

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS**  
**FACULDADE DE MEDICINA**

**EFEITOS DA OXIGENAÇÃO HIPERBÁRICA  
NA FORMAÇÃO DE ADERÊNCIAS  
APÓS LAPAROTOMIA EM RATAS**

**SIMONE VARGAS BENTO**

**Belo Horizonte**  
**2012**

**SIMONE VARGAS BENTO**

**EFEITOS DA OXIGENAÇÃO HIPERBÁRICA  
NA FORMAÇÃO DE ADERÊNCIAS APÓS  
LAPAROTOMIA EM RATAS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Ciências Aplicadas à Cirurgia e à Oftalmologia da Faculdade de Medicina de Minas Gerais, como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre.

Área de Concentração: Cicatrização.

Linha de pesquisa: Fatores adjuvantes na cicatrização tecidual.

Orientador: Prof. Dr. Tarcizo Afonso Nunes.

Coorientador: Prof. Dr. Roberto Carlos de Oliveira e Silva.

**Belo Horizonte**  
**Faculdade de Medicina - UFMG**  
**2012**

# UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS - UFMG

## REITORIA

Reitor: Prof. Dr. Clélio Campolina Diniz

Vice-Reitora: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Rocksane de Carvalho Norton

Pró-Reitor de Pós-Graduação: Prof. Dr. **Ricardo Santiago Gomez**

Pró-Reitor de Pesquisa: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. **Efigênia Ferreira e Ferreira**

## FACULDADE DE MEDICINA

Diretor: Prof. Dr. Francisco José Penna

Vice-Diretor: Prof. Dr. Tarcizo Afonso Nunes

## CENTRO DE PÓS-GRADUAÇÃO DA FACULDADE DE MEDICINA

Coordenador: Prof. Dr. Manoel Otávio da Costa Rocha

Subcoordenador: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Tereza Cristina de Abreu Ferrari

## COLEGIADO DO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIRURGIA

Prof. Dr. Alcino Lázaro da Silva

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Ivana Duval de Araújo (subcordenadora)

Prof. Dr. Marcelo Dias Sanches (coordenador)

Prof. Dr. Márcio Bittar Nehemy

Prof. Dr. Renato Santiago Gómez

Prof. Dr. Tarcizo Afonso Nunes

Sumara Marques Barral: representante discente

“Um homem sábio tem grande poder, e um homem de conhecimento aumenta a força. Para travar guerra você precisa de guia, e para vitória, de muitos conselheiros”.

(Prov. 24:5-6).

A minha avó,  
meu exemplo de vida,  
e aos meus pais,  
que compartilham com amor  
minha eterna construção pessoal e profissional.

## AGRADECIMENTOS

Ao **Prof. Dr. Tarcizo Afonso Nunes**, orientador, por ter acreditado em minhas ideias e capacidade, muito obrigada pela dedicação.

Ao **Prof. Dr. Roberto Carlos Oliveira e Silva**, coorientador e amigo, que me conduziu desde os primeiros passos na especialidade cirúrgica, sendo meu exemplo de dedicação e amor à profissão.

À **Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Ivana Durval de Araújo**, professora e pesquisadora brilhante, que com sua dedicação e capacidade transformou o mestrado em uma experiência fantástica. Reconheço o suporte e incentivo.

À **Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Paula Vieira Teixeira Vidigal**, patologista responsável pela avaliação histológica, pelo trabalho árduo e dedicado que se transformou em resultados e oportunidade de novos conhecimentos.

À estatística **Janaína Luciana Alvernaz Marques Ferreira**, pela amizade, apoio e colaboração fundamental neste trabalho.

Aos amigos e companheiros de trabalho, cirurgiões que participaram de forma ativa no meu percurso: **Gustavo Marques Braga, Marcelle Souza Alves da Silva, Thiago Ferreira Bartholomei, Jacqueline de Paula Martins, Carla Corina Barroso Machado e Vinicius Coralino dos Reis Pereira**, pela dedicação, participação e fundamental suporte profissional e pessoal.

Ao meu amigo e irmão, **Silvio Fernando Vargas Bento**, e ao amigo **Wagner Vecoña da Conceição**, pela presença, apoio e incentivo, principalmente nos períodos finais e mais difíceis desta jornada.

