segundo, o tecido subcutâneo e pele, com sutura contínua, utilizando-se fio de Nylon 3.0 com agulha cortante de 1,5 cm (BRASUTURE – São Sebastião da Grama, SP).

3.8 Evolução pós-operatória

Após a recuperação anestésica os animais foram colocados em gaiolas, em grupos de dois, com água e ração padrão à vontade, inclusive para aqueles do grupo B (desnutridos). Entretanto, este grupo ainda recebeu dieta à base de fubá, para que não houvesse problemas relacionados ao não reconhecimento da ração.

Foi adicionado paracetamol de uso veterinário na dose de 200 mcg/kg à água, para analgesia pós-operatória.

3.9 Eutanásia e ressecção do cólon direito.

Os animais foram reoperados no sétimo dia pós-operatório. Imediatamente antes da indução anestésica, o peso de cada animal foi aferido e anotado (Marte balança eletrônica modelo AS5500 C, Marte Balanças e Aparelhos de Precisão Ltda – São Paulo, SP).

Após anestesia com as mesmas doses da operação inicial, foi ministrada dose 5 vezes maior com objetivo de causar eutanásia. Foi realizada uma incisão mediana xifo-púbica, que permitiu a visualização completa da cavidade abdominal. Foi pesquisada a presença de sinais de peritonite, abscesso, deiscência de anastomose ou obstrução intestinal. (Figura 20)

Figura 20 - Peça cirúrgica *in locu* – Grupo II-Rato11



Fonte: O autor (2023)

Foi realizada secção do cólon direito o mais distante possível da linha de sutura. Nos casos em que havia aderências de outras vísceras, estas eram cuidadosamente ressecadas em monobloco, com a o objetivo de não se danificar a linha de sutura no ceco (Figura 21).

Figura 21 - Peça cirúrgica contendo ceco e intestino delgado



Fonte: O autor (2023)

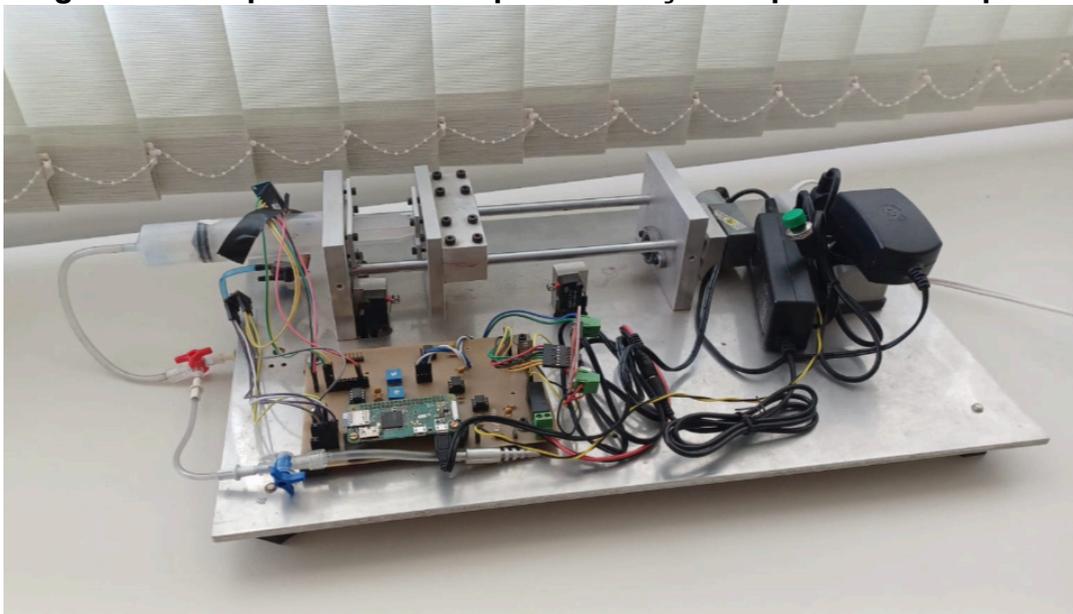
3.10 Estudo da pressão de ruptura da anastomose

Para a determinação da pressão de ruptura da anastomose, foi utilizado o manômetro desenvolvido exclusivamente para este estudo sob a liderança do professor Lucas Oliveira, Centro Federal de Educação Tecnológica de Minas Gerais, CEFET/MG, campus Divinópolis. Para mensuração da pressão de ruptura na faixa de 0 a 750 mmHg, adotou-se o sensor de pressão diferencial, MPX5100DP, que apresenta erro máximo de 2,5% do fundo de escala. A resposta do sinal analógico gerada pelo sensor é então processada através de um circuito filtragem, que desempenha as funções de filtro e *buffer* simultaneamente. Em seguida, o sinal

analógico pré-processado é enviado ao módulo conversor analógico-digital, ADS 1115, para conversão da grandeza analógica em valor digital que ao final do procedimento é encaminhado ao microcontrolador, Pi Zero W, do dispositivo encerrando-se a etapa de aquisição do valor de pressão de ruptura. Por sua vez, o acionamento e controle do dispositivo desenvolvido para esse trabalho (Figura 22) é realizado de acordo com a configuração estabelecida pelo usuário na interface de comunicação. Nessa interface, o usuário define todos os parâmetros do dispositivo para realização do experimento, sendo o parâmetro mais importante, a velocidade de avanço do êmbolo da seringa.

Para exercer uma pressão contínua e uniforme, a seringa presente no dispositivo foi carregada com água e por meio de uma sonda de nelaton de 8 Fr foi acoplada à peça cirúrgica que foi avaliada. Com o avançar do êmbolo, a amostra era preenchida com água até que se identificasse a ruptura. Simultaneamente, a pressão do conjunto seringa/amostra foi constantemente mensurada, enquanto as leituras foram armazenadas no microcontrolador do dispositivo.

Figura 22 - Dispositivo CEFET para avaliação da pressão de ruptura



Fonte: O autor (2023)

A peça cirúrgica obtida foi submetida a limpeza com soro fisiológico com mínima pressão. O coto foi suavemente adaptado a extremidade metálica da sonda e realizada uma ligadura com categut 2.0, conforme apresentado na Figura 23.

Figura 23 - Ceco sendo adaptado ao dispositivo para avaliação da pressão de ruptura



Fonte: O autor (2023)

Foi registrada a pressão máxima alcançada no momento da ruptura. O gráfico abaixo mostra o comportamento da curva pressórica e o ponto que marca sua queda abrupta representa o valor máximo da pressão e momentos exatos da ruptura. Os valores são obtidos em mmHg. (Figura 24)

Figura 24 - Exemplo de documentação gráfica Grupo I-Rato1

Fonte: O autor (2023)

3.11 Avaliação do local da ruptura.

Foi analisado o local da ruptura utilizando dispositivo de vídeo com sistema em câmera lenta para definir o local da ruptura com maior precisão, sendo definida ruptura na linha de sutura ou fora da linha de sutura. Eventuais deiscências anastomóticas também foram testadas da mesma forma. (Figura 25 e 26).

Figura 25 - Ruptura fora da linha de sutura



Fonte: O autor (2023)

Figura 26 - Ruptura na linha de sutura



Fonte: O autor (2023)

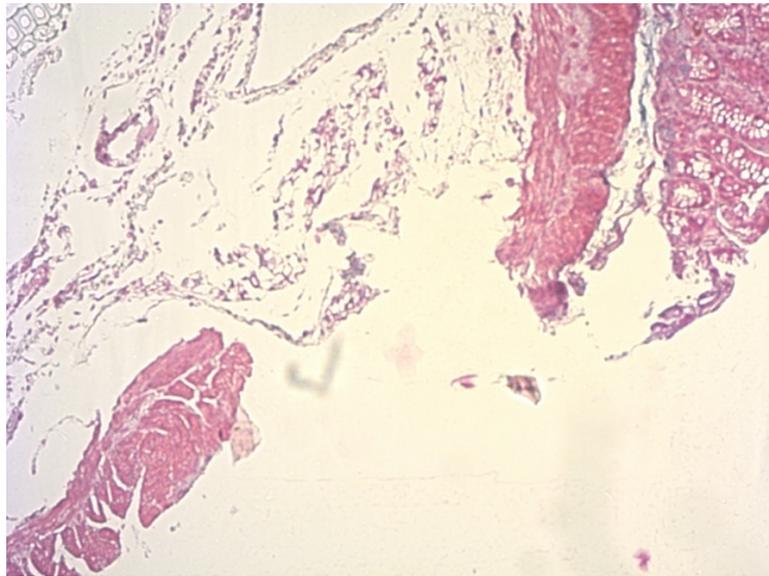
3.12 Estudo histopatológico

Foram incluídas nesta análise os animais dos grupos III e IV apenas. O mesmo segmento submetido às análises prévias foi preparado com a introdução de cilindro

de papel no lumém, para evitar colabamento da parede e então foi fixado em formol tamponado a 10%.

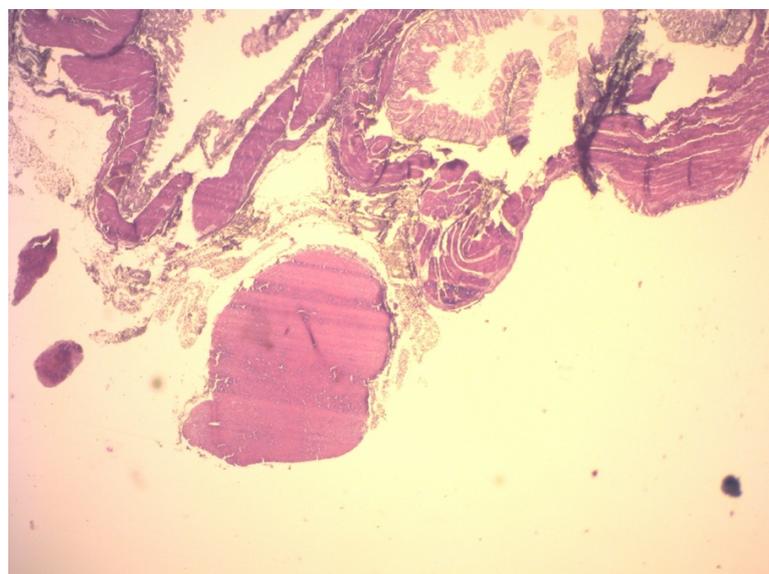
As peças foram enviadas ao Laboratório de Patologia da Faculdade de Medicina da Universidade – UFSJ CCO para o preparo dos blocos de parafina. Foram realizados cortes perpendiculares à zona de sutura do ceco, e corados pela hematoxilina e eosina, conforme a rotina do laboratório (Figuras 27 e 28).

Figura 27 - Linha de sutura sem PRF



Microscopia HE. Fonte: O Autor (2023)

Figura 28 - Linha de sutura com PRF



Microscopia HE. Fonte: O Autor (2023)

A avaliação da cicatrização foi realizada por microscopia de luz, por patologista experiente que desconhecia a que grupo de animais provinha o material.

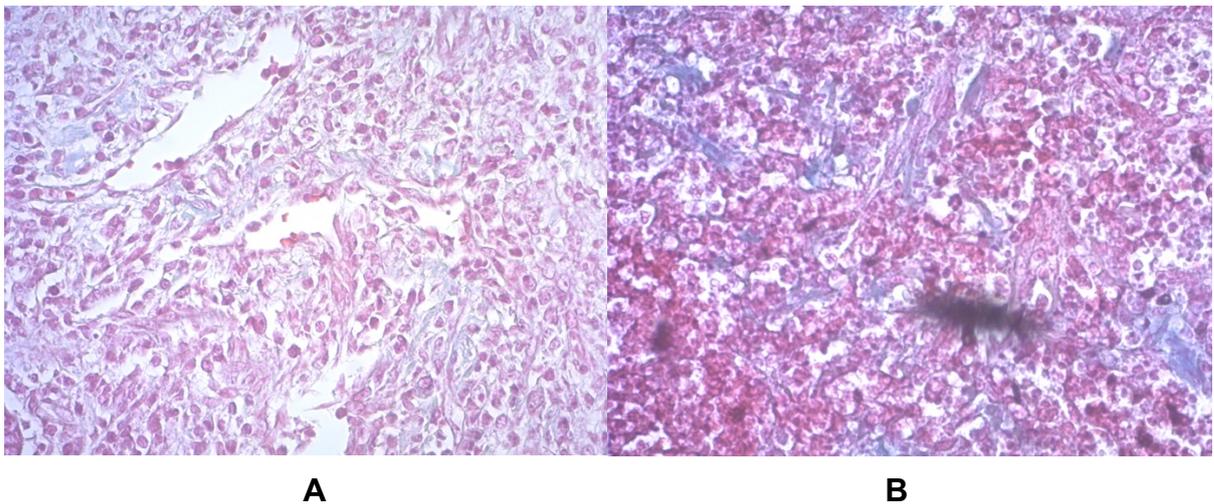
Os seguintes indicadores foram considerados em cada peça:

- 1) Maior área de Colágeno justo à linha de sutura no maior aumento (40X)
- 2) Maior área de Reticulina justo á linha de sutura no maior aumento (40X)

3.12.1 Quantificação do colágeno

Foi utilizada coloração de Gomery, usualmente utilizada para realçar o colágeno. Não foi realizada diferenciação entre colágeno tipo I e tipo III. (Figura 29)

Figura 29 - Área de colágeno grupo III (A), Área de colágeno grupo IV (B)

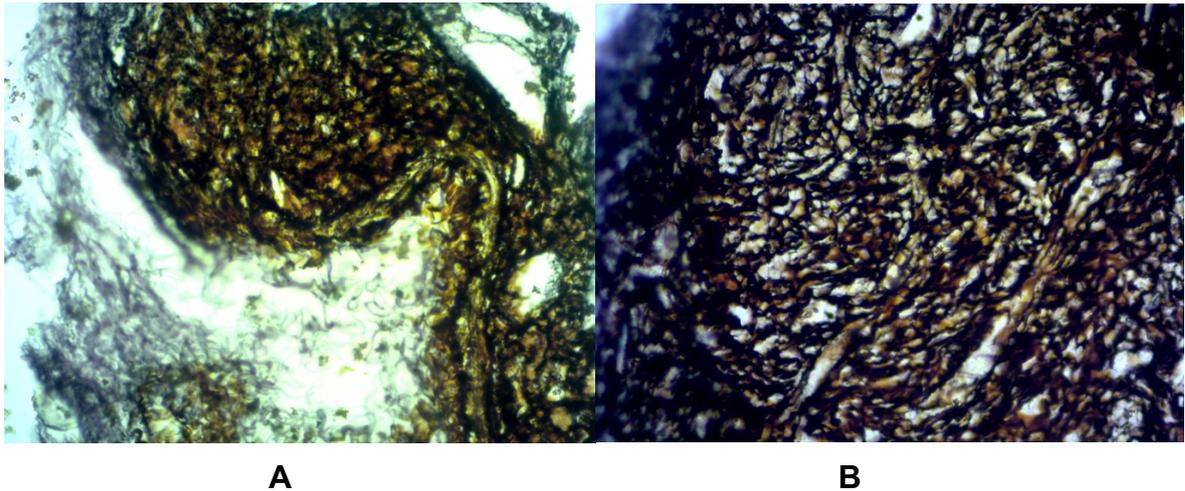


Fonte: O autor (2023)

3.12.2 Quantificação da reticulina

Foi utilizada coloração específica contida no produto comercial HistoKit® usualmente utilizada para realçar a reticulina. (Figura 30)

Figura 30 - Área de colágeno grupo III (A), Área de colágeno grupo IV (B)



Fonte: O autor (2023)

3.13 Análise estatística

Os resultados obtidos foram analisados sob o ponto de vista estatístico, utilizando-se os *softwares* SPSS 20.0 (*Special package for social sciences*) e Microsoft Excel.

O cálculo amostral foi baseado em parâmetros estimados a partir de estudo prévio similar realizado por (DAGLIOGLU *et al.*, 2018). Ele foi realizado utilizando a ferramenta online disponibilizada pelo Laboratório de Epidemiologia e Estatística da USP (<http://www.lee.dante.br>). Calculou-se o N amostral utilizando a comparação de duas médias, sendo necessário informar o desvio padrão, a diferença a ser detectada, nível de significância, poder do teste e teste de hipótese.

Os resultados obtidos foram comparados entre os quatro grupos por meio de análise de variância para as variáveis de pressão de ruptura anastomótica e local de ruptura. Além disso, no grupo desnutridos foram analisadas as dosagens de colágeno e reticulina na linha de sutura. Foram consideradas significativas as diferenças correspondentes ao valor de $p < 0,05$. Desvio padrão: 35.0000; Diferença a ser

detectada: 36.0000; Nível de significância: 5%; Poder do teste: 80%, Teste de hipótese: bicaudal. Tamanho da amostra calculado para cada grupo: 10.

O teste exato de Fisher foi utilizado para comparar os pesos dos animais entre os grupos nutridos e desnutridos

O teste U de Mann-Whitney foi utilizado para avaliar pressão de ruptura da sutura, quantidade colágeno e reticulina

O teste t de Student de amostras pareadas foi utilizado para comparar o peso e a concentração de hidroxiprolina dos dias da operação e da reoperação.

O teste de Qui quadrado foi utilizado para avaliação do local de ruptura.

Todas as probabilidades menores que 5% ($p < 0,05$) foram consideradas significantes.

4 RESULTADOS

4.1 - ÓBITOS

Dentre os 40 animais do estudo quatro evoluíram para o óbito, sendo dois do grupo III e dois do grupo IV. Os eventos ocorrem com durante o período de alimentação pré-operatório e as idades dos animais variara entre 64 e 68 dias.

4.2 LOCAL DA RUPTURA

Foi observado que no grupo sem utilização da membrana de PRF houve deiscência em 2 animais, 3 rupturas ocorreram fora da linha de sutura e 3 na linha de sutura. Já no grupo em que foi utilizada a membrana de PRF, além de não haver deiscência, todos os locais de ruptura foram fora da linha de sutura. Pode-se constatar que houve diferença estatística para o evento ruptura fora da linha de sutura entre os grupos nos quais se utilizou ou não a membrana de PRF ($p=0,038$). (Tabela 1).

Tabela 1 - Animais desnutridos – local da ruptura

RUPTURA	SEM PRF		COM PRF		Valor p
	n	%	n	%	
DEISCÊNCIA	2	25,00	0	0,00	0,038
FORA DA SUTURA	3	37,50	8	100,00	
NA LINHA DE SUTURA	3	37,50	0	0,00	

*Teste de Qui Quadrado significativo a 5%.

Fonte: Dados da pesquisa.

Foi observada associação significativa em todas as avaliações, sendo que o grupo desnutrido apresentou maior proporção de ruptura fora da linha. Quando foram comparados os grupos nutrido e desnutrido houve prevalência de ruptura na linha de sutura no primeiro, ocorrendo 100% das vezes, com $p<0,01$. Já no grupo de animais desnutridos, a maioria dos eventos de ruptura foram fora da linha de sutura (78,57%), sinalizando maior fragilidade da parede cólica nos animais com carências nutricionais.

Quando foram comparados os grupos nutridos com o grupo desnutrido que utilizaram cobertura de PRF, houve diferença estatística significativa. No primeiro caso, 100% das rupturas foram na linha de sutura. No segundo, as rupturas foram fora da linha, ($p=0,01$). Quando foram comparados os grupos que receberam aplicação de PRF foi observado que para animais nutridos, 100% das rupturas foram na linha de sutura. Já no grupo desnutrido ocorreram duas deiscências, sendo que esses animais não foram comparados neste momento. Houve três rupturas na linha (50%) e 3 fora da linha de sutura, também apresentando diferença estatística ($p=0,036$). (Tabela 2).

Tabela 2 - Local da ruptura por status nutricional

Ruptura	Grupo				Valor p
	Nutrido		Desnutrido		
	n	%	n	%	
Fora	0	0	11	78,57	<0,001*
Linha	20	100	3	21,43	
Ruptura	Com PRF				Valor p
	Nutrido		Desnutrido		
	n	%	n	%	
Fora	0	0	8	100	<0,001*
Linha	10	100	0	0	
Ruptura	Sem PRF				Valor p
	Nutrido		Desnutrido		
	n	%	n	%	
Fora	0	0	3	50	0,036*
Linha	10	100	3	50	

* Teste Exato de Fisher significativo a 5%. Fonte: Dados da pesquisa.

Foi analisada a distribuição por tratamento geral e por grupo. Quando foram avaliados animais COM e SEM PRF, nota-se que 55,6% das rupturas ocorreram na linha de sutura dos animais do primeiro grupo, contra 81,3% dos animais que não receberam a membrana. Houve maioria de ocorrência do evento ruptura fora da linha (44,4%), em animais que receberam membrana de PRF. Não foi observada nenhuma diferença significativa entre os grupos. Observou-se tendência apenas para os grupos dos animais desnutridos, onde observou-se que o grupo com PRF apresentou maior proporção de ruptura fora da linha. (Tabela 3).

Tabela 3 - Local de ruptura COM e SEM PRF

Ruptura	Tratamento				Valor p
	Com PRF		Sem PRF		
	n	%	n	%	
Fora	8	44,4	3	18,8	0,154
Linha	10	55,6	13	81,3	

Ruptura	Nutrido				Valor p
	Com PRF		Sem PRF		
	n	%	n	%	
Fora	0	0	0	0	-
Linha	10	100	10	100	

Ruptura	Desnutrido				Valor p
	Com PRF		Sem PRF		
	n	%	n	%	
Fora	8	100	3	50	0,07
Linha	0	0	3	50	

* Teste Exato de Fisher significativo a 5%. Fonte: Dados da pesquisa.

4.3 – PESO DOS ANIMAIS

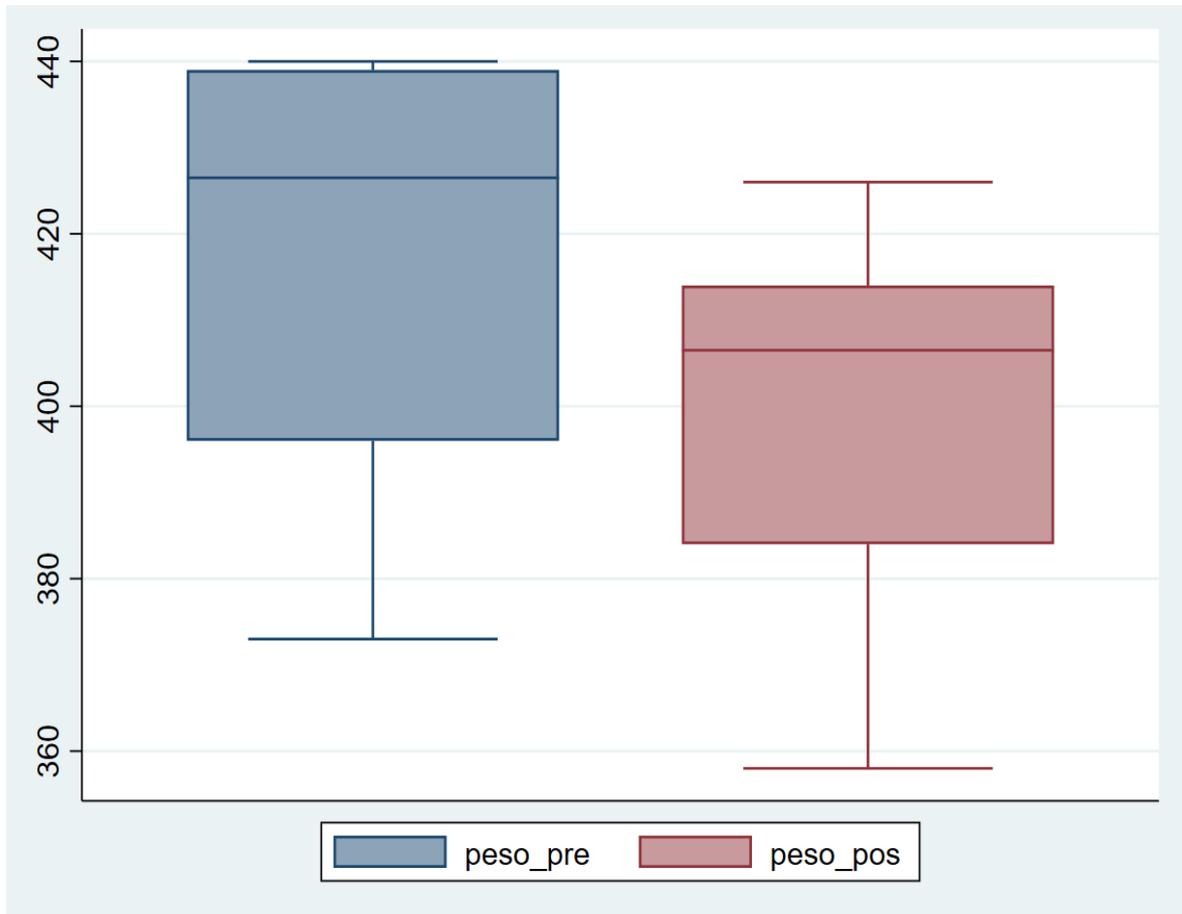
O peso inicial dos animais nutridos que não receberam PRF variou de 373 g a 440 g (média de 417,4 g) e o peso no momento da eutanásia foi de 358g a 420 g (média de 399,5 g). Já os animais que receberam PRF variaram o peso de 352 g a 535 g (média de 475 g), no pré-operatório. Já no momento final do experimento a oscilação foi entre 336 g a 514g (média de 450,8 g). (Tabela.4)

Tabela 4 - Valores dos pesos dos animais nutridos

Grupo	Média	DP	Mín	Q1	Mediana	Q3	Máx	Valor p
Sem PRF								
Peso Pré	417,4	24,0	373	396	426,5	439	440	<0.001
Peso Pós	399,5	21,3	358	384	406,5	414	426	
Com PRF								
Peso Pré	475,0	56,4	352	443	493	512	535	<0.001
Peso Pós	450,8	59,1	336	398	476	494	514	

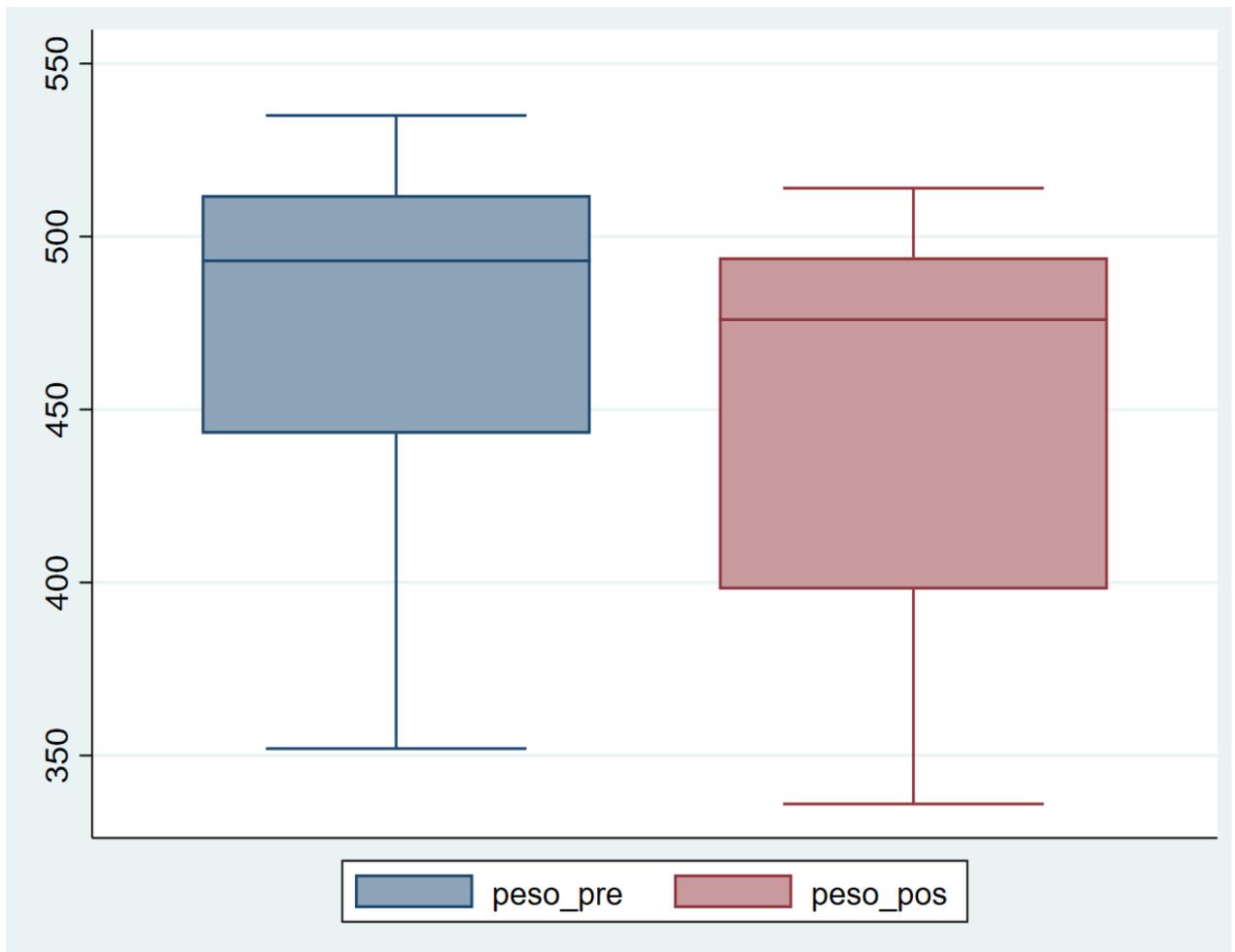
Fonte: Dados da pesquisa.

Observa-se que para ambos os grupos o peso no pré-operatório era maior que o peso após o procedimento. Nota-se que há diferença estatisticamente significativa na variação do peso em relação ao momento cirúrgico, ($p < 0,001$) (Gráficos 1 e 2).

Gráfico 1 - Peso dos animais nutridos sem PRF

Fonte: Dados da pesquisa.

Gráfico 2 - Peso Animais nutridos com PRF.



Fonte: Dados da pesquisa.

Verificou-se que, para todos os grupos, a massa no momento da eutanásia era maior do que na cirurgia. Houve diferença entre eles tanto no pré-operatório, quanto na eutanásia. Pode-se observar que, ao se comparar os grupos com e sem PRF, em relação aos pesos pré e pós-operatório houve diferença estatística, com $p < 0.001$. (Tabela 5).

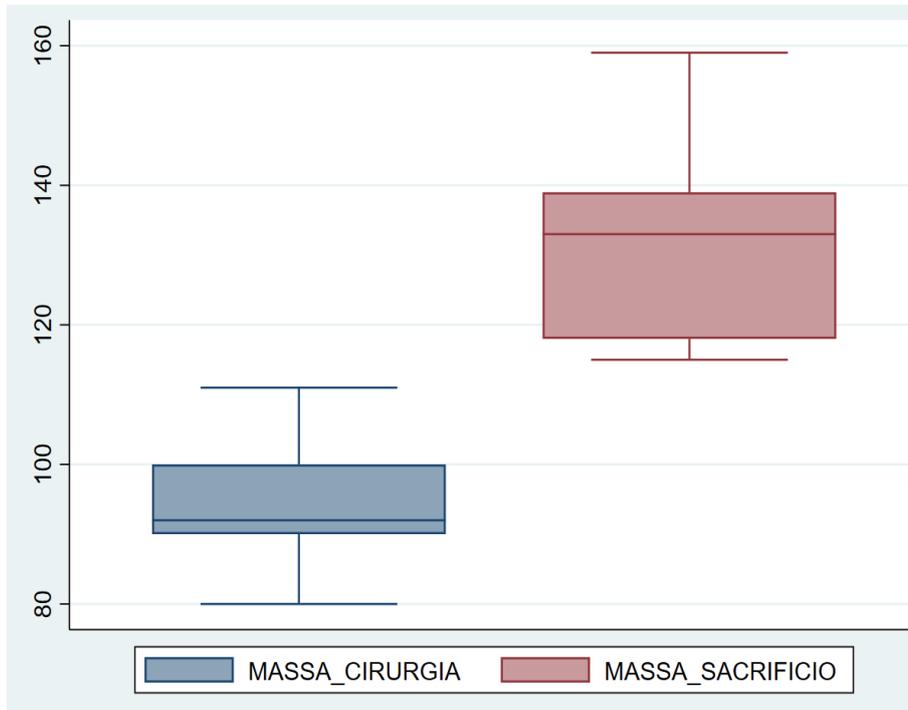
Tabela 5 - Peso Animais Desnutridos

Grupo	Média	DP	Mín	Q1	Mediana	Q3	Máx	Valor p
Sem PRF								
Peso Pré	88,8	10,5	76	80	87	97,5	105	<0.001
Peso Pós	121,8	16,6	101	106,5	123	134,5	145	
Com PRF								
Peso Pré	94,3	9,6	80	90	92	100	111	<0.001
Peso Pós	132,9	14,5	115	118	133	139	159	

Fonte: Dados da pesquisa.

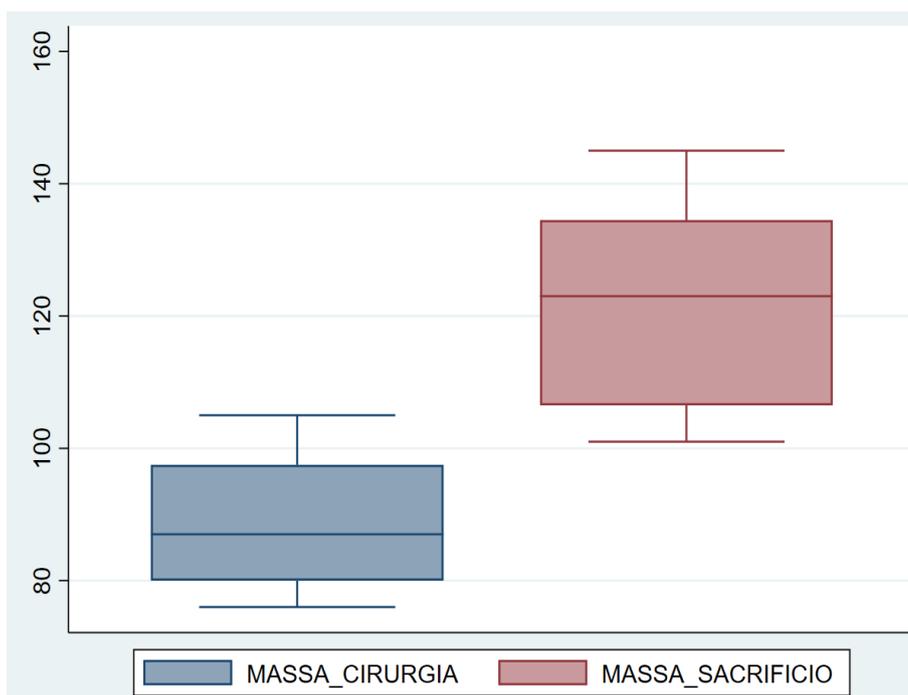
Pode-se notar, que para os dois grupos de animais desnutridos, houve ganho de peso após o procedimento. Fato que não ocorreu com os animais nutridos. (Gráficos 3 e 4).

Gráfico 3 - Peso animais desnutridos com PRF



Fonte: Dados da pesquisa.

Gráfico 4 - Peso Animais desnutridos sem PRF



Fonte: Dados da pesquisa.

Os grupos foram analisados mediante a variação de peso antes e após procedimento. O grupo desnutrido que não recebeu PRF apresentou ganho de peso com mediana inicial de 87 gramas e final de 123 g. O grupo desnutrido que recebeu a membrana de PRF também apresentou elevação na mediana com valor inicial de 94,3 g. e final de 133 g. ($p=0,413$). Por outro lado, o subgrupo de animais nutridos apresentou perda ponderal, quando comparados os pesos iniciais e finais. A mediana do grupo sem PRF variou entre 426,5 g e 406,5 g. Já no grupo com PRF a mediana variou entre 493,0 g e 476,0 g. Estes resultados alcançaram significância estatística com $p = 0,008$. Os demais valores podem ser observados na tabela 6.