Aos acadêmicos do curso de Medicina da UFMG, **Artur Paiva Araújo e Cristiane Gomes de Barros Ferreira**, pelo apoio e empenho neste trabalho.

A todos os amigos e companheiros da vida, que participaram de forma indireta na minha formação com apoio e incentivo, meu muito obrigada!

Ao **Centro Mineiro de Medicina Hiperbárica** que permitiu a concretização do projeto. Reconheço a importância do trabalho de vocês.

Ao **Núcleo de Experimentação Animal da Faculdade de Medicina da UFMG**, em especial ao funcionário **Marcelo Moreira de Jesus**, pelo empenho e dedicação.

## RESUMO

**Objetivo:** avaliar os efeitos da oxigenação hiperbárica na cavidade abdominal após laparotomia em ratas, quanto à frequência e características das aderências e histologia do peritônio parietal. Verificar se a variação dos níveis de pressão atmosférica, isoladamente, em oxigenação a 21%, influencia o resultado. **Método:** o experimento foi realizado em 54 ratas da espécie *Rattus norvegicus* e linhagem *Wistar*, com média de dois meses de idade, cujo peso variou de 250 a 280 g. Os animais foram submetidos à anestesia geral com associação de cetamina na dose de 70 mg/kg e xilazina a 10 mg/kg via intramuscular. Após laparotomia, foram realizados pontos com seda 2-0 no peritônio parietal dos quatro quadrantes abdominais e posterior fechamento da cavidade. Os animais foram distribuídos em três grupos: grupo 1 – controle; grupo 2 - submetido a altas pressões e oxigenação-ambiente; e o grupo 3 - submetido à hiperbárica e oxigenação a 100%. Sessões diárias de 120 minutos ocorreram por seis dias. Nos seis dias subsequentes ao procedimento cirúrgico os animais dos grupos 2 e 3 foram submetidos à oxigenação em uma sessão diária, sob a pressão de 2,5 atmosferas, com duração de 90 minutos, em câmara hiperbárica. O tempo total de oxigenação foi de 120 minutos, sendo os primeiros 15 minutos para compressão gradual e os últimos 15 minutos para descompressão gradual. No sétimo dia foi realizada relaparotomia com fotografia e filmagem da abertura da cavidade para ruptura e avaliação das aderências, sendo coletadas biópsias do peritônio dos quatro quadrantes com pontos de seda. Os vídeos foram avaliados por três cirurgiões de forma aleatória e as biópsias analisadas por patologista, ambos desconhecendo a qual grupo pertencia cada animal. Foi utilizado o teste de *Fisher* para avaliar as aderências e a histologia do peritônio. Os resultados com significância estatística foram aqueles que apresentaram  $p < 0,05$ . **Resultados:** o grupo 3 (oxigenação hiperbárica) apresentou diferença em relação ao grupo 1 (controle) quanto à intensidade das aderências ( $p=0,002$ ) e da proliferação celular ( $p=0,02$ ). O mesmo ocorreu em relação ao grupo 2 (oxigenação a 21%), intensidade das aderências ( $p=0,01$ ) e proliferação celular ( $p=0,02$ ). Não houve diferença em todos os parâmetros entre os grupos 1 (controle) e 2 (oxigenação a 21%) ( $p=1,00$ ). **Conclusão:** a oxigenação hiperbárica no pós-operatório de ratas submetidas à laparotomia não alterou a frequência, mas reduziu a densidade das aderências e promoveu mais proliferação vascular peritoneal. Diante de oxigenação-ambiente, a alteração somente da pressão atmosférica não influenciou a formação das aderências.

Palavras-chave: Oxigenação hiperbárica. Aderências. Laparotomia. Peritônio parietal.

## ABSTRACT

**Objective:** to determine the effects of hyperbaric oxygenation in rats that have undergone laparotomy after provocation and stimulation for adhesion formation. The frequency of the pos-operative adhesences, their characteristics, the parietal peritoneum histology, and the effects of pressure alteration and oxygen concentration were evaluated in each group. **Method:** 60 female rats of the *Rattus novergicus* species, strain *Wistar*, underwent general anesthesia with association of 70 mg/kg ketamine and 10 mg/kg xilazine through intramuscular via. After laparotomy, silk 2-0 points were performed in the peritoneal wall of the four abdominal quadrants and posterior cavity closure. The animals were distributed in three groups, group 1- control, group 2 underwent high pressures and environmental oxygenation, and group 3 underwent 100% hyperbaric oxygenation. Daily 120 minute sections have been carried out for six days. In the seventh day re-laparotomy was performed with the cavity opening photography and filming for the adhesences rupture and evaluation; it was collected biopsies of the involved four quadrants peritoneum and the operation wound. The videos were watched and randomly evaluated by three surgeons and the biopsies were evaluated by anatomopatologist, both unaware of the groups to which the animals belonged. **Results:** the Fisher test was used to evaluate the adhesences under macroscopy and the peritoneum in the microscopy evaluations. The statistically significant results were those that showed  $p < 0,05$ . Group 3 had no difference related to group 1 concerning the adhesences intensity ( $p = 0,002$ ) and cell proliferation ( $p = 0,02$ ) and in relation to group 2 in the same parameters, with  $p = 0,01$  and  $p = 0,02$ , respectively. **Conclusion:** the results allowed to see that the hyperbaric oxygenation, although have no reduced the adhesences frequency, acted in the reduction of their severity and in the vascular proliferation reduction. In this regard it could be concluded that the greater oxygen supply, through revascularization, was determinant in the adhesences formation, characteristics and intensity.

**Keywords:** Hyperbaric Oxygenation. Adherences. Laparotomy. Parietal Peritoneum.

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

|                 |   |
|-----------------|---|
| AINE            | Anti-inflamatório não esteroide                   |
| Atm             | Atmosfera   |
| bcl-2           | B-cell lymphoma 2                                 |
| CDC             | <i>Centers for Disease Control and Prevention</i> |
| CETEA           | Comitê de Ética em Experimentação Animal          |
| CO <sub>2</sub> | Dióxido de carbono                                |
| COX             | Cyclooxygenase                                    |
| DI              | Direito inferior                                  |
| DS              | Direito superior                                  |
| EGF             | Fator de crescimento epidérmico                   |
| EI              | Esquerdo inferior                                 |
| ES              | Esquerdo superior                                 |
| FDP             | Produtos de degradação da fibrina                 |
| FO              | Ferida operatória                                 |
| G-CSF           | <i>Granulocyte-colony stimulating factor</i>      |
| HE              | Hematoxilina e eosina                             |
| ICAM            | <i>Intercellular adhesion molecule</i>            |
| IFN             | Interferon  |
| IL              | Interleucina                                      |
| mRNA            | Ácido ribonucleico mensageiro                     |
| NO              | Óxido nítrico                                     |
| O <sub>2</sub>  | Oxigênio  |
| OHB             | Oxigenação hiperbárica                            |
| OMS             | Organização Mundial da Saúde                      |
| PAI             | Inibidor do ativador de plasminogênio             |
| PDGF            | Fator de crescimento derivado de plaquetas        |
| PG              | Prostaglandina                                    |
| TGF             | Fator de transformação do crescimento             |
| TNF             | Fator de necrose tumoral                          |
| tPA             | <i>Tissue plasminogen activator</i>               |
| UFMG            | Universidade Federal de Minas Gerais              |
| VEGF            | Fator de crescimento do endotélio vascular        |