Tabela 6 - Variação de peso por grupo antes e após procedimento

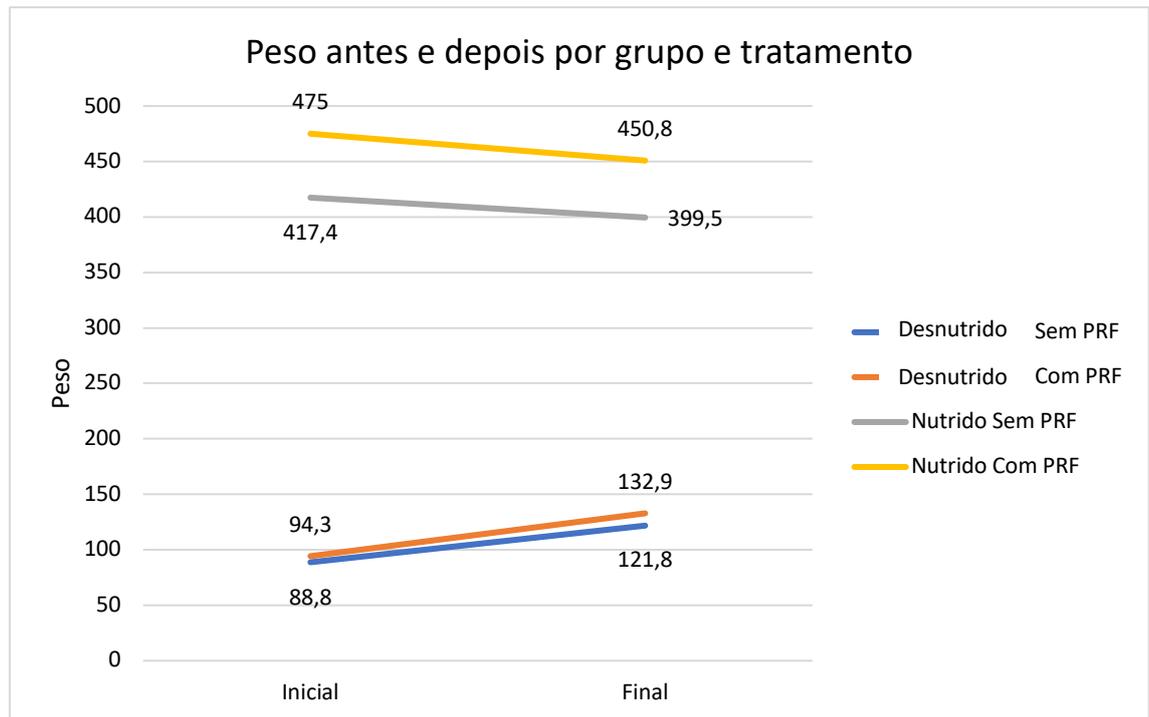
Grupo	Tratamento	Peso (g)						Valor p
		Inicial			Final			
		Média	DP	Mediana	Média	DP	Mediana	
Desnutrido	Sem PRF	88,8	10,5	87,0	121,8	16,6	123,0	0,002**
Desnutrido	Com PRF	94,3	9,6	92,0	132,9	14,5	133,0	0,002**
	Valor p	0,413			0,245			
Nutrido	Sem PRF	417,4	24,0	426,5	399,5	21,3	406,5	0,016**
Nutrido	Com PRF	475,0	56,4	493,0	450,8	59,1	476,0	0,008**
	Valor p	0,008*			0,043*			

* Teste de Mann Whitney significativo a 5%..

** Teste de Wilcoxon significativo a 5%.

Fonte: Dados da pesquisa.

No gráfico 5, observou-se que no grupo nutrido o peso reduziu, independente do tratamento. No grupo desnutrido, o peso aumentou também em ambas as situações em que foram aplicadas a membrana de PRF.

Gráfico 5 - Variação de peso por grupo

Fonte: Dados da pesquisa.

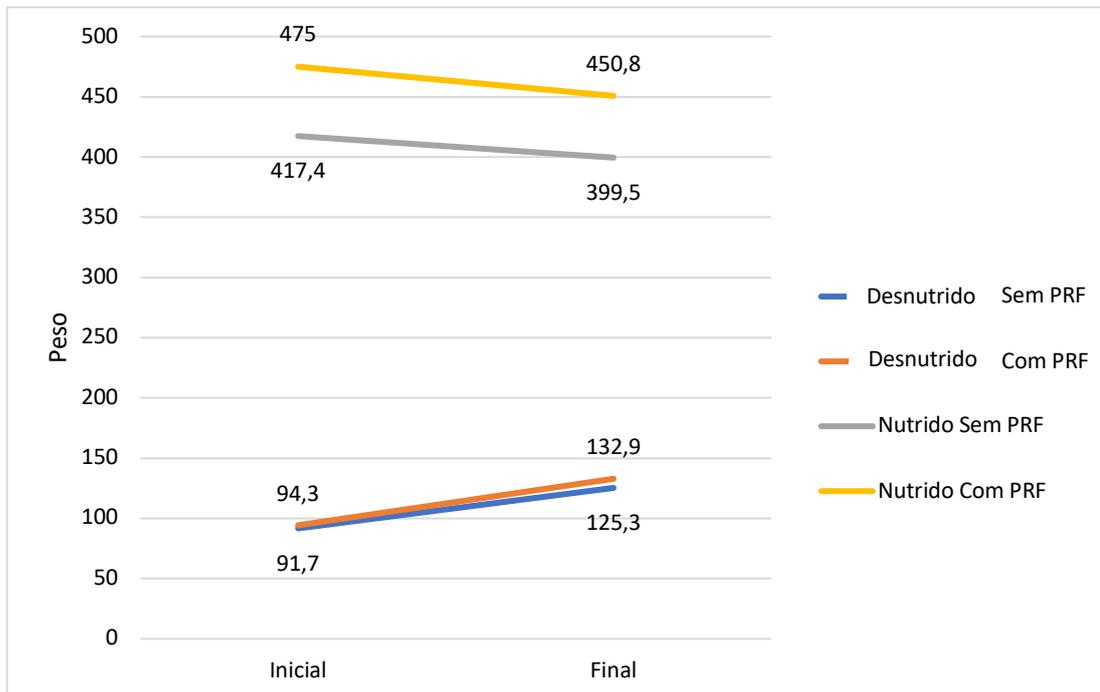
Quando foram comparados os grupos, excluindo animais com deiscência pode-se perceber que houve significância estatística para a perda de peso nos animais nutridos com $p=0,008$. Já para os animais desnutridos, a variação do peso não foi significativa, com $p=0,867$. As comparações foram semelhantes ao se utilizar tanto os valores da média, quanto as medianas. O peso é praticamente 4 vezes menor nos animais desnutridos, mas a variação sempre foi no sentido do ganho de peso para esse grupo. (Tabela 7), (Gráfico 6).

Tabela 7 - Comparação de peso – sem deiscência

Grupo	Tratamento	Peso						Valor p
		Inicial			Final			
		Média	DP	Mediana	Média	DP	Mediana	
Desnutrido	Sem PRF	91,7	10,7	94,0	125,3	17,9	133,0	0,002**
Desnutrido	Com PRF	94,3	9,6	92,0	132,9	14,5	133,0	0,002**
	Valor p	0,867			0,656			
Nutrido	Sem PRF	417,4	24,0	426,5	399,5	21,3	406,5	0,016**
Nutrido	Com PRF	475,0	56,4	493,0	450,8	59,1	476,0	0,008**
	Valor p	0,008*			0,043*			

* Teste de Mann Whitney significativo a 5%. Comparação entre tratamentos mesmo grupo.

** Teste de Wilcoxon significativo a 5%. Fonte: Dados da pesquisa.

Gráfico 6 - Comparação de peso – sem deiscência

Fonte: Dados da pesquisa.

4.4 – PRESSÃO DE RUPTURA

A pressão de ruptura das suturas cólicas nos 20 animais nutridos variou entre 128 mmHg a 287 mmHg, com média de 180,1 mmHg, mediana de 171,9 mmHg e desvio padrão de 47, no grupo. Já no subgrupo de animais que receberam o PRF os valores oscilaram entre 127,64 mmHg e 289,27 mmHg, com média de 201,3 mmHg, mediana de 197,1 mmHg de desvio padrão de 52,3.

Foi observado que não há diferença entre os grupos sem PRF e com PRF em relação a pressão de ruptura, ($p=0,248$). Além disso, é importante ressaltar, que o evento “ruptura” ocorreu na linha de sutura em todos os 20 animais dos dois grupos, não tendo sido observada a ocorrência de deiscência (Tabela 8).

Tabela 8 - Animais nutridos – Pressão de ruptura (mmHg)

Pressão	Média	DP	Mín	Q1	Mediana	Q3	Máx	Valor p
SEM PRF	180,1	47,0	127,7	153,0	171,9	194,9	287,0	
COM PRF	201,3	52,3	127,6	173,8	197,1	233,9	289,3	0,248
Total	190,7	49,6	127,6	159,9	177,7	227,9	289,3	

Fonte: Dados da pesquisa.

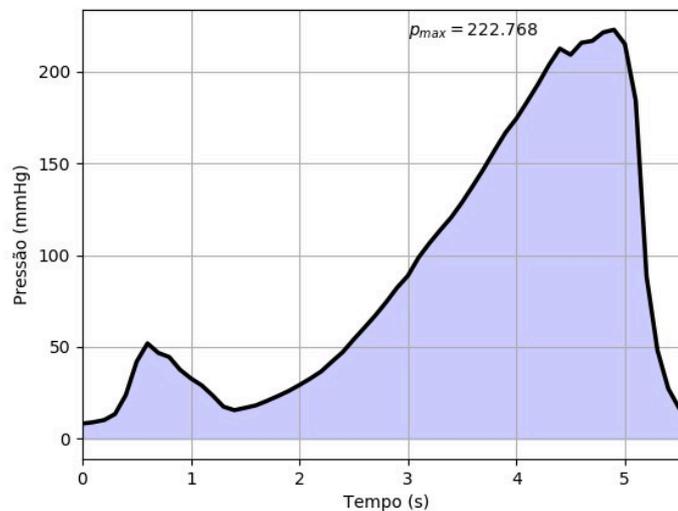
As figuras 31 e 32 exemplificam a curva que avalia a pressão de ruptura e mostra o momento e pressão exatos deste evento.

Figura 31- documentação gráfica Grupo I-R2



Fonte: O autor (2023)

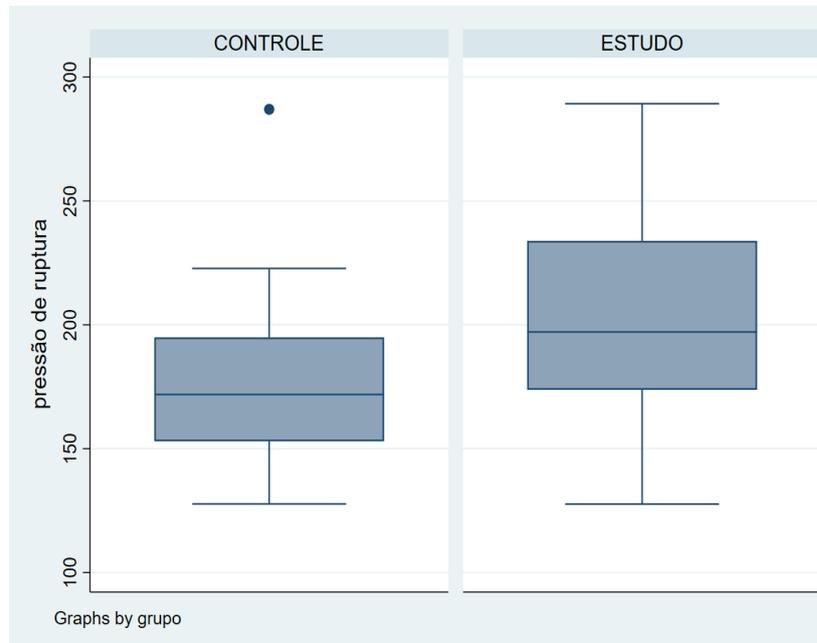
Figura 32- documentação gráfica Grupo II-R12



Fonte: O autor (2023)

O gráfico 7 evidencia uma discreta tendência aumentada nos valores do grupo nutridos com PRF, mas não houve diferença estática.

Gráfico 7 - Animais nutridos – Pressão de ruptura



Fonte: Dados da pesquisa.

A pressão de ruptura das suturas cólicas nos 20 animais desnutridos variou entre 11,63 mmHg a 298,89 mmHg, com média de 157,5 mmHg, mediana de 173,1 mmHg e desvio padrão de 112,1. Os valores foram diferentes de zero. Já no subgrupo de animais que receberam o PRF, os valores oscilaram entre 118,89 mmHg e 242,58 mmHg, com média de 186,4 mmHg, mediana de 193,8 mmHg de desvio padrão de 44,3. (Tabela 9).

Apesar de não apresentar diferença estatística significativa a 5%, foi observado que a distribuição da pressão no grupo com PRF apresenta menor variabilidade que o grupo Sem PRF, dado comprovado pelos valores do desvio padrão, 44,6 e 112,1, respectivamente. (Gráfico 8).

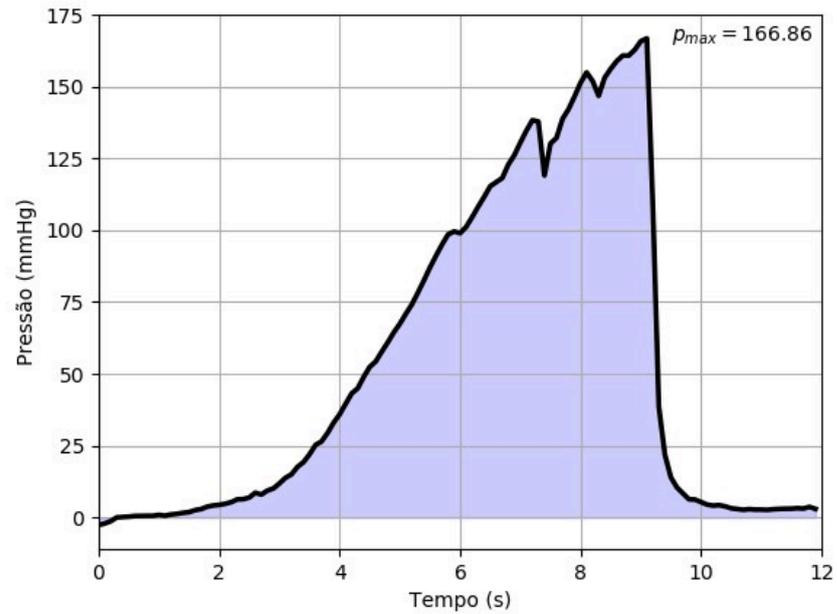
Tabela 9 - Animais desnutridos – Pressão de ruptura

Pressão	Média	DP	Mín	Q1	Mediana	Q3	Máx	Valor p
Sem PRF	157,5	112,1	11,6	46,5	173,1	255,2	299,0	
Com PRF	186,4	44,6	118,9	154,0	193,8	223,0	242,6	0,867
Total	171,0	85,8	11,6	118,9	193,8	242,6	299,0	

Fonte: Dados da pesquisa.

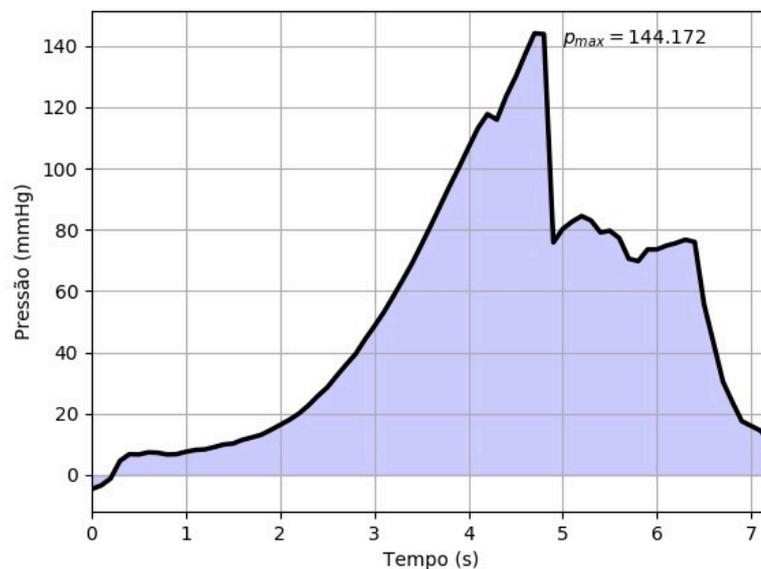
As figuras 33 e 34 exemplificam a curva que avalia a pressão de ruptura e mostra o momento e pressão exatos deste evento.

Figura 33- documentação gráfica Grupo III-R23

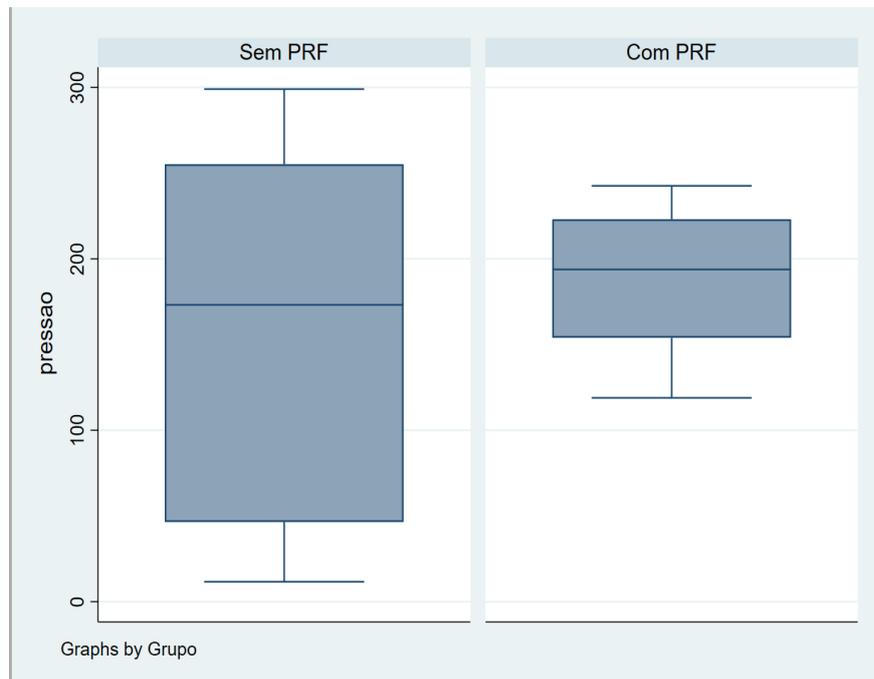


Fonte: O autor (2023)

Figura 34 - documentação gráfica Grupo IV-R34



Fonte: O autor (2023)

Gráfico 8 - Animais desnutridos - Pressão de ruptura

Fonte: Dados da pesquisa.

No grupo sem PRF ocorreram duas deiscências, que mesmo sendo identificadas durante o procedimento cirúrgico de reavaliação foram colocadas a prova no teste da pressão de ruptura e mostraram os dois resultados baixos (11,63 e 48,07 mmHg). (Tabela 10).

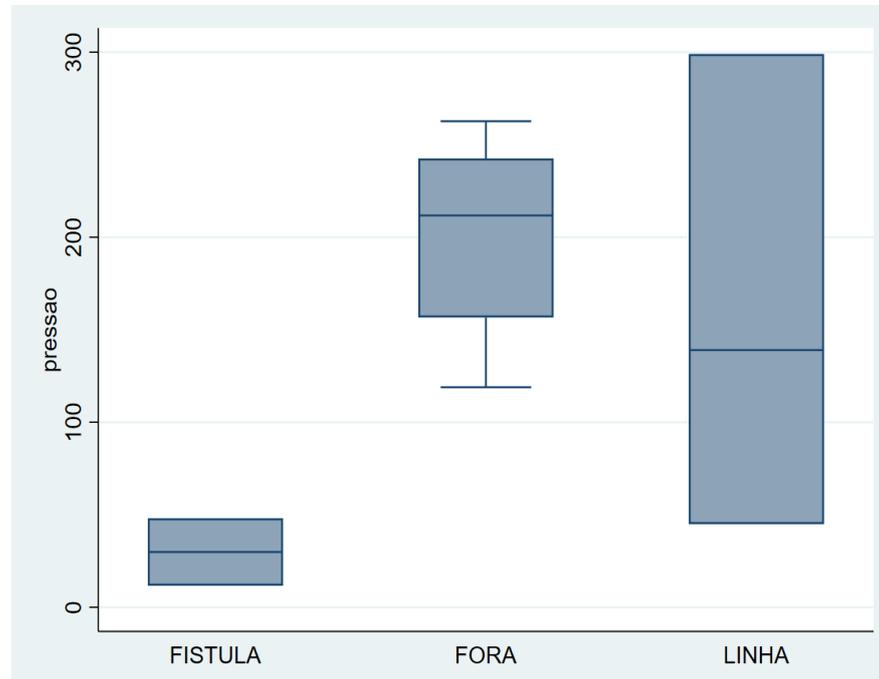
Tabela 10 - Pressão de ruptura- desnutridos / local da ruptura

Pressão	Média	DP	Mín	Q1	Mediana	Q3	Máx	Valor p
DEISCÊNCIA	29,9	25,8	11,6	11,6	29,9	48,1	48,1	
FORA	202,3	46,5	118,9	156,6	211,8	242,6	262,7	0,098
LINHA	161,0	128,5	44,9	44,9	139,0	299,0	299,0	

Fonte: Dados da pesquisa.

Apesar de não apresentar diferença estatisticamente significativa, foi observado que a distribuição da pressão para deiscência foi menor que os outros dois grupos (fora da linha de sutura e na linha de sutura). (Gráfico 9).

**Gráfico 9 - Animais desnutridos –
Pressão de ruptura / local da ruptura.**



Fonte: Dados da pesquisa.

Em relação a pressão, não foi possível observar diferença significativa entre os tratamentos dentro de cada grupo. Mas pode-se observar uma tendência à pressão de ruptura ser mais elevada nos grupos que receberam PRF. No grupo desnutrido que recebeu PRF a média foi de 186,4 mmHg e mediana de 193,8 mmHg. Já no grupo de animais nutridos a média foi de 201,3 mmHg e mediana de 197,1 mmHg. (Tabela 11).

Tabela 11 - Pressão de ruptura global

Grupo	Tratamento	Pressão			Valor p
		Média	DP	Mediana	
Desnutrido	Sem PRF	157,5	112,1	173,1	0,867
Desnutrido	Com PRF	186,4	44,6	193,8	
Nutrido	Sem PRF	180,1	47,0	171,9	0,248
Nutrido	Com PRF	201,3	52,3	197,1	

Fonte: Dados da pesquisa.

A tabela 12 mostra as análises das pressões de ruptura excluindo-se os animais que apresentaram deiscência. O valor médio do grupo de ratos desnutridos sem PRF foi de 200,1 mmHg, com mediana de 227,5 mmHg. Já o grupo nutrido com PRF apresentou, média de 186,4 e mediana de 193,8. Estes valores não apresentaram significância estatística, com $p=0,534$. Já no grupo de animais nutridos foi observada pressão média de 180,1 mmHg e mediana de 171,9 mmHg nos sem membrana e 201,3 mmHg e 197,1 mmHg naqueles com membrana. Não houve também diferença estatística, com $p=0,248$.

Tabela 12 - Pressão de ruptura – sem deiscência

Grupo	Tratamento	Pressão			Valor p
		Média	DP	Mediana	
Desnutrido	Sem PRF	200,1	93,6	227,5	0,534
Desnutrido	Com PRF	186,4	44,6	193,8	
Nutrido	Sem PRF	180,1	52,3	171,9	0,248
Nutrido	Com PRF	201,3	47,0	197,1	

Fonte: Dados da pesquisa.

Quando se compara os animais do grupo IV, desnutridos que recebeu PRF, com os animais do grupo I, (controle) nota-se que no primeiro a pressão de ruptura média foi de 186,4, mediana de 193,4 e desvio padrão de 41,3. Já no grupo controle a média foi 180,1, mediana de 171,9 e desvio padrão de 54,94. Não houve diferença estatística, representada por $p=0,31$, mas pode-se nota uma tendência a maior pressão de ruptura nos animais que receberam PRF, mesmo que desnutridos. (Tabela 13).

Tabela 13 - Pressão de ruptura – Grupo I comparado ao Grupo IV

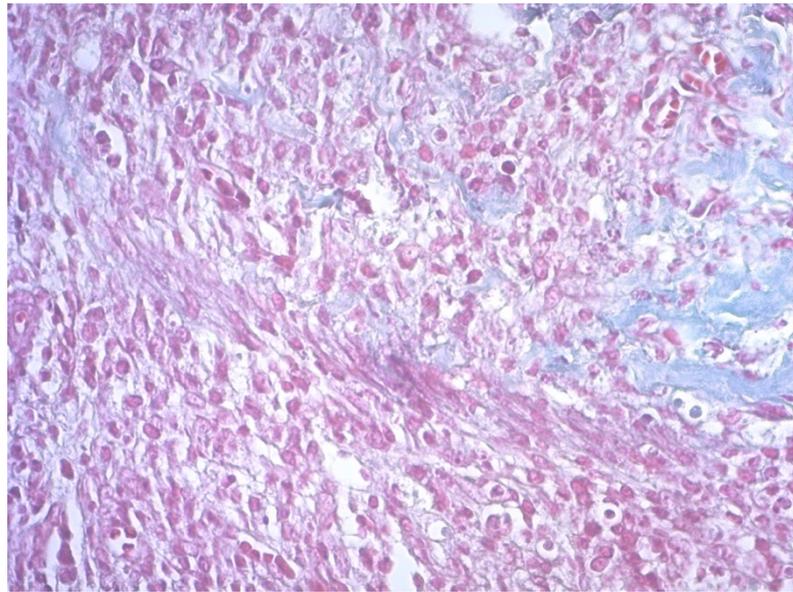
Grupo	Tratamento	Pressão			Valor p
		Média	DP	Mediana	
Desnutrido	Com PRF	186,4	41,3	193,4	0,31
Nutrido	Sem PRF	180,1	54,94	171,9	

Fonte: Dados da pesquisa.

4.5 - ANÁLISE DO COLÁGENO

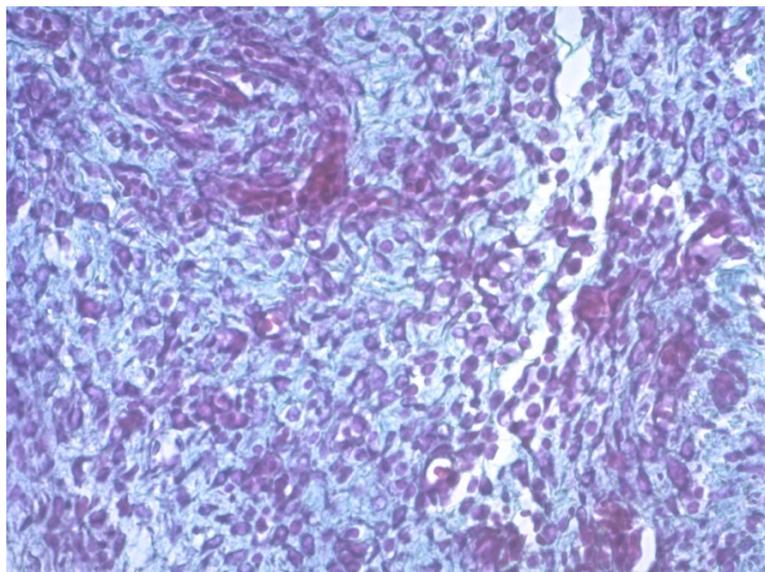
A avaliação do colágeno ocorreu apenas no subgrupo desnutridos. As peças cirúrgicas foram analisadas junto a linha de sutura e foi estipulada quantificação da maior área contendo colágeno nesta região. (Figuras 35 e 36).

Figura 35 - Análise de Colágeno (Grupo III)



Fonte: O autor (2023)

Figura 36 - Análise do Colágeno (Grupo IV)



Fonte: O autor (2023)

A tabela 14 mostra os maiores resultados por área próxima à linha de sutura de todos animais do grupo desnutridos. Pode-se observar que a menor área composta por coloração específica para colágeno no grupo sem PRF é igual a 7275,89 μm^2 enquanto no grupo com PRF é 10760,92 μm^2 . Já a maior área no grupo com PRF foi 23765 μm^2 enquanto no grupo com PRF foi 20890,40 μm^2 .

Tabela 14 - Animais Desnutridos – Colágeno

Sem PRF / N=8	área corada colágeno (μm^2)	Com PRF / N=8	área corada colágeno (μm^2)
HS-PRF 1	10 060,12	HC-PRF 1	18 870,88
HS-PRF 2	7 406,89	HC-PRF 2	12 549,88
HS-PRF 3	7 275,89	HC-PRF 3	10 760,92
HS-PRF 4	13 518,55	HC-PRF 4	10 757,14
HS-PRF 5	9 785,49	HC-PRF 5	13 267,87
HS-PRF 6	14 027,08	HC-PRF 6	18 695, 46
HS-PRF 7	20 908,83	HC-PRF 7	20 890,40
HS-PRF 8	23 765,48	HC-PRF 8	16 777,49

Fonte: Dados da pesquisa.

Ao avaliarmos a média da área corada representativa de colágeno pode-se observar que no subgrupo sem PRF, o valor foi igual a 13343, desvio padrão de 3722,47 e mediana de 11789,33. Já no grupo que recebeu PRF a média foi 14839,25, desvio padrão 6116,13 e mediana igual 18833,94. Não houve diferença estatística, sendo representada pelo valor $p=0,2917$. (Tabela 15).

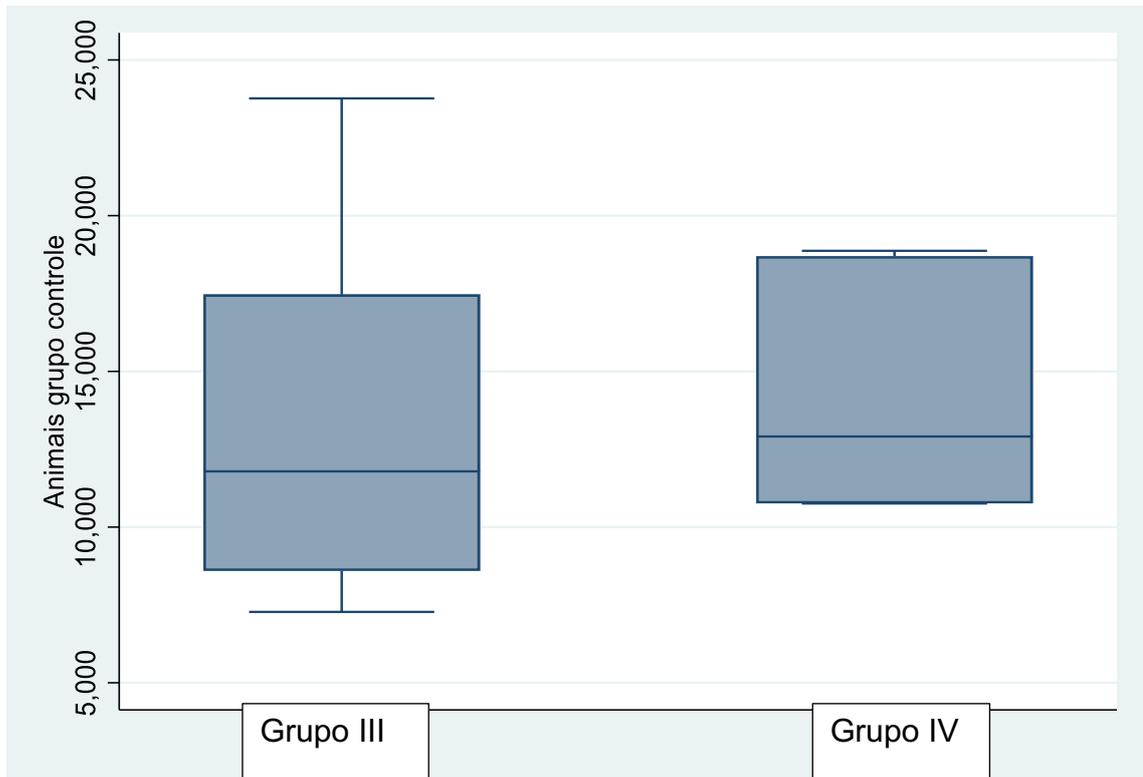
Tabela 15 - Animais Desnutridos – Análise estatística

Grupo	Tratamento	Colágeno			Valor p
		Média (μm^2)	DP	Mediana	
Desnutrido	Sem PRF	13343,00	3722,47	11789,33	0,2917
	Com PRF	14839,25	6116,13	18833,94	

Fonte: Dados da pesquisa.

No gráfico 10 pode-se notar a tendência em maior área com concentração de colágeno nos animais que receberam PRF.

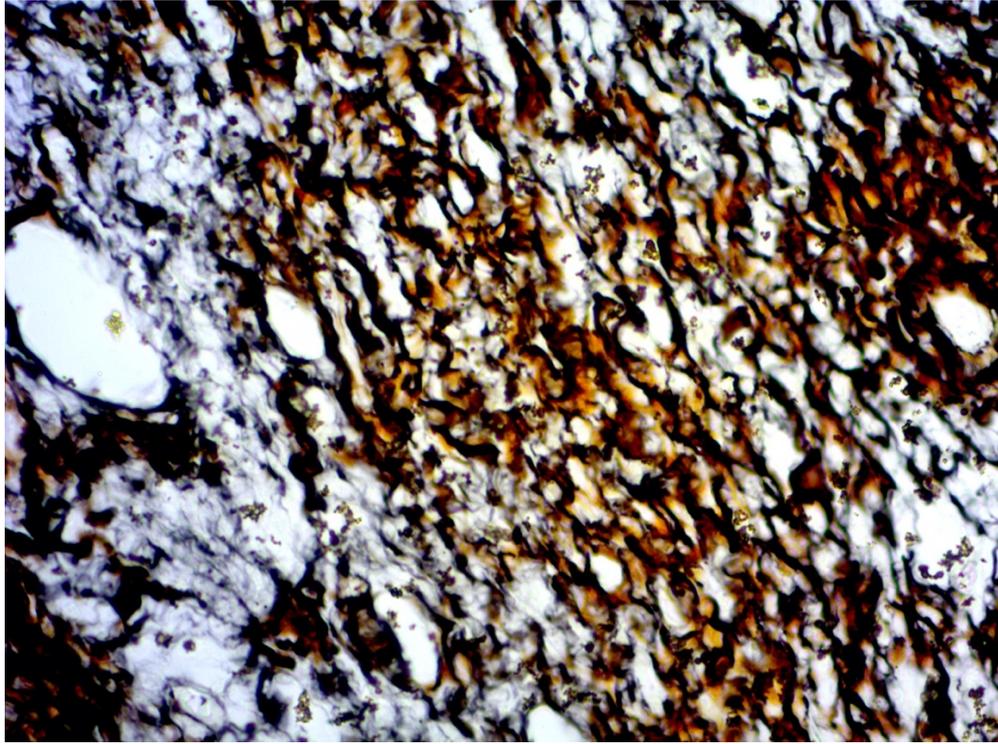
Gráfico 10 - Comparação área de colágeno – Desnutridos



4.6 - ANÁLISE DA RETICULINA

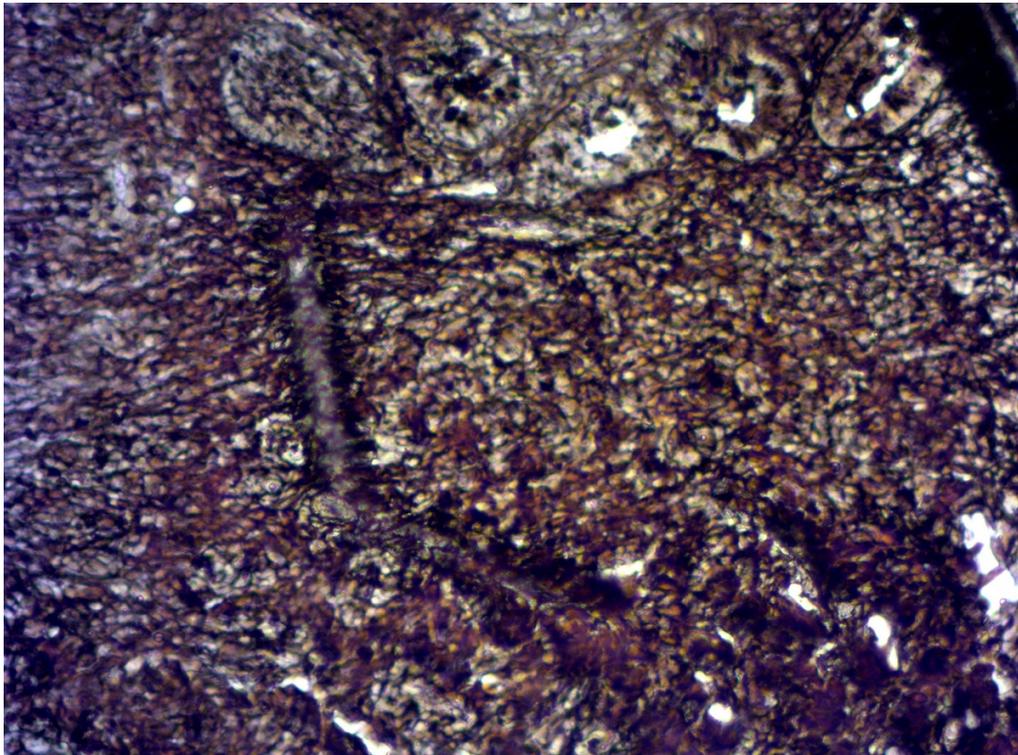
A avaliação da reticulina também ocorreu apenas nos grupos de ratos desnutridos. Foi optado por definir a maior área corada contendo o reagente específico HistoKit para reticulina por animal, tanto para o subgrupo sem PRF quanto para o com PRF (Figuras 37 e 38).