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

### Figuras

|   |    |
|---|----|
| FIGURA 1 - Sistemas envolvidos na formação de aderências.....   | 21 |
| FIGURA 2 - Efeitos da oxigenação hiperbárica nos mediadores inflamatórios e imunológicos.....   | 27 |
| FIGURA 3 – Fotografia digital de laparotomia mediana de 4cm em região xifóidea na rata.....   | 30 |
| FIGURA 4 - Fotografia digital da cavidade abdominal, observando-se os fios de seda 2-0, localizados a 1,0 cm da incisão nos quadrantes superior e inferior direito.....   | 31 |
| FIGURA 5 - Fotografia digital da câmara hiperbárica <i>monoplace</i> , usada na terapia em humanos, ocupada pelos animais alojados em recipiente.....   | 32 |
| FIGURA 6 - Fotografia digital do abdome da rata com identificação da incisão em forma de “U” e abertura da cavidade abdominal.....  | 33 |
| FIGURA 7 – Fotografia digital da cavidade abdominal e exposição do omento aderido à parede anterior nos locais dos fios de seda.....  | 34 |
| FIGURA 8 – Fotografia digital dos frascos contendo amostra de peritônio dos quadrantes direito superior (DS), direito inferior (DI), esquerdo superior (ES), esquerdo inferior (EI) e ferida operatória (FO).....                               | 34 |
| FIGURA 9 – Fotografia digital da cavidade abdominal da rata e aderências do tipo resistente (seta vermelha) e frágil (seta branca).....   | 36 |
| FIGURA 10 – Microfotografia de lâminas com fibrose leve, estroma conjuntivo frouxo e vasos sanguíneos neoformados (A) e Imagem (B) com fibrose intensa com estroma conjuntivo denso e de fibra de deposição de colágenos espessas (setas) ..... | 38 |
| FIGURA 11 - Microfotografia de lâminas com inflamação do tipo leve (A) e infiltrado inflamatório intenso misto com alto número de células inflamatórias mono e polimorfonucleares (B).....  | 38 |
| FIGURA 12 - Microfotografia de lâmina com proliferação vascular imagem (A) com estroma conjuntivo mais denso e pouca proliferação vascular; (B) tecido conjuntivo frouxo com vasos neoformados (setas).....                                     | 39 |

## **Gráfico**

|   |    |
|---|----|
| GRÁFICO 1 - Número de ratas classificadas de acordo com as características de cada aderência – grupo 1 (n=18) controle, grupo 2 (n=18) oxigenação hiperbárica a 21% e grupo 3 (n=18) oxigenação hiperbárica a 100%..... | 41 |
|---|----|

## **Quadros**

|   |    |
|---|----|
| QUADRO 1 - Graduação das aderências conforme descrição à relaparotomia                | 35 |
| QUADRO 2 - Graduação das alterações histológicas para avaliar biópsia peritoneal..... | 37 |

## LISTA DE TABELAS

|   |    |
|---|----|
| TABELA 1 - Comparação entre os animais dos grupos 1 (n = 18) e grupo 3 (n=18) quanto à graduação das aderências.....                          | 42 |
| TABELA 2 - Comparação entre os animais dos grupos 2 (n=18) e grupo 3 (n=18) quanto à graduação das aderências na cavidade peritoneal.....     | 42 |
| TABELA 3 - Porcentagem de animais em cada grupo (n=18) de acordo com a graduação de intensidade da fibrose.....                               | 43 |
| TABELA 4 - Porcentagem de animais em cada grupo (n=18) de acordo com a graduação de intensidade da inflamação.....                            | 43 |
| TABELA 5 - Porcentagem de animais em cada grupo (n=18) de acordo com a graduação de proliferação vascular.....                                | 44 |
| TABELA 6 - Comparação entre os animais do grupo 1 (n=18) e grupo 3 (n=18) quanto à fibrose.....   | 44 |
| TABELA 7 - Comparação entre os animais do grupo 1 (n=18) e grupo 3 (n=18) quanto à inflamação.....  | 44 |
| TABELA 8 - Comparação entre os animais do grupo 1 (n = 18) e grupo 3 (n=18) quanto à proliferação vascular.....                               | 45 |
| TABELA 9 - Comparação entre os animais do grupo 2 (n=18) e grupo 3 (n=18) quanto à fibrose.....   | 45 |
| TABELA 10 - Comparação entre os animais do grupo 2 (n=18) e grupo 3 (n=18) quanto à inflamação.....   | 46 |
| TABELA 11 - Comparação entre os animais do grupo 2 (n=18) e grupo 3 (n=18) quanto à proliferação vascular.....                                | 46 |
| TABELA 12 - Comparação entre os animais do grupo 1 (n = 18) e grupo 2 (n=18) quanto às características das aderências na cavidade peritoneal. | 47 |
| TABELA 13 - Comparação entre os animais do grupo 1 (n=18) e grupo 2 (n=18) quanto à histologia do peritônio – fibrose.....                    | 47 |
| TABELA 14 - Comparação entre os animais do grupo 1 (n=18) e grupo 2 (n=18) quanto às características microscópicas – inflamação.....          | 47 |
| TABELA 15 - Comparação entre os animais do grupo 1 (n=18) e grupo 2 (n=18) quanto às características microscópicas – proliferação vascular..  | 48 |