Figura 37 - Análise da Reticulina (Grupo III)



Fonte: O autor (2023)

Figura 38 - Análise Reticulina (Grupo IV)



Fonte: O autor (2023)

Pode-se observar que na lâmina de animal desnutridos sem PRF (figura 37), a área corada com reagente para reticulina é menor, sendo percebida diante da comparação com a lâmina de animal que recebeu PRF. A concentração de corante em tom castanho é predominante neste caso, o que caracteriza maior concentração de reticulina neste fragmento (figura 38).

A tabela 16 mostra os maiores resultados por área próxima à linha de sutura de todos os animais desnutridos. Pode-se observar que a menor área composta por coloração específica para reticulina no grupo sem PRF é igual a 7695,38 μm^2 enquanto no grupo com PRF é 11471,69 μm^2 . Já a maior área no grupo com PRF foi 24214,07 μm^2 enquanto no grupo com PRF foi 26511,40 μm^2 .

Tabela 16 - Animais Desnutridos – Reticulina

Sem PRF / N=8	área corada reticulina (μm^2)	Com PRF / N=8	área corada reticulina (μm^2)
HS-PRF 1	10 808,29	HC-PRF 1	11 471,69
HS-PRF 2	24 214,07	HC-PRF 2	24 504,26
HS-PRF 3	12 936,94	HC-PRF 3	21 643,47
HS-PRF 4	7 798,94	HC-PRF 4	18 722,40
HS-PRF 5	7 695,38	HC-PRF 5	17 565,56
HS-PRF 6	14 132,83	HC-PRF 6	15 600,31
HS-PRF 7	13 132,83	HC-PRF 7	26 511,66
HS-PRF 8	14 607,53	HC-PRF 8	13 708,03

Fonte: Dados da pesquisa.

Ao avaliar-se a média da área corada representativa de reticulina pode-se observar que no subgrupo sem PRF, o valor foi igual a 13165,94 (DP = 5201,91) e mediana de 13034,88. Já no grupo que recebeu PRF a média foi 18715,92 desvio padrão 5229,54 e mediana igual 18143,97. Houve diferença estatística, sendo representada pelo valor $p=0,040$. (Tabela 17).

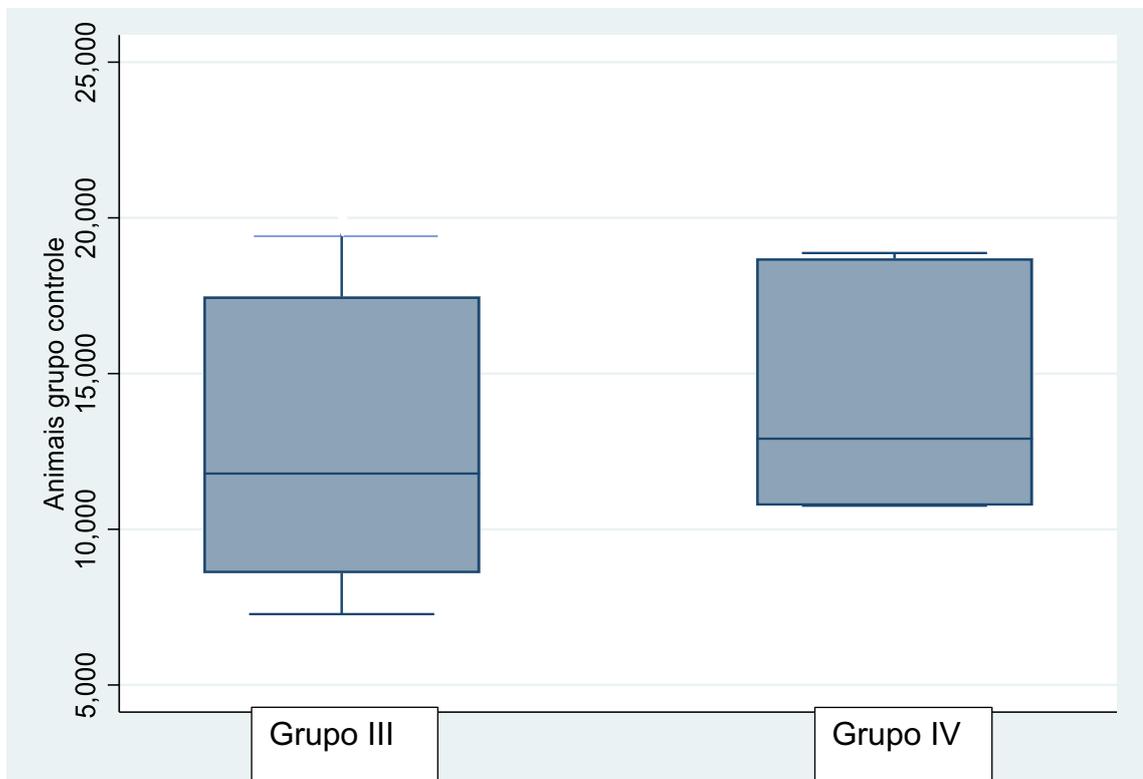
Tabela 17 - Animais Desnutridos – Análise estatística

Grupo	Tratamento	Reticulina				Valor p
		Média (μm^2)	DP	Mediana	Amplitude Interquartil	
Desnutrido	Sem PRF	13 165,94	5201,91	13 034,88	5 937,75	0,040
	Com PRF	18 715,92	5229,54	18 143,97	9 607,96	

Fonte: Dados da pesquisa.

No gráfico 11 representa a prevalência de reticulina no grupo que recebeu PRF.

Gráfico 11 - Comparação área de reticulina – Desnutridos



5 DISCUSSÃO

A má cicatrização da anastomose intestinal é uma das complicações mais importantes na cirurgia do trato digestivo, sobretudo em pacientes idosos e com comorbidades (KONISHI et al., 2006), (HYMAN et al., 2007). O tratamento da deiscência da anastomose é difícil, requer intervenções repetidas e, frequentemente, a confecção de estomas. Entretanto, nem sempre os resultados são satisfatórios, o que torna a morbimortalidade desta condição bastante elevada (CHAMBERS; MORTENSEN, 2004).

A prevenção da deiscência anastomótica deve ser, portanto, ponto da maior relevância para aqueles que atuam na cirurgia digestiva. Técnicas cirúrgicas refinadas, utilizando suturas de alta qualidade e anastomoses livres de tensão são os principais fatores para uma anastomose bem-sucedida. Novas modalidades de tratamento são necessárias para evitar falhas na anastomose, principalmente em pacientes de alto risco (CHIARELLO et al., 2022).

Garcia-Vasquez e cols demonstraram, em estudo experimental em porcos submetidos a isquemia intestinal, que o *patch* de fibrina aumenta a duração do processo cicatricial no leito cirúrgico, graças a uma maior exposição aos agentes da cascata de cicatrização (GARCÍA-VÁSQUEZ et al., 2018).

Alvarenga Jr e cols. analisaram o efeito protetor de células mesenquimais derivadas de tecido adiposo em modelo experimental de anastomose cólica de alto risco, caracterizada por indução de colite química em ratos com realização de colectomia e anastomose. No grupo que recebeu a proteção houve melhora na resposta imunomoduladora e melhores resultados cicatriciais, comparado com grupo controle que não recebeu a proteção (ALVARENGA et al., 2019).

Ainda no cenário experimental com utilização de biomateriais aplicados aos reforços anastomóticos em ratos, Soltani e cols. avaliaram a cicatrização de anastomoses cólicas usando nanofolhas híbridas contendo estrutura de dissulfeto de molibdênio (MOS_2) de membrana amniótica placentária humana e policaprolactona (PCL). O escore histopatológico e a pressão de ruptura mostraram melhora significativa no grupo de estudo. Nenhuma mortalidade ou deiscência foram relatados neste grupo. Além disso, os marcadores inflamatórios diminuíram significativamente, enquanto as citocinas anti-inflamatórias permaneceram estáveis. O resultado indicou que o composto híbrido com elementos placentários é uma escolha adequada para

reparo de anastomose colorretal, diminuindo complicações pós-operatórias e acelerando a cicatrização (EBRAHIM SOLTANI et al., 2023).

O PRF é uma nova geração de concentrado de plaquetas capaz de estimular o mecanismo de defesa, durante a cicatrização de feridas (DOHAN et al., 2006a). A fibrina também desempenha um papel como guia natural da angiogênese. Pode ser usado para promover regeneração óssea, estabilização de enxertos, selamento de feridas e hemostasia (NAIK et al., 2013).

A liberação de fatores de crescimento do PRF foi demonstrada por meio de estudos *in vitro* e bons resultados de estudos *in vivo*, levando à otimização da aplicação clínica deste concentrado (SALUJA; DEHANE; MAHINDRA, 2011) (SUNITHA RAJA; MUNIRATHNAM NAIDU, 2008). A análise bioquímica da composição do PRF indica que este biomaterial é composto por citocinas inflamatórias, como a interleucina-1 β (IL-1 β), e a interleucina-6 (IL-6), citocinas cicatrizantes, como a interleucina-4 (IL-4), fator de crescimento endotelial vascular (VEGF), citocinas plaquetárias, como fator de crescimento transformador β , fatores de crescimento derivados de plaquetas e fatores de crescimento semelhantes à insulina (APPEL et al., 2002), (WEIBRICH et al., 2002), (HEINRICH et al., 2003), (BOOTHBY et al., 2001). Esses componentes bioquímicos têm efeitos sinérgicos nos processos de cicatrização (DOHAN et al., 2006b)

As membranas PRF têm sido predominantemente utilizadas no campo da odontologia para o tratamento de lesões periodontais e endodônticas, bem como para preenchimento de cavidades císticas e preservação de alvéolos (DOUGLAS et al., 2012), (RUDAGI; RUDAGI, 2012), (LEE et al., 2012). Não foram encontrados na literatura, relatos do uso intra-abdominal de PRF em seres humanos. Neste estudo, o objetivo foi avaliar o efeito do PRF no processo de cicatrização de suturas cólicas em modelo animal. O desenho deste trabalho permitiu investigar os efeitos do PRF em ratos com estado nutricional preservado e naqueles com desnutrição.

A utilização de ratos como animais de experimentação foi devido ao baixo custo, alta resistência a eventos adversos e fácil manuseio. A opção por se realizar colotomia e colorrafia em detrimento a uma anastomose completa foi devida a melhor obtenção de espécime para testes como ocorre com ceco. Este segmento foi facilmente adaptado ao dispositivo de análise de pressão de ruptura e não apresentava defeito em sua extremidade oposta.

A opção por utilização de PRF humano, heterólogo, foi devido a dificuldade em se obter quantidade de sangue satisfatória de ratos, principalmente os desnutridos. O volume de 10 ml necessário para confecção de membrana poderia ser fatal, além de ser uma coleta complexa. A utilização de xenoinxerto não compromete significativamente a análise dos resultados. Um estudo utilizou enxerto de túnica albugínea bovina com sucesso no reparo da bexiga de ratos. Não houve rejeição, sendo uma boa opção de biomaterial em cirurgias reconstrutivas de vesículas urinárias (RODRIGUES *et al.*, 2021).

Para chegar a um protótipo de animal doente, a opção de desnutrição se mostrou válida. Mas outras maneiras de se avaliar o cólon de ratos em sofrimento já foi proposto. Özçay e cols estimularam a isquemia intestinal e aplicaram o PRF e não observaram óbitos no pré, trans ou pós operatório (ÖZÇAY, 2018).

No presente estudo, na fase de alimentação houve perda de 4 animais, dois em cada grupo de animais desnutridos, totalizando 10 % do total da amostra. Em trabalhos semelhantes, as taxas de mortalidades oscilam entre 0 e 20% (SILVA; SILVA; PAULO, 2011).

A literatura sobre o emprego de PRF e outros biomateriais em suturas intestinais é bem reduzida. A maior parte dos trabalhos avalia as linhas de suturas quanto à pressão de ruptura e quanto ao processo inflamatório, dando ênfase nos elementos da matriz extra-celular.

Por outro lado, no campo da odontologia/periodontia o emprego de PRF é amplamente estudado. Estudo que avaliou possível resposta inflamatória exacerbada causada pela membrana constatou que fibrina rica em plaquetas pode reduzir a liberação de IL-1 β e, pelo menos parcialmente, inibir fatores relacionados à piroptose em macrófagos induzidos por lipopolissacarídeo *in vitro*. Isto reforça o papel anti-inflamatório do composto que possivelmente não induz ação antigênica desfavorável (SORDI *et al.*, 2022).

Este estudo constatou que para ratos desnutridos que receberam o PRF, a ruptura não ocorreu na linha de sutura e sim fora dela, em todos os animais. Houve diferença estatística ($p=0,038$), quando comparado com os animais desnutridos que não receberam a membrana, pois neste grupo, houve ruptura na linha em três casos, além de duas deiscências, que configuram o insucesso na anastomose. Desta forma, pode-se inferir que para situações de carência nutricional, o reforço de uma sutura intestinal com este biomaterial é benéfico.

A influência da desnutrição na cicatrização das anastomoses cólicas tem sido muito discutida. Foi demonstrado aqui os efeitos negativos da desnutrição nas anastomoses cólicas de ratos, resultando em ruptura para animais desnutridos com aplicação de PRF, fora da linha de sutura, bem como maior área percentual de deposição de reticulina naqueles animais que receberam o PRF.

Estudos experimentais confirmam os efeitos benéficos da nutrição pré-operatória. Costa e cols demonstraram, por métodos histológicos e de força de tensão, melhora da cicatrização da anastomose cólica com o uso de glutamina oral pré-operatória por 7 dias em ratos bem nutridos (DA COSTA et al., 2003).

No presente estudo focou-se na cicatrização do cólon em ratos desnutridos. O baixo ganho de peso a partir de dieta pobre em proteínas e composta basicamente por carboidratos permitiu desenvolver protótipo de animal com carência nutricional grave. Houve diferença estatística quando os pesos foram comparados aos animais que receberam dieta padrão. Isso permite admitir que um grupo foi nutricionalmente diferente do outro, visto que para animais, a variável peso é fortemente considerada.

Zaizen e cols. (ZAIZEN et al., 1990) avaliaram alterações na força de ruptura de celiotomias em ratos desnutridos. Nesse estudo, os grupos consistiam em ratos nutridos, ratos eutróficos, ratos com desnutrição proteica, ratos com desnutrição proteica tratados com hormônio de crescimento (GH) e ratos com desnutrição proteica alimentados com ração normal por três dias no pré-operatório. A desnutrição protéica foi alcançada com a alimentação de 5,5% de ração protéica em dias alternados durante 8 semanas, enquanto ratos normalmente nutridos foram alimentados com 23,4% de ração protéica. Ratos que foram realimentados por três dias no pré-operatório, bem como ratos que receberam GH por 5 dias no pós-operatório, melhoraram significativamente a resistência da ferida em comparação com animais desnutridos.

Por outro lado, Irvin e cols (IRVIN, 1978) não observaram melhora na resistência à tração e no conteúdo de colágeno nas anastomoses cólicas de ratos desnutridos com a administração de aminoácidos orais, sete dias antes e após a operação. Em seu estudo, os ratos receberam uma dieta isenta de proteínas durante sete semanas. A terapia com aminoácidos foi associada a uma melhora significativa na resistência à tração e no conteúdo de colágeno de feridas abdominais, mas nenhum efeito mensurável na cicatrização das anastomoses. Neste estudo a desnutrição foi estimada pela baixa oferta de proteínas que culminou em menor ganho

de peso dos animais do grupo estudo com PRF. Desta forma, foi possível inferir que a diferença significativa no peso dos animais desnutridos foi um fator de risco para o insucesso das suturas intestinais.

Os efeitos imprevisíveis da nutrição pré-operatória na cicatrização do cólon podem ser explicados pelos diferentes modelos experimentais de desnutrição utilizados. A maioria dos autores utilizou dietas hipoproteicas, mas o período de desnutrição foi variável, assim como o nível de déficit proteico nas dietas. Conseqüentemente, o grau de perda de peso e desnutrição alcançado foi variável, afetando a eficácia da nutrição pré-operatória (IRVIN; HUNT, 1974), (WARD et al., 1982). Sampaio e cols concluíram, em um estudo de cicatrização de feridas em ratos, que a desnutrição induzida inibe a proliferação de fibroblastos e a síntese de colágeno (SAMPAIO et al., 2018).

O presente estudo utilizou um processo diferente de desnutrição experimental, a restrição de proteínas desde o desmame, que promove um retardo de desenvolvimento de massa magra e gorduras. A oferta de dieta à base de fubá implica no fornecimento apenas de amido, com quantidade mínima de proteínas. Ao serem alimentados exclusivamente desta forma, os animais puderam se adaptar até se tornarem comparáveis pela idade, ao grupo controle, àquele que recebeu ração convencional. Foram observados quatro óbitos entre os 20 animais expostos à essa ração, possivelmente pela desnutrição. Foi optado pela não substituição desses animais, para não se correr o risco de novas perdas, o que iria de encontro aos conceitos bioéticos. Os óbitos ocorreram na mesma semana e levantou a preocupação sobre a causa estar relacionada a hiponutrição.