# SUMÁRIO<sup>1</sup>

|   |    |
|---|----|
| 1 INTRODUÇÃO.....   | 16 |
| 2 OBJETIVO.....   | 17 |
| 3 REVISÃO DA LITERATURA.....                                      | 18 |
| 3.1 Peritônio.....  | 18 |
| 3.2 Aderências.....   | 19 |
| 3.3 Prevenção de aderências.....                                  | 23 |
| 3.4 Provocação experimental de aderências.....                    | 25 |
| 3.5 Oxigenação hiperbárica.....                                   | 25 |
| 4 MÉTODO.....   | 29 |
| 4.1 Composição dos grupos de animais.....                         | 29 |
| 4.2 Procedimento cirúrgico.....                                   | 29 |
| 4.2.1 Preparação dos animais para o procedimento cirúrgico.....   | 30 |
| 4.2.2 Laparotomia.....  | 30 |
| 4.2.3 Procedimento intra-abdominal.....                           | 31 |
| 4.3 Pós-operatório.....   | 31 |
| 4.3.1 Cuidados gerais.....  | 31 |
| 4.3.2 Oxigenação hiperbárica.....                                 | 32 |
| 4.3.3 Eutanásia e procedimentos na cavidade abdominal.....        | 33 |
| 4.4 Avaliação dos vídeos quanto à resistência das aderências..... | 35 |
| 4.5 Exame anatomopatológico do peritônio parietal.....            | 36 |
| 4.6 Variáveis estudadas e testes estatísticos.....                | 39 |
| 5 RESULTADOS.....   | 41 |
| 5.1 Frequência de aderências pós-operatórias.....                 | 41 |

---

<sup>1</sup> Este trabalho foi revisado de acordo com as novas regras ortográficas aprovadas pelo Acordo Ortográfico assinado entre os países que integram a Comunidade de Países de Língua Portuguesa (CPLP), em vigor no Brasil desde 2009. E foi formatado de acordo com a ABNT NBR 14724 de 17.04.2011.

|   |    |
|---|----|
| 5.2 Características macroscópicas das aderências.....   | 42 |
| 5.2.1 Comparação entre os animais dos grupos 1 (controle) e 3 (oxigenação a 100%).....  | 42 |
| 5.2.2 Comparação entre os animais dos grupos 2 (oxigenação a 21%) e 3 (oxigenação a 100%).....                                      | 42 |
| 5.3 Avaliação histológica do peritônio parietal.....  | 43 |
| 5.3.1 Comparação entre os grupos 1 (controle) e 3 (oxigenação a 100%).....  | 44 |
| 5.3.2 Comparação entre os animais dos grupos 2 (oxigenação a 21%) e grupo 3 (oxigenação a 100%).....                                | 45 |
| 5.4 Variação pressórica isolada em oxigenação-ambiente.....   | 46 |
| 5.4.1 Comparação entre os animais do grupo 1 (controle) e grupo 2 (oxigenação a 21%), quanto à macroscopia das aderências.....      | 46 |
| 5.4.2 Comparação entre os animais do grupo 1 (controle) e grupo 2 (oxigenação a 21%) quanto à histologia do peritônio parietal..... | 47 |
| <br>  |    |
| 6 DISCUSSÃO.....  | 49 |
| <br>  |    |
| 7 CONCLUSÃO.....  | 55 |
| <br>  |    |
| REFERÊNCIAS.....  | 56 |
| <br>  |    |
| ANEXOS.....   | 59 |