Neste estudo, foram analisados dois grupos principais, animais nutridos e desnutridos com a utilização de PRF em ambos. Foi considerado um grupo controle composto por animais nutridos submetidos apenas a colostomia e colorrafia. Em primeira análise eles foram comparados com animais nutridos, submetidos a colotomia e colorrafia e emprego da membrana de PRF. Estes dois grupos foram estudados quanto à pressão e local de ruptura, além da avaliação de variação de massa corporal. Foi constatado que a pressão de ruptura não apresentou diferença estatística entre eles. Além disso, todas as rupturas ocorreram na linha de sutura. Esses dados sugerem que a utilização de membrana de PRF para indivíduos saudáveis, incluindo-se aqueles bem-preparados para um procedimento cirúrgico, possa ser desnecessária. Por outro lado, foi observada perda de peso no pós-

operatório para os dois grupos, o que permite a inferência de que eles sofreram a mesma resposta endócrino-metabólica, que poderia influenciar na cicatrização da sutura cólica.

Durães e colaboradores (DURÃES et al., 2013) investigaram a correlação entre pressão de ruptura e força de ruptura no 7º dia de pós-operatório de anastomose cólica esquerda em ratos. Setenta ratos foram divididos aleatoriamente em sete grupos de dez animais cada. Todos os animais foram submetidos à ressecção segmentar do cólon esquerdo e anastomose término-terminal. Os animais dos grupos I a VI foram submetidos a laparoscopias cirúrgicas com pneumoperitônio utilizando dióxido de carbono ou hélio nas pressões de 5, 12 ou 20 mmHg. No Grupo VII foi realizada laparotomia aberta. Os animais foram reoperados no 7º dia de pós-operatório para mensuração da pressão de ruptura e da força de ruptura da anastomose. A pressão de ruptura da anastomose em 70 animais foi de $193,10 \pm 55,56$ mmHg. Não houve diferença significativa entre os grupos ($p=0,786$). A resistência à ruptura da anastomose foi de $0,26 \pm 0,12$ N. Não houve diferença significativa entre os grupos ($p=0,356$). O teste de correlação de Pearson mostrou correlação baixa ($r=0,231$) sem significância estatística ($p=0,054$). O presente estudo também não mostrou diferença estatística entre as pressões de ruptura para todos os grupos.

Testini e cols testaram o reforço de suturas intestinais em porcos, utilizando pericárdio bovino, como já havia sido preconizado para tratamento de hérnias. Os resultados para análise da pressão de ruptura foram semelhantes entre os grupos estudo e controle. (TESTINI et al., 2014). Neste trabalho também obtivemos dados de pressão de ruptura semelhantes entre os grupos estudo e controle.

Neste estudo, para os animais desnutridos, a cicatrização do cólon foi avaliada por quatro métodos: integridade da anastomose, local de ruptura, pressão de ruptura e quantificação de colágeno e de reticulina. Nos animais desnutridos que receberam a membrana de PRF todas as rupturas ocorreram fora da linha de sutura. Já nos animais que não receberam PRF, a ruptura ocorreu na linha de sutura em três animais, outras três fora da linha de sutura e 2 animais apresentaram deiscência.

Ikeuchi e cols. (IKEUCHI et al., 1999) demonstraram que quase 100% das rupturas ocorrem na linha anastomótica, se a análise for realizada até o 4º dia de pós-operatório. Desta forma, neste estudo, o 7º dia de pós-operatório foi escolhido para análise da resistência à tração para evitar rupturas fora do sítio anastomótico. Alguns autores descrevem que rupturas ocorreram possivelmente devido à dissecação

desnecessária durante a retirada dos espécimes, enfraquecendo a parede do cólon além das anastomoses em ratos que desenvolveram maior adesão (ZAIZEN et al., 1990). Por este motivo neste estudo foi optado por não se realizar a dissecação do espécime junto à linha de sutura com intuito de se evitar esta ocorrência.

A maior área de colágeno foi medida apenas nos grupos desnutridos, uma vez que não houve diferença nas avaliações dos grupos nutridos para pressão e local de ruptura. Apesar de não haver diferença estatística, nota-se uma tendência a uma maior concentração dessa proteína nos animais que receberam PRF com valores da medianas de 18833,94 μm^2 e 11789,33 μm^2 , respectivamente comparando-se os grupos II e IV.

Gonçalves e cols. demonstraram uma grande área ocupada por colágeno tipo I (maduro) em animais que recebem nutrição pré-operatória. Já grupos de animais desnutridos continham uma área menor de colágeno tipo I em relação aos controles. Devido a estes fatores, o estudo indica que os animais do grupo com maior atenção nutricional apresentaram melhores resultados, quanto ao processo de cicatrização das anastomoses (GONÇALVES et al., 2009).

Os resultados aqui obtidos permitem inferir que a desnutrição compromete localmente a cicatrização das anastomoses, o que foi documentado por avaliação macroscópica e baixas pressões de ruptura da anastomose. O tratamento com PRF pode conferir marcada influência nesses parâmetros e evitado complicações locais da anastomose. Os animais do grupo de ratos desnutridos tratados com PRF (Grupo IV) apresentaram significativamente menores complicações, quando comparados com o grupo de animais desnutridos, no qual não se utilizou o PRF (Grupo III). As pressões de ruptura da anastomose foram maiores nos animais tratados com PRF no grupo IV. Esses dados indicam que o PRF previne complicações locais e promove e estimula o processo de cicatrização da anastomose, principalmente quando esse processo estiver potencialmente comprometido.

A cicatrização das anastomoses intestinais segue a mesma sequência histológica da cicatrização das feridas cutâneas, embora existam algumas diferenças. A integridade precoce da anastomose depende principalmente da formação de selo de fibrina na parte externa do intestino. Posteriormente, neutrófilos e macrófagos acumulam-se junto à anastomose e liberam a enzima colagenase que causa lise acentuada durante os primeiros 3 a 5 dias. Essa colagenólise resulta em diminuição significativa da força marginal da anastomose. A síntese de colágeno, estimulada por

fibroblastos e células musculares lisas, leva alguns dias para se iniciar após a confecção da anastomose intestinal (MARX et al., 1998). Os animais do Grupo IV apresentaram melhores escores histológicos quando comparados ao grupo III.

Embora as diferenças entre os grupos desnutridos não tenham alcançado significância estatística para avaliação de colágeno, ela foi alcançada para a dosagem da reticulina ($p=0,040$). Esses dados indicam que o efeito benéfico do PRF é mais proeminente quando a cicatrização da anastomose intestinal está potencialmente comprometida. Avaliações histopatológicas dos locais de anastomose dos animais também mostraram dissolução completa da membrana de PRF das superfícies intestinais. Além disso, o uso de PRF reduziu significativamente os vazamentos na linha de sutura em animais desnutridos, podendo-se inferir que a parede cólica ficou menos resistente que a própria linha de sutura, o que foi documentado na avaliação macroscópica. A aplicação de PRF na parede intestinal previne, portanto, complicações locais e promove o processo de cicatrização em animais desnutridos.

A preparação do PRF é muito simples e não necessita de anticoagulante ou trombina bovina. Esse preparo poderia ser feito na sala de cirurgia durante as operações e a membrana PRF poderia ser aplicada imediatamente após o preparo nos locais das anastomoses intestinais. (DOHAN et al., 2006b)

Este estudo avaliou os efeitos da aplicação de membrana de PRF em suturas intestinais de ratos desnutridos. A observação do ponto de maior fragilidade da parede intestinal fora da área de sutura no grupo desnutrido que recebeu a membrana, demonstra que a linha de sutura se torna mais resistente que a própria parede intestinal. Apesar das pressões de ruptura serem semelhantes, foi possível demonstrar que houve reforço estrutural na região suturada. Estudos prévios não avaliaram este evento.

Histologicamente houve uma tendência do grupo que recebeu PRF em desenvolver maior área com concentração de colágeno. Além disso, houve maior concentração de reticulina, o que favorece a teoria de que a cicatrização é otimizada nas situações desfavoráveis, como a desnutrição.

De forma paralela, foi possível criar e validar dispositivo capaz de aferir com precisão a pressão de ruptura, pois registra valores em mmHg em até 3 casas decimais. Além disso, gera gráfico que mostra com exatidão o momento da ruptura.

Como limitações do presente estudo, pode-se dizer que a avaliação histológica dos grupos nutridos poderia ser um dado comparativo válido. Da mesma forma, o

estudo histológico poderia ser mais específico, quanto à celularidade e tipos de colágeno avaliados. Os parâmetros de desnutrição poderiam ter sido avaliados bioquimicamente.

Avaliação em momentos pós-operatórios mais tardios poderiam trazer dados relevantes.

Este trabalho abre campo para estudos futuros que possam testar o PRF como substrato auxiliar na cicatrização de fístulas perianais, reto-uretrais ou reto-vaginais. O emprego em seres humanos é seguro e pode ser alvo de pesquisas no contexto do trato gastrointestinal.

6 CONCLUSÃO

6.1- A utilização de membrana de fibrina rica em plaquetas como reforço de suturas intestinais em ratos desnutridos é capaz de melhorar a resistência na área de síntese.

6.2- Não houve diferença na pressão de ruptura intestinal entre os grupos de ratos nutridos e desnutridos, independentemente da aplicação do PRF.

6.3- A concentração de reticulina foi significativamente maior nos animais desnutridos que receberam o PRF, enquanto a concentração de colágeno apresentou uma tendência a ser maior em ratos que receberam a membrana de fibrina rica em plaquetas, o que sugere potencialização no processo cicatricial de animais com carências nutricionais.

7 REFERÊNCIAS

- ALVARENGA, V. et al. Protective effect of adipose tissue–derived mesenchymal stromal cells in an experimental model of high-risk colonic anastomosis. **Surgery**, v. 166, n. 5, p. 914–925, 2019.
- APPEL, T. R. et al. Comparison of three different preparations of platelet concentrates for growth factor enrichment. **Clinical Oral Implants Research**, v. 13, n. 5, p. 522–528, out. 2002.
- BOOTHBY, M. et al. IL-4 signaling, gene transcription regulation, and the control of effector T cells. **Immunologic Research**, v. 23, n. 2–3, p. 179–191, 2001.
- CHAMBERS, W. M.; MORTENSEN, N. J. M. Postoperative leakage and abscess formation after colorectal surgery. **Best Practice & Research. Clinical Gastroenterology**, v. 18, n. 5, p. 865–880, out. 2004.
- CHAN, D. K. H.; LEE, S. K. F.; ANG, J. J. Indocyanine green fluorescence angiography decreases the risk of colorectal anastomotic leakage: Systematic review and meta-analysis. **Surgery**, v. 168, n. 6, p. 1128–1137, dez. 2020.
- CHIARELLO, M. M. et al. Anastomotic leakage in colorectal cancer surgery. **Surgical Oncology**, v. 40, p. 101708, mar. 2022.
- CHOUKROUN, J. et al. Une opportunit?? en paro-implantologie: Le PRF. **Implantodontie**, v. 42, p. 55–62, 1 jan. 2001.
- CHOUKROUN, J. et al. Platelet-rich fibrin (PRF): A second-generation platelet concentrate. Part IV: Clinical effects on tissue healing. **Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology, and Endodontology**, v. 101, n. 3, p. e56–e60, mar. 2006.
- CHOY, P. Y. G. et al. Stapled versus handsewn methods for ileocolic anastomoses. **The Cochrane Database of Systematic Reviews**, n. 3, p. CD004320, 18 jul. 2007.
- DA COSTA, M. A. R. et al. Oral glutamine and the healing of colonic anastomoses in rats. **JPEN. Journal of parenteral and enteral nutrition**, v. 27, n. 3, p. 182–185; discussion 185-186, 2003.
- DAGLIOGLU, Y. K. et al. **Comparison of platelet rich plasma versus fibrin glue on colonic anastomoses in rats. Acta Cirúrgica Brasileira**, v. 33, p. 333–340, abr. 2018.
- DIEGELMANN, R. F.; EVANS, M. C. Wound healing: an overview of acute, fibrotic and delayed healing. **Frontiers in Bioscience: A Journal and Virtual Library**, v. 9, p. 283–289, 1 jan. 2004.
- DOHAN, D. M. et al. Platelet-rich fibrin (PRF): A second-generation platelet concentrate. Part II: Platelet-related biologic features. **Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology, and Endodontology**, v. 101, n. 3, p. e45–e50, mar.

2006a.

DOHAN, D. M. et al. Platelet-rich fibrin (PRF): A second-generation platelet concentrate. Part I: Technological concepts and evolution. **Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology, and Endodontology**, v. 101, n. 3, p. e37–e44, mar. 2006b.

DOILLON, C. J. et al. Collagen fiber formation in repair tissue: development of strength and toughness. **Collagen and Related Research**, v. 5, n. 6, p. 481–492, dez. 1985.

DOUGLAS, T. E. L. et al. Enzymatically induced mineralization of platelet-rich fibrin. **Journal of Biomedical Materials Research. Part A**, v. 100, n. 5, p. 1335–1346, maio 2012.

DOWNEY, D. M.; HARRE, J. G.; DOLAN, J. P. Increased burst pressure in gastrointestinal staple-lines using reinforcement with a bioprosthetic material. **Obesity Surgery**, v. 15, n. 10, p. 1379–1383, 2005.

DURÃES, L. D. C. et al. Correlation between bursting pressure and breaking strength in colonic anastomosis. **Acta Cirurgica Brasileira**, v. 28, n. 6, p. 447–452, jun. 2013.

EBRAHIM SOLTANI, Z. et al. Evaluation of colonic anastomosis healing using hybrid nanosheets containing molybdenum disulfide (MOS₂) scaffold of human placental amniotic membrane and polycaprolactone (PCL) in rat animal model. **Naunyn-Schmiedeberg's archives of pharmacology**, v. 396, n. 9, p. 1911–1921, 2023.

GARCÍA-VÁSQUEZ, C. et al. Fibrin patch influences the expression of hypoxia-inducible factor-1 α and nuclear factor- κ Bp65 factors on ischemic intestinal anastomosis. **Experimental Biology and Medicine (Maywood, N.J.)**, v. 243, n. 10, p. 803–808, jun. 2018.

GOLDA, T. et al. Risk factors for ileocolic anastomosis dehiscence; a cohort study. **The American journal of surgery**, v. 220, n. 1, p. 170–177, 2020.

GONÇALVES, C. G. et al. Influence of preoperative feeding on the healing of colonic anastomoses in malnourished rats. **JPEN. Journal of parenteral and enteral nutrition**, v. 33, n. 1, p. 83–89, 2009.

HEINRICH, P. C. et al. Principles of interleukin (IL)-6-type cytokine signalling and its regulation. **The Biochemical Journal**, v. 374, n. Pt 1, p. 1–20, 15 ago. 2003.

HORAN, T. C. et al. CDC definitions of nosocomial surgical site infections, 1992: a modification of CDC definitions of surgical wound infections. **Infection Control and Hospital Epidemiology**, v. 13, n. 10, p. 606–608, out. 1992.

HYMAN, N. et al. Anastomotic leaks after intestinal anastomosis: it's later than you think. **Annals of Surgery**, v. 245, n. 2, p. 254–258, fev. 2007.

IKEUCHI, D. et al. Correlation of tensile strength with bursting pressure in the evaluation of intestinal anastomosis. **Digestive Surgery**, v. 16, n. 6, p. 478–485, 1999.

IRVIN, T. T. Effects of malnutrition and hyperalimentation on wound healing. **Surgery, Gynecology & Obstetrics**, v. 146, n. 1, p. 33–37, jan. 1978.

IRVIN, T. T.; HUNT, T. K. Effect of malnutrition on colonic healing. **Annals of Surgery**, v. 180, n. 5, p. 765–772, nov. 1974.

JESTIN, P.; PAHLMAN, L.; GUNNARSSON, U. Risk factors for anastomotic leakage after rectal cancer surgery: a case-control study. **Colorectal disease**, v. 10, n. 7, p. 715–721, 2008.

KHAN, T. et al. Functional ambulatory status as a potential adjunctive decision-making tool following wound, level of ischemia, and severity of foot infection assessment. **Journal of Vascular Surgery**, v. 72, n. 2, p. 738–746, ago. 2020.

KOH, T. J.; DIPIETRO, L. A. Inflammation and wound healing: the role of the macrophage. **Expert Reviews in Molecular Medicine**, v. 13, p. e23, 11 jul. 2011.

KONISHI, T. et al. Risk factors for anastomotic leakage after surgery for colorectal cancer: results of prospective surveillance. **Journal of the American College of Surgeons**, v. 202, n. 3, p. 439–444, mar. 2006.

LEE, J.-W. et al. Restoration of a peri-implant defect by platelet-rich fibrin. **Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology and Oral Radiology**, v. 113, n. 4, p. 459–463, abr. 2012.

LIPSKY, B. A. et al. 2012 Infectious Diseases Society of America clinical practice guideline for the diagnosis and treatment of diabetic foot infections. **Clinical Infectious Diseases: An Official Publication of the Infectious Diseases Society of America**, v. 54, n. 12, p. e132-173, jun. 2012.

MARX, R. E. et al. Platelet-rich plasma: Growth factor enhancement for bone grafts. **Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology, and Endodontics**, v. 85, n. 6, p. 638–646, jun. 1998.

MILLS, J. L. et al. The Society for Vascular Surgery Lower Extremity Threatened Limb Classification System: risk stratification based on wound, ischemia, and foot infection (WIFI). **Journal of Vascular Surgery**, v. 59, n. 1, p. 220- 234.e1–2, jan. 2014.

MODASI, A. et al. NSAID administration post colorectal surgery increases anastomotic leak rate: systematic review/meta-analysis. **Surgical Endoscopy**, v. 33, n. 3, p. 879–885, mar. 2019.

MORBACH, S. et al. Long-term prognosis of diabetic foot patients and their limbs: amputation and death over the course of a decade. **Diabetes Care**, v. 35, n. 10, p. 2021–2027, out. 2012.

MOR-VAKNIN, N. et al. Vimentin is secreted by activated macrophages. **Nature Cell Biology**, v. 5, n. 1, p. 59–63, jan. 2003.

NAIK, B. et al. Role of Platelet rich fibrin in wound healing: A critical review. **Journal**

of conservative dentistry: JCD, v. 16, n. 4, p. 284–293, jul. 2013.

NAJAFI, B. et al. Association Between Wearable Device-Based Measures of Physical Frailty and Major Adverse Events Following Lower Extremity Revascularization. **JAMA network open**, v. 3, n. 11, p. e2020161, 2 nov. 2020.

ÖZÇAY, N. Reply to Comment on ‘Role of platelet-rich fibrin on intestinal anastomosis wound healing in a rat’. **Biomedical Materials**, v. 13, n. 6, p. 068002, 10 out. 2018.