## 1 INTRODUÇÃO

As aderências representam um dos maiores problemas decorrentes dos procedimentos cirúrgicos na cavidade abdominal, uma vez que sua incidência é elevada, causam complicações e sua prevenção é ainda um desafio. Pacientes submetidos à abertura da cavidade abdominal têm elevado risco de desenvolver aderência intraperitoneal. As principais consequências são: dor abdominal crônica, infertilidade secundária em mulheres, obstrução intestinal, entre outras. Aderências resultantes de intervenção cirúrgica são responsáveis por elevada incidência de obstrução intestinal, o que eleva os gastos com a saúde e aumenta a mortalidade. Muitos pacientes submetidos à lise de aderências necessitaram de reoperações devido a recidivas. Além disso, as aderências tornam as operações mais difíceis, de mais longa duração e com risco mais elevado de complicações, tais como lesões em alças intestinais, bexiga e ureteres e sangramentos.

Diversas pesquisas já foram realizadas com o objetivo de encontrar meios para prevenir a formação das aderências na cavidade peritoneal, mas ainda sem resultado satisfatório. O aporte de oxigênio nos tecidos é vital no processo de reparo após o trauma peritoneal e importante determinante da cicatrização, o que reflete na prevenção da formação de aderências.

A oxigenação hiperbárica (OHB) contribui para o tratamento de feridas, seja pelo tempo mais curto de cicatrização ou pela diminuição da ocorrência de infecção e tem sido empregada em várias afecções com bons resultados. Os efeitos dessa terapêutica na formação de aderências na cavidade abdominal após laparotomia ainda são incipientes e sem padronização.

Diante desse fato, este trabalho se propôs a realizar estudo com a finalidade de avaliar os efeitos da oxigenação hiperbárica na formação das aderências e, assim, vislumbrar mais uma opção para reduzir complicações frequentes em pacientes laparotomizados.

## 2 OBJETIVOS

Identificar os efeitos da oxigenação hiperbárica na formação de aderências após laparotomia em ratas, quanto aos aspectos seguintes:

- Frequência e características das aderências
- Histologia do peritônio parietal.

Estabelecer se a variação dos níveis de pressão atmosférica, isoladamente, em oxigenação a 21%, influencia o resultado.

## 3 REVISÃO DE LITERATURA

### 3.1 Peritônio

O peritônio é formado por uma camada única de epitélio escamoso simples denominado mesotélio, disposto sobre fino estroma de tecido conjuntivo de área correspondente à superfície corporal total. A camada submesotelial é formada de diferentes tipos de colágeno, glicoproteínas, glicosaminas e proteoglicanos. Estruturas vasculares e linfáticas são encontradas no espaço subseroso. Difusão e reabsorção de fluidos ocorrem livremente através do mesotélio e estroma submesotelial (CHEONG *et al.*, 2001). Essa membrana semipermeável é a responsável pela diminuição do atrito entre os órgãos, controle dos fluidos da cavidade abdominal, o que permite sequestro e remoção bacteriana e facilitação da migração de células inflamatórias da microvasculatura para a cavidade peritoneal (TOWNSEND *et al.*, 2005).

Pela fragilidade de ligação de suas células, o peritônio tem como característica sua delicadeza, permitindo que qualquer manipulação mínima traumatize o tecido, o que o torna mais propenso a adesões.

A taxa de reepitelização da superfície é relativamente alta e envolve migração e transformação celular. As aderências são formadas quando o peritônio está danificado e a membrana basal da camada mesotelial exposta aos tecidos vizinhos. Esse prejuízo ao peritônio com lesão das células mesoteliais, devido à cirurgia, infecção ou irritação, suscita a resposta inflamatória local que causa formação de exsudato serossanguinolento rico em fibrina como parte do processo hemostático. A atividade do plasminogênio está diminuída no peritônio isquêmico ou inflamado, devido à lesão das células mesoteliais o que propicia ainda mais a formação das aderências (IRKORUCU *et al.*, 2009). Embora a fisiopatologia exata dessa formação esteja em pesquisa, é certo que trauma, isquemia, hematoma e infecção contribuem para sua ocorrência. O conhecimento da aderência e de sua gênese torna-se necessário para sua prevenção.