RENCUZOGULLARI, A. et al. Predictors of Anastomotic Leak in Elderly Patients After Colectomy: Nomogram-Based Assessment From the American College of Surgeons National Surgical Quality Program Procedure-Targeted Cohort. **Diseases of the Colon and Rectum**, v. 60, n. 5, p. 527–536, maio 2017.

RODRIGUES, A. F. et al. Bovine tunica albuginea conserved in honey as xenograft for cystoplasty in rats. **Ciência Rural**, v. 51, n. 6, p. e20200501, 2021.

RUDAGI, K. B.; RUDAGI, B. One-step apexification in immature tooth using grey mineral trioxide aggregate as an apical barrier and autologous platelet rich fibrin membrane as an internal matrix. **Journal of conservative dentistry: JCD**, v. 15, n. 2, p. 196–199, abr. 2012.

RULLIER, E. et al. Risk factors for anastomotic leakage after resection of rectal cancer. **The British Journal of Surgery**, v. 85, n. 3, p. 355–358, mar. 1998.

SALUJA, H.; DEHANE, V.; MAHINDRA, U. Platelet-Rich fibrin: A second generation platelet concentrate and a new friend of oral and maxillofacial surgeons. **Annals of Maxillofacial Surgery**, v. 1, n. 1, p. 53–57, jan. 2011.

SAMPAIO, L. A. S. et al. Influence of protein malnutrition on cutaneous wound healing in rats. **Revista de Nutrição**, v. 31, p. 433–442, out. 2018.

SCHLICH, T. **The Palgrave Handbook of the History of Surgery**. London: Palgrave Macmillan UK, 2017.

SILVA, J. J. DA; SILVA, A. L. DA; PAULO, D. N. S. Subtotal laparoscopic splenectomy in rats with preservation of the inferior pole. **Acta Cirurgica Brasileira**, v. 26, n. 1, p. 44–50, fev. 2011.

SORDI, M. B. et al. Platelet-Rich Fibrin Reduces IL-1 β Release from Macrophages Undergoing Pyroptosis. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 23, n. 15, p. 8306, jan. 2022.

STEELE, S. R. et al. (EDS.). **The ASCRS Textbook of Colon and Rectal Surgery**. 4th ed. 2022 edição ed. [s.l.] Springer, 2022.

SUNITHA RAJA, V.; MUNIRATHNAM NAIDU, E. Platelet-rich fibrin: evolution of a second-generation platelet concentrate. **Indian Journal of Dental Research: Official Publication of Indian Society for Dental Research**, v. 19, n. 1, p. 42–46, 2008.

TESTINI, M. et al. Bovine pericardium patch wrapping intestinal anastomosis improves healing process and prevents leakage in a pig model. **PloS One**, v. 9, n. 1, p. e86627, 2014.

THORWALD, JURGEN. **O século dos cirurgiões**. [s.l: s.n.].

TOON, C. D. et al. Early versus delayed post-operative bathing or showering to prevent wound complications. **The Cochrane Database of Systematic Reviews**, v. 2015, n. 7, p. CD010075, 23 jul. 2015.

VAN DER HAGEN, S. J. et al. Laparoscopic fistula excision and omentoplasty for high rectovaginal fistulas: a prospective study of 40 patients. **International Journal of Colorectal Disease**, v. 26, n. 11, p. 1463–1467, nov. 2011.

WARD, M. W. et al. The effects of subclinical malnutrition and refeeding on the healing of experimental colonic anastomoses. **The British Journal of Surgery**, v. 69, n. 6, p. 308–310, jun. 1982.

WEIBRICH, G. et al. Growth factor levels in platelet-rich plasma and correlations with donor age, sex, and platelet count. **Journal of Cranio-Maxillo-Facial Surgery: Official Publication of the European Association for Cranio-Maxillo-Facial Surgery**, v. 30, n. 2, p. 97–102, abr. 2002.

WERBIN, N. et al. Free perforation in Crohn's disease. **The Israel Medical Association journal: IMAJ**, v. 5, n. 3, p. 175–177, mar. 2003.

ZAIZEN, Y. et al. Stimulation of wound bursting strength during protein malnutrition. **The Journal of Surgical Research**, v. 49, n. 4, p. 333–336, out. 1990.

8 ANEXOS

ANEXO A – APROVAÇÃO NO COMITÊ DE ÉTICA EM USO ANIMAL



Comissão de Ética no Uso de Animais da UFSJ – CEUA/UFSJ

CERTIFICADO

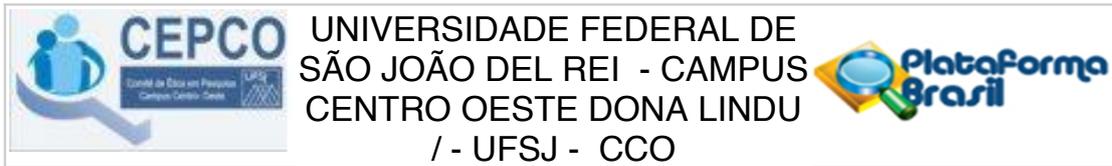
Certificamos que o projeto “Avaliação de fibrina rica em plaquetas na cicatrização de anastomoses colônicas em ratos.”, Protocolo nº 015/2020 sob a responsabilidade de Fábio Henrique de Oliveira - CCO que envolve a manutenção e utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto humanos), para fins de pesquisa científica – encontra-se de acordo com os preceitos da Lei nº 11.794, de 8 de outubro de 2008, do Decreto nº 6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA), e foi aprovado pela COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS (CEUA) da Universidade Federal de São João del-Rei, na 100ª Reunião, de 14/08/2020.

Finalidade	() Ensino (x) Pesquisa Científica
Vigência do Projeto	Início: 14/08/2020 Término: 24/12/2022
Espécie/Linhagem/raça	Rato heterogênico <i>Rattus norvegicus</i> / <i>Wistar</i>
Nº de animais	44
Peso / Idade	300 g / 120 dias
Sexo	Machos
Origem	Núcleo de criação de animais de laboratório - NUCAL UFSJ/CTAN - Avenida Visconde do Rio Preto, S/N - Colônia do Bengo - São João del Rei-MG - CEP 36301-360
Destino	Biotério CT Infra II - CCO - Salas 101 e 102, Bloco E, UFSJ/CCO, R. Sebastião Gonçalves Coelho, 400, Bairro Chanandour, Divinópolis-MG.74; Dom Bosco; São João del Rei - MG; CEP: 36301-160

Liliam Midori Ide

Coordenadora da Comissão de Ética no Uso de Animais da UFSJ - CEUA/UFSJ

ANEXO B – APROVAÇÃO NO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA EM SERES HUMANOS



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Avaliação de fibrina Rica em Paquetas (PRF) na Cicatrização de anastomoses colônicas em ratos

Pesquisador: Fábio Henrique de Oliveira

Área Temática:

Versão: 3

CAAE: 39125920.8.0000.5545

Instituição Proponente: Fundação Universidade Federal de São João Del Rei - C. C. Oeste Dona

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 4.552.997

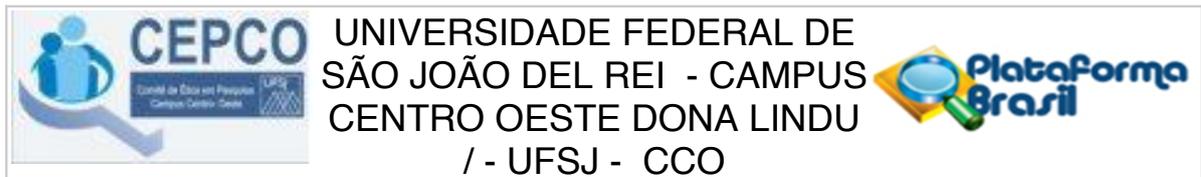
Apresentação do Projeto:

Trata-se de um estudo experimental em modelo animal que busca analisar os efeitos da utilização de Fibrina Rica em Plaquetas (PRF) derivada de sangue de pacientes humanos sobre a cicatrização de anastomoses colônicas (um procedimento cirúrgico que estabelece comunicação entre duas porções do intestino).

Justificativa do estudo

Diante das complicações relacionadas às anastomoses do trato gastrointestinal e da potencialidade da Fibrina Rica em Plaquetas (PRF), se faz importante a avaliação da aplicação desse produto em anastomoses colônicas na intenção de diminuir o risco de deiscências e suas complicações. Além disso, poucos estudos avaliam o processo de cicatrização das anastomoses gastrointestinais com o uso de PRF. Uma vez comprovados os benefícios do uso do PRF para o otimizar o processo de cicatrização em anastomoses colônicas, a utilização desse material poderá ser adotada como rotina em cirurgias intestinais, de forma a reduzir o índice de complicações pós-operatórias. Tal cenário significaria menores índices de mortalidade e morbidade, menos tempo de permanência no hospital e menores custos do tratamento. Neste estudo optou-se por utilizar sangue humano para a confecção do PRF com o objetivo de compreender as propriedades cicatriciais e particularidades que o sangue humano possa vir a apresentar, de forma a acrescentar novos dados

Endereço: SEBASTIAO GONCALVES COELHO
Bairro: CHANADOUR **CEP:** 35.501-296
UF: MG **Município:** DIVINOPOLIS
Telefone: (37)3690-4491 **Fax:** (37)3690-4491 **E-mail:** cepco@ufsj.edu.br



Continuação do Parecer: 4.552.997

à literatura, uma vez que os demais estudos realizados sobre este tema fizeram uso de sangue animal.

Hipótese do estudo

Baseia-se na premissa de maior valor na pressão de ruptura e maiores níveis de hidroxiprolina e de colágeno nas lâminas histopatológicas no grupo experimental de estudo.

População de estudo e número de participantes

Doadores de sangue voluntários do sexo masculino que concordarem em assinar o TCLE. Serão 10 participantes, sendo estes alunos do curso de Medicina da Turma XV, Campus CCO, UFSJ.

Critérios de inclusão

- Ser do sexo masculino e estudante de Medicina da Turma XV;
- Idade maior que 18 anos;
- Sem comorbidades;
- Disponibilidade para coleta de sangue.

Critérios de exclusão

- Utilização de medicamentos de uso contínuo;
- Presença de discrasias sanguíneas;
- Ter realizado transfusão de sangue nos últimos 6 meses.

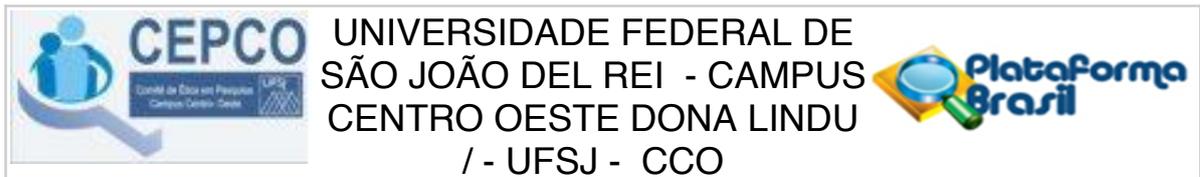
Processo de recrutamento dos participantes

Para a participação como voluntário na doação de sangue serão convidados os alunos da turma XV do curso de Medicina desta universidade, que contemplem os critérios de inclusão e exclusão e ter assinado o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido. Tal grupo populacional foi escolhido pela facilidade de coleta, pois os alunos da turma XV do curso de Medicina são colaboradores da pesquisa através da unidade curricular projeto de iniciação científica (PIC). Para a participação como voluntário na doação de sangue serão convidados a participar do estudo os respectivos alunos através do e-mail da turma, com o envio do TCLE e resumo do projeto.

Local de realização do estudo

A coleta de sangue dos participantes ocorrerá nas dependências do Laboratório de Técnica

Endereço: SEBASTIAO GONCALVES COELHO
Bairro: CHANADOUR **CEP:** 35.501-296
UF: MG **Município:** DIVINOPOLIS
Telefone: (37)3690-4491 **Fax:** (37)3690-4491 **E-mail:** cepco@ufs.edu.br



Continuação do Parecer: 4.552.997

Cirúrgica do Campus Centro-Oeste Dona Lindu, da Universidade Federal de São João del-Rei, sob a coordenação do pesquisador responsável.

Metodologia do estudo

O método para obtenção do PRF consistirá na utilização de sangue humano por meio de punção venosa periférica de membro superior esquerdo sob rigorosas técnicas de assepsia e profissional treinado. O sangue colhido será imediatamente colocado em dois tubos de vidro de 10 ml, sem anticoagulante, e centrifugado a 1800 revoluções por minuto durante 14 minutos. O processo de coleta e transferência para a centrifugação deve ser rápido, para evitar que a fibrina se polimerize difusamente e se inicie o processo de coagulação, que resultará em uma falha na obtenção do PRF. Serão necessários 10 ml de sangue para a confecção de cada membrana.

Análise dos Dados

A avaliação da efetividade do PRF sobre a cicatrização anastomótica utilizará 3 parâmetros: físico, medindo-se a pressão de ruptura na linha de anastomose; bioquímico, através da dosagem hidroxiprolina no tecido colônico, que é um bom marcador para se quantificar a deposição de colágeno na matriz extracelular; histopatológico, visando-se comparar a migração e constituição celulares da área perianastomótica.

Desfecho primário

Espera-se que ao final da pesquisa sejam obtidos resultados favoráveis ao uso do PRF, que demonstrem melhora na cicatrização das suturas intestinais.

Objetivo da Pesquisa:

Objetivo primário

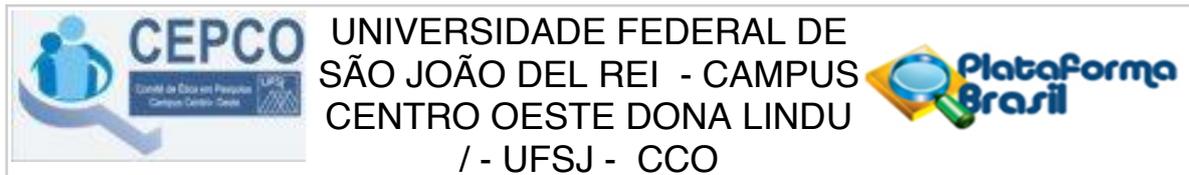
Analisar o efeito do uso de Fibrina Rica em Plaquetas (PRF) na maturação do tecido e na cicatrização de feridas em anastomose colônica em modelo experimental com ratos.

Objetivos secundários

Comparar:

- a) a pressão de ruptura anastomótica entre animais nutridos e hiponutridos;
- b) os níveis de hidroxiprolina no tecido peri-anastomótico;

Endereço: SEBASTIAO GONCALVES COELHO
Bairro: CHANADOUR **CEP:** 35.501-296
UF: MG **Município:** DIVINOPOLIS
Telefone: (37)3690-4491 **Fax:** (37)3690-4491 **E-mail:** cepco@ufsj.edu.br



Continuação do Parecer: 4.552.997

c) as características histopatológicas peri-anastomóticas.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Riscos

Os riscos da pesquisa envolvem complicações inerentes da coleta e manipulação do material humano. O processo de punção venosa periférica expõe o voluntário a risco de complicações como hematoma no local de punção, lesão arterial, lesão nervosa, infecção no local da punção e dor. Diante desses riscos, serão tomadas medidas de assepsia como higienização das mãos do profissional antes da coleta, uso de luva e máscaras descartáveis e assepsia do local de punção com álcool 70%, além dos materiais de coleta descartáveis. Ademais, as condutas diante de cada complicação será individualizada, como necessidade de parada da punção e compressão local até encaminhamento do paciente para Cardioclínica, onde será atendido por médico generalista. Por fim, há o risco de contaminação do profissional e dos colaboradores com material biológico do voluntário, os quais serão minimizados pelo uso de equipamentos de proteção individual e condutas pautadas nas recomendações da sociedade brasileira de patologia clínica. Por fim, é importante atentar para o cuidado com os dados dos voluntários, quanto ao sigilo. Dessa forma, as informações do participante da pesquisa são confidenciais e serão encaminhados ao banco de dados após codificação em forma de letras, ou seja, cada participante terá seu nome substituído por uma letra. Apenas os pesquisadores terão acesso aos dados pessoais dos participantes assegurando o compromisso profissional com o sigilo absoluto das informações.

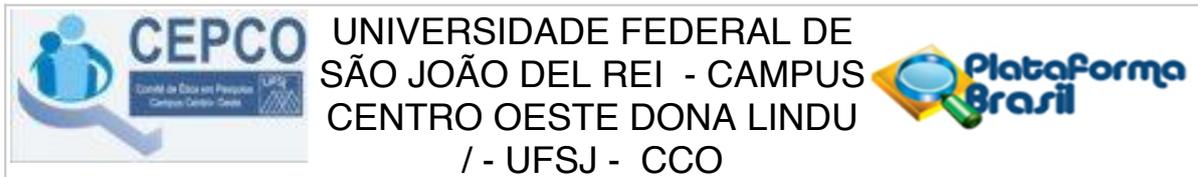
Benefícios

Os benefícios desse estudo estão relacionados com a premissa de que os resultados do grupo em uso de PRF serão melhores do que os do grupo controle, de forma a fortalecer os estudos já produzidos, com o intuito de que em um futuro próximo o PRF possa ser usado como protocolo em anastomoses intestinais.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

A pesquisa apresenta relevância científica bem como na área médica cirúrgica que poderá levar a benefícios para pacientes submetidos a cirurgias do trato intestinal visando uma diminuição das complicações e uma melhor recuperação no período pós-operatório. Nesta versão o pesquisador

Endereço: SEBASTIAO GONCALVES COELHO
Bairro: CHANADOUR **CEP:** 35.501-296
UF: MG **Município:** DIVINOPOLIS
Telefone: (37)3690-4491 **Fax:** (37)3690-4491 **E-mail:** cepco@ufsj.edu.br



Continuação do Parecer: 4.552.997

principal reapresenta o projeto com as modificações sugeridas na versão anterior. Com relação às análises das pendências listadas na versão anterior vide campo "Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações".