### 3.2 Aderências

Aderência, originada do latim do verbo “*adhaereo*”, tem como principal significado *estar fixo a* ou *estar ligado*. Em Medicina, especificamente na cirurgia abdominal, é considerada uma complicação de origem incerta, que ocorre em resposta a perturbações que envolvem o peritônio parietal e visceral. Tal complicação, capaz de provocar aumento na morbimortalidade, ainda não foi controlada pelas técnicas cirúrgicas modernas. (CORONA *et al.*, 2011)

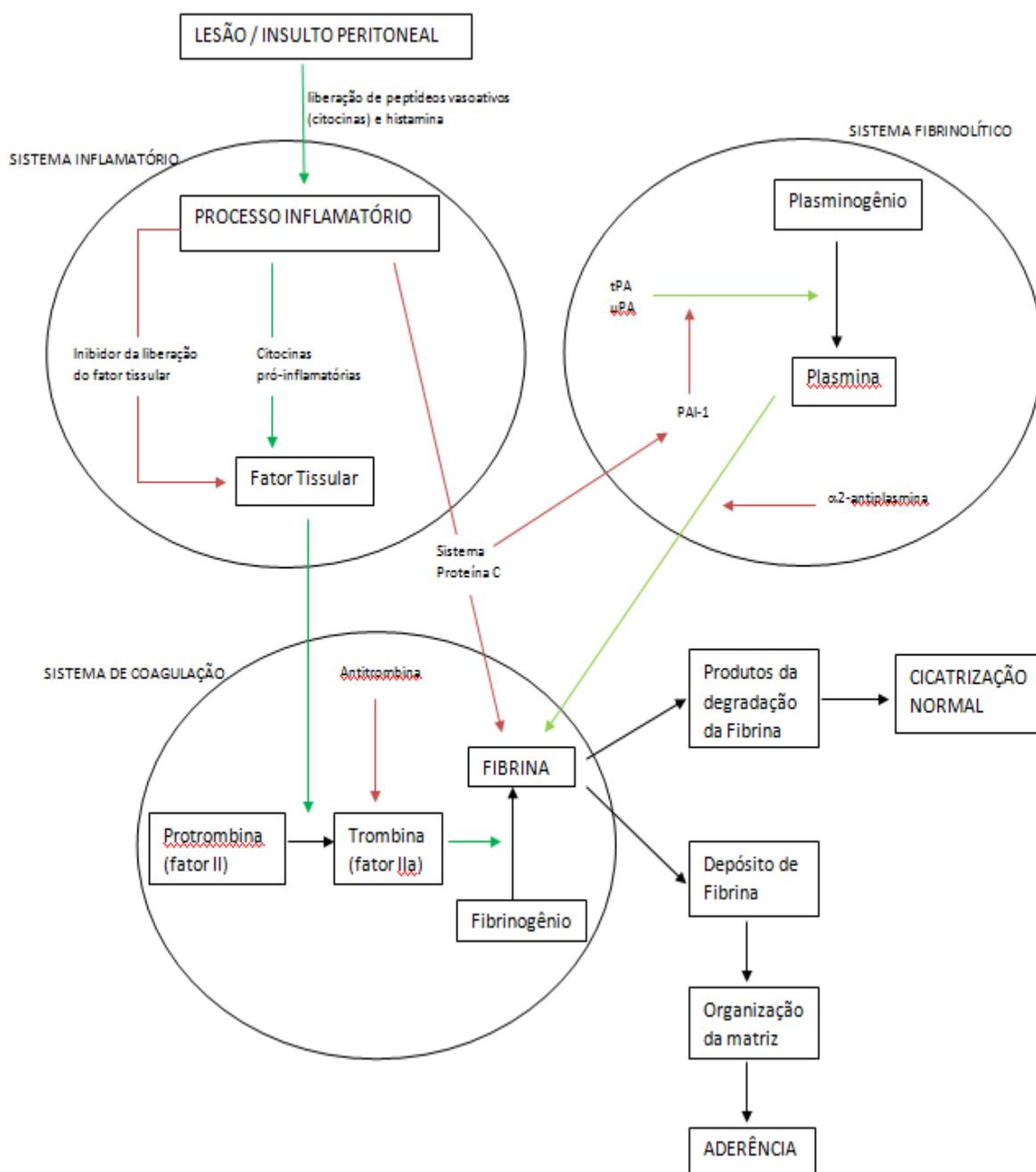
Na cavidade peritoneal existe o equilíbrio entre a coagulação e a fibrinólise. Quando a coagulação é ativada, ocorre a produção de trombina, que converte o fibrinogênio em fibrina. Por outro lado, há ativação do sistema fibrinolítico, verificando-se lise e degradação da fibrina simultaneamente. Esse equilíbrio é rompido por trauma cirúrgico a favor do sistema de coagulação (SANCHES; RAUSCH; ALMEIDA, 2003).

O mecanismo de formação de aderências pós-operatórias é complexo e envolve vários fatores no tecido hipóxico (MATSUZAKI *et al.*, 2007). Ao identificar que todas as lesões peritoneais potencialmente causam isquemia local e exsudação, o trauma foi considerado o mais importante desencadeador de aderências, seja pelo crescimento inadequado dos vasos ou pela perfusão insatisfatória. Após a lesão peritoneal, há aumento da permeabilidade vascular nos vasos que irrigam a área afetada, ocasionando exsudação de células inflamatórias, com formação e depósito de fibrina. A matriz de fibrina é gradualmente organizada e substituída por tecido que contém fibroblastos, macrófagos e células gigantes, levando à formação de conexão entre duas superfícies. Essa banda fibrinosa pode passar por processo no qual ela é desfeita em produtos de degradação da fibrina (FDP– Fibrin Degradation Products). Na presença de isquemia, a atividade fibrinolítica se reduz, a banda de fibrina mantém o processo de organização e sua persistência forma a estrutura denominada aderência. Quando os depósitos de fibrina persistem, as adesões fibrinosas podem desenvolver e organizar-se envolvendo a deposição de colágeno e neovascularização (pequenos canais vasculares provenientes das células endoteliais), culminando em adesões fibrosas permanentes (CORONA *et al.*, 2011; ELLIS, 2005; MATSUZAKI *et al.*, 2007).

O primeiro conceito de que a redução pós-operatória da atividade fibrinolítica no peritônio era a origem da formação de aderências tornou-se simplista. Acredita-se, atualmente, que seja apenas uma das alterações que predis põem o processo (CORONA *et al.*, 2011; ELLIS, 2005; HELLEBREKERS; KOOISTRA, 2011). Na fisiopatologia ocorre a formação de fibrina, resultado da ativação da cascata de coagulação que surge durante hemostasia, inflamação e reparação tecidual. A irritação física e química do peritônio resulta em estado inflamatório não bacteriano, com exsudação serofibrinosa peritoneal. A inflamação aguda envolve três componentes principais: alterações em calibre vascular e aumento do fluxo sanguíneo; a neoangiogênese com modificações estruturais na microvasculatura, permitindo a passagem de proteínas plasmáticas e leucócitos; e diapedese de leucócitos da microcirculação com sua acumulação e ativação na lesão (CORONA *et al.*, 2011; HELLEBREKERS; KOOISTRA, 2011).

Em cirurgia, a formação desse exsudato rico em fibrina no peritônio é parte do processo hemostático, em resposta ao dano de tecido, e componente essencial de reparo do tecido normal (HELLEBREKERS; KOOISTRA, 2011; MUNIREDDY; KAVALUKAS; BARBUL, 2010). Há três sistemas identificados que interagem no processo: coagulatório, fibrinolítico e inflamatório. O dano peritoneal infligido pelo ato cirúrgico diretamente (incisão, laceração, contusão, abrasão, esgarçamento) ou outros insultos (calor, sepse, isquemia, malignidade, reação a corpo estranho, inflamação ou radiação) que evocam resposta inflamatória promovem reações pró-coagulantes e antifibrinolíticas e conseqüente aumento na formação de fibrina. Hellebrekers e Kooistra (2011) postulam que diferenças individuais em peritônio inflamado, quanto às atividades pró-coagulantes e fibrinolíticas, determinam a persistência do depósito de fibrina e, por meio disso, a presença de adesões permanentes ou