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

- 1- Folha de rosto preenchida corretamente com assinatura do pesquisador responsável e responsável pela instituição proponente, assinada em 08/09/2020.
- 2- Check-list do CEP adequado contendo a assinatura do pesquisador responsável.
- 3- Projeto detalhado adequando apresentando cronograma com data de início da coleta de dados para o primeiro semestre/2021 e orçamento financeiro próprio.
- 4- Projeto com informações básicas submetido à Plataforma Brasil.
- 5- Declaração do setor informando conhecimento e concordância para a realização do projeto no Campus Centro Oeste Dona Lindu, UFSJ, assinado pelo diretor de Campus e pesquisador responsável, assinada em 28/09/2020.
- 6- Declaração de prestação de assistência médica necessária aos participantes da pesquisa assinada pela diretora administrativa da clínica Protocordis, situada à Rua Divino Espírito Santo, n. 870, Divinópolis/MG.
- 7- Declaração de ciência de necessidade de nova submissão no CEPES para a utilização de amostras armazenadas no biorrepositório produzido, assinada pelo pesquisador responsável e conforme Resolução 441/2011, assinada em 29/09/2020.
- 8- Declaração de infra-estrutura necessária assinada pelo coordenador do Laboratório de Técnica Cirúrgica, CCO, UFSJ em 29/09/20.
- 9- TCLE.
- 10- Carta resposta apresentando as resoluções para as pendências listadas na versão anterior.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Com relação às pendências apontadas na versão anterior deste projeto, tem-se as seguintes análises e conclusões.

Pendência 1:

Todas as informações pertencentes ao projeto de pesquisa devem constar de forma padronizada em ambos os projetos detalhado e com informações básicas. Desta forma, para equalizar os projetos, apresentar os seguintes tópicos no projeto detalhado:

Endereço: SEBASTIAO GONCALVES COELHO	
Bairro: CHANADOUR	CEP: 35.501-296
UF: MG	Município: DIVINOPOLIS
Telefone: (37)3690-4491	Fax: (37)3690-4491
	E-mail: cepco@ufsj.edu.br



Continuação do Parecer: 4.552.997

c) descrição sobre a população de estudo e número de participantes;

Análise: atendida.

e) incluir seção de riscos e suas formas de minimização e benefícios;

Análise: atendida.

Pendência 2:

Informar sobre o plano de recrutamento dos participantes tanto no projeto detalhado quanto no projeto com informações básicas, conforme item 3.4.1, subitem 8, da Norma Operacional n. 001/2013.

Análise: atendida.

Pendência 4:

Na seção de riscos descrever também formas para garantir o sigilo, o anonimato e a privacidade dos participantes da pesquisa, conforme letra e, item IV.3 da Resolução n. 466/2012. Por exemplo, codificação dos dados dos participantes.

Análise: atendida.

Pendência 5:

Adequar TCLE nos seguintes pontos, conforme item IV.3 da Resolução n. 466/2012:

a) Inserir os procedimentos de ressarcimento e indenização aos participantes, conforme letras g e h, respectivamente;

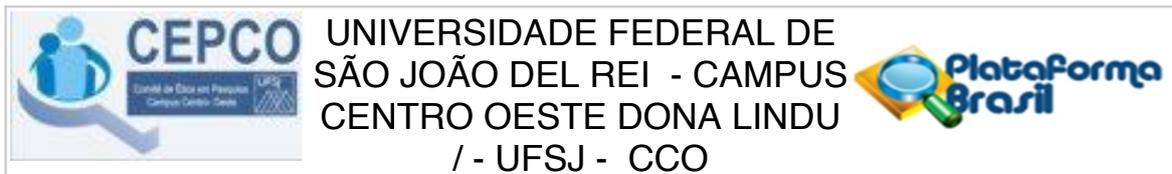
Análise: atendida.

Após o atendimento de todas as pendências listadas na versão anterior este Comitê aprova o respectivo projeto.

Considerações Finais a critério do CEP:

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Endereço: SEBASTIAO GONCALVES COELHO
Bairro: CHANADOUR **CEP:** 35.501-296
UF: MG **Município:** DIVINOPOLIS
Telefone: (37)3690-4491 **Fax:** (37)3690-4491 **E-mail:** cepco@ufsj.edu.br



Continuação do Parecer: 4.552.997

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_1620303.pdf	12/01/2021 01:47:35		Aceito
Outros	Carta_resposta.pdf	12/01/2021 01:46:07	Fábio Henrique de Oliveira	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	Projeto_detalhado_3.pdf	12/01/2021 01:27:22	Fábio Henrique de Oliveira	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE_3.pdf	12/01/2021 01:25:32	Fábio Henrique de Oliveira	Aceito
Cronograma	CRONOGRAMA.pdf	12/01/2021 01:23:46	Fábio Henrique de Oliveira	Aceito
Orçamento	documento.pdf	04/11/2020 11:36:18	Fábio Henrique de Oliveira	Aceito
Folha de Rosto	ScannedDocuments.pdf	02/10/2020 23:54:42	Fábio Henrique de Oliveira	Aceito
Outros	Declaracao_cardioclínica.pdf	02/10/2020 15:09:36	Fábio Henrique de Oliveira	Aceito
Outros	Declaracoes.pdf	02/10/2020 15:07:51	Fábio Henrique de Oliveira	Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

DIVINOPOLIS, 23 de Fevereiro de 2021

Assinado por:
Elaine Cristina Dias Franco
(Coordenador(a))

Endereço: SEBASTIAO GONCALVES COELHO
Bairro: CHANADOUR **CEP:** 35.501-296
UF: MG **Município:** DIVINOPOLIS
Telefone: (37)3690-4491 **Fax:** (37)3690-4491 **E-mail:** cepco@ufsj.edu.br



Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

Nós, FÁBIO HENRIQUE DE OLIVEIRA, professor da Universidade Federal de São João del-Rei (UFSJ), Campus Centro-Oeste, João Pedro Vieira, Maria Luísa Miranda Resende, Miller Augusto de Souza Campos, Tainara Guazeli Maia e Vanessa Cavazana Takata, acadêmicos do curso de Medicina da Universidade Federal de São João del-Rei (UFSJ), convidamos você a colaborar com a pesquisa **AVALIAÇÃO DE FIBRINA RICA EM PLAQUETAS (PRF) NA CICATRIZAÇÃO DE SUTURA DE CECO EM RATOS**.

Por favor, leia este documento com bastante atenção antes de assiná-lo. Caso haja alguma palavra ou frase que o (a) senhor (a) não consiga entender, o pesquisador responsável pelo estudo e a equipe desta pesquisa estarão disponíveis para esclarecê-los.

A proposta deste termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE) é explicar tudo sobre o estudo e solicitar a sua permissão para colaborar com o mesmo.

OBSERVAÇÃO: Caso o colaborador não tenha condições de ler e/ou compreender este TCLE, o mesmo poderá ser assinado e datado por um membro da família ou responsável legal.

Por meio dessa pesquisa, pretendemos verificar o efeito do uso de fibrina rica em plaquetas (PRF) na maturação do tecido e na cicatrização de sutura de ceco em ratos.

A anastomose intestinal é um procedimento cirúrgico que estabelece comunicação entre duas porções do intestino. Esse procedimento permite restaurar a continuidade do trânsito após a ressecção de uma condição patológica que acometa o intestino. Tal procedimento, apresenta como uma das principais complicações a deiscência de anastomose, que está relacionada com o aumento da mortalidade e morbidade, na permanência no hospital, nos custos do tratamento e na recidiva local. As deiscências de anastomoses podem resultar em fístula cólon cutânea, vaginal e trato geniturinário.

Diante das complicações relacionadas às anastomoses do trato gastrointestinal anteriormente apresentadas e da potencialidade da Fibrina Rica em Plaquetas (PRF), se faz importante a avaliação da aplicação desse produto em anastomoses colônicas na intenção de diminuir o risco de deiscências e suas complicações.

A fibrina rica em plaquetas (PRF) é um concentrado imunológico e de plaquetas em uma única membrana de fibrina, contendo todos os constituintes de uma amostra de sangue que são favoráveis à cura e a imunidade. O PRF consiste em uma matriz polimerizada de fibrina, com a incorporação de plaquetas, leucócitos, citocinas e células-troncos circulantes. Assim, favorece o desenvolvimento de microvascularização e a migração de células epiteliais à superfície.

Para a preparação do PRF requer a centrifugação do sangue. Uma amostra de sangue é acrescentada a um tubo de vidro ou plástico, posteriormente, centrifugada. O produto é composto

Rubrica do Participante de pesquisa ou responsável: _____

Rubrica do pesquisador: _____



por três camadas, a mais superior constituída por um coágulo plasmático celular, PRF presente na intermediária, e na inferior, glóbulos vermelhos.

a) O objetivo desta pesquisa é verificar a pressão de ruptura anastomótica e a avaliação histopatológica da sutura para que dessa forma seja possível avaliar o efeito do uso de fibrina rica em plaquetas (PRF) na maturação do tecido e na cicatrização de sutura de ceco em ratos

b) Caso você concorde em colaborar com essa pesquisa, será realizada uma coleta de sangue na região do braço, com a ajuda de seringa e agulha descartáveis.

O procedimento seguirá as seguintes etapas:

Será ajustado o garrote no braço e escolhido a veia; posteriormente, ocorrerá a antisepsia do local da coleta com algodão umedecido em álcool a 70% ou álcool iodado a 1%; realizará a punção; o garrote será solto assim que o sangue começar a fluir na seringa; o sangue será coletado, em cerca de 10 ml; o colaborador pressionará com algodão a parte puncionada, mantendo o braço estendido, sem dobrá-lo.

c) Por meio da coleta do sangue, você estará nos ajudando na produção do Plasma Rico em Fibrina, o qual será utilizado nos procedimentos cirúrgicos do grupo de estudo.

d) Para a coleta da amostra de sangue é necessário fazer um furo no braço. É possível que você sinta dor no local onde será feito o furo, o que pode ocorrer por alguns minutos ou até algumas horas. Caso você se sinta mal durante o procedimento, será encaminhado para atendimento médico, ao serviço de saúde pública mais próximo.

e) Todo o procedimento levará de 10 a 20 minutos. É obrigatório que você faça a coleta no mesmo momento e local onde assinar esse termo.

f) A sua participação neste estudo é voluntária. Se você assinar esse Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, mas não quiser mais colaborar com a pesquisa, poderá desistir a qualquer momento.

g) Terão acesso ao material as pessoas autorizadas: o pesquisador responsável e a equipe de pesquisa

h) O material recolhido a partir da pesquisa – amostra biológicas – será utilizado unicamente para esse estudo, e será descartado logo após o procedimento cirúrgico

i) As despesas com a realização da pesquisa, incluindo custo direto dos materiais utilizados para a coleta NÃO são de sua responsabilidade. Você também NÃO receberá qualquer valor em dinheiro pela sua participação.

j) Você terá a garantia de que problemas decorrentes do estudo (como dor na região de coleta) serão tratados em serviço de saúde pública mais próximo.

k) Eu, pesquisador responsável por este estudo, Fábio Henrique de Oliveira, posso ser localizado em [Rua Sebastião Gonçalves Coelho 400, Divinópolis, MG, 35501-296](#), bloco B, primeiro andar, laboratório de técnicas cirúrgicas-LATEC- sala 105, pelo e-mail fabiorvlg2@gmail.com

Rubrica do Participante de pesquisa ou responsável: _____

Rubrica do pesquisador: _____



ou pelo telefone 37 999643793, de segunda a sexta-feira, das 9h00 às 18h00. Estou à disposição para esclarecer eventuais dúvidas que você possa ter e fornecer-lhe as informações que solicitar, antes, durante ou depois de encerrado o estudo.

Os demais participantes da equipe de pesquisa podem ser contactados por meio dos seguintes contatos:

João Pedro Vieira: joapedroaluno@yahoo.com.br ou 32-988842940

Maria Luísa Miranda Resende: marialuisa_mr@yahoo.com.br ou 31-997436907

Miller Augusto de Souza Campos: milleraugusto@hotmail.com ou 37-998256007

Tainara Guazeli Maia: tainara.guazeli@gmail.com ou 37-984041537

Vanessa Cavazana Takata: vanessa_takata@hotmail.com ou 18-988202249

l) Caso tenha dúvidas sobre seus direitos como participante da pesquisa, você pode contatar também o Comitê de Ética em Pesquisa Envolvendo Seres Humanos (CEPSJ) na sala 2.56, no Campus Dom Bosco, Praça Dom Helvécio, 74 - Dom Bosco, São João Del Rei - MG, 36301-160, pelo telefone (32) 3379 5598 ou e-mail cepsj@ufsj.edu.br. O Comitê de Ética em Pesquisa Envolvendo Seres Humanos - Unidades Educacionais de São João del-Rei (CEPSJ) visa contribuir para que os cuidados necessários sejam tomados na realização de investigações científicas que envolvam seres humanos, resguardando os interesses dos participantes das pesquisas em sua integridade, dignidade, além de contribuir para o desenvolvimento da pesquisa dentro de padrões éticos. (Resolução nº 466/12 Conselho Nacional de Saúde. Além disso, o Comitê de Ética em Pesquisa Envolvendo Seres Humanos - CEPSJ está amparado pela Resolução nº 023, de 28 de outubro de 2015).

m) Declaro que autorizo

(), não autorizo

(), o uso do material coleta para uso restrito aos objetivos desta pesquisa.

Declaro ainda que eu,

_____ li esse Termo de Consentimento e compreendi a natureza e objetivo do estudo, do qual concordei em participar. A explicação que recebi menciona os riscos e benefícios envolvidos. Eu entendi que sou livre para interromper minha participação a qualquer momento sem que tenha de justificar minha decisão. Também estou ciente de que a minha desistência não acarretará qualquer prejuízo. Fui informado da ausência de custos para mim (d).

Eu concordo voluntariamente em participar deste estudo.

Rubrica do Participante de pesquisa ou responsável: _____

Rubrica do pesquisador: _____



_____, _____ de _____ de 2019

Assinatura do Participante de Pesquisa ou Responsável Legal

Assinatura do Pesquisador Responsável ou quem aplicou o TCLE

Rubrica do Participante de pesquisa ou responsável: _____

Rubrica do pesquisador: _____

9 APÊNDICES

Animais nutridos sem PRF

	<i>nome atual</i>	<i>grupo</i>	<i>peso inicial</i>	<i>peso pós-operatório</i>	<i>pressão de ruptura</i>
R2CX4	1	CONTROLE	373g	358g	287
R1CX1	2	CONTROLE	389g (28/06/2019)	383g (05/07/2019)	223
R1CX4	3	CONTROLE	396g	384g	194,92
R5CX12	4	CONTROLE	411G (24/05/2019)	384g (31/05/2019)	176
R1CX2	5	CONTROLE	439g (28/06/2019)	413g (05/07/2019)	174,17
R1CX12	6	CONTROLE	425g (24/05/2019)	404g(31/05/2019)	169,61
R3CX12	7	CONTROLE	440g(24/05/2019)	420g (31/05/2019)	167
R2CX1	8	CONTROLE	428g (28/06/2019)	409g (05/07/2019)	153
R2CX11	9	CONTROLE	433g (02/08/2019)	414g (09/08/2019)	129
R3CX2	10	CONTROLE	440g (28/06/2019)	426g (05/07/2019)	128

Animais nutridos com PRF

	<i>nome antigo</i>	<i>nome atual</i>	<i>grupo</i>	<i>peso inicial</i>	<i>peso pós-operatório</i>	<i>pressão de ruptura</i>
R1CX6	11		ESTUDO	488g (03/10/2019)	472g (10/10/2019)	289,27
R1CX10	12		ESTUDO	352g (18/10/2019)	336g (25/10/2019)	251,76
R1CX8	13		ESTUDO	512g (03/10/2019)	494g (10/10/2019)	233,89
R3CX10	14		ESTUDO	443g (11/10/2019)	384g (18/10/2019)	233,01
R1CX3	15		ESTUDO	526g (18/10/2019)	500g (25/10/2019)	213
R3CX6	16		ESTUDO	498g (18/10/2019)0	480g (25/10/2019)	181,23
R2CX6	17		ESTUDO	508g (03/10/2019)	488g (10/10/2019)	179,26
R1CX11	18		ESTUDO	468g (02/08/2019)	442g (09/08/2019)	173,76
R2CX10	19		ESTUDO	420g (11/10/2019)	398g (18/10/2019)	129,89
R3CX3	20		ESTUDO	535g (11/10/2019)	514g (18/10/2019)	127,64

Animais desnutridos

DESNUTRIDOS	DATA DA CIRURGIA	MASSA CORPORAL NO DIA DA CIRURGIA	DATA DE SACRIFÍCIO	MASSA CORPORAL NO DIA DO SACRIFÍCIO	RUPTURA DA AMOSTRA	PRESSÃO DE RUPTURA (mm/Hg)
SEM PRF 21	04/11/2022	80g	11/11/2022	108g	deiscência	11,637
SEM PRF 22	04/11/2022	80g	11/11/2022	114g	deiscência	48,075
SEM PRF 23	04/11/2022	76g	11/11/2022	101g	na linha de sutura	298,989
SEM PRF 24	11/11/2022	97g	18/11/2022	132g	Fora da linha de sutura	247,644
SEM PRF 25	12/11/2022	91g	19/11/2022	135g	Ruptura em linha de sutura	138,984
SEM PRF 2 6	12/11/2022	83g	19/11/2022	105g	Fora da linha de sutura	262,676
SEM PRF 27	12/11/2022	105g	19/11/2022	145g	Fora da linha de sutura	207,299
SEM PRF 28	12/11/2022	98g	19/11/2022	134g	Ruptura imediata linha de sutura	44,919

DESNUTRIDOS	DATA DA CIRURGIA	MASSA CORPORAL NO DIA DA CIRURGIA	DATA DE SACRIFÍCIO	MASSA CORPORAL NO DIA DO SACRIFÍCIO	RUPTURA DA AMOSTRA	PRESSÃO DE RUPTURA (mm/Hg)
COM PRF 31	11/11/2022	91g	18/11/2022	131g	Fora da linha de sutura	118,89
COM PRF 32	11/11/2022	90g	18/11/2022	133g	Fora da linha de sutura	242,581
COM PRF 3 3	11/11/2022	111g	18/11/2022	159g	Fora da linha de sutura	153,985
COM PRF 34	11/11/2022	100g	18/11/2022	135g	Fora da linha de sutura	156,61
COM PRF 35	11/11/2022	92g	18/11/2022	115g	Fora da linha de sutura	216,206
COM PRF 36	11/11/2022	80g	18/11/2022	118g	Fora da linha de sutura	223,049
COM PRF 3 7	11/11/2022	96g	18/11/2022	139g	Fora da linha de sutura	193,799
COM PRF 3 8	11/11/2022	96 g	18/11/2022	139 g	Fora da linha de sutura	193,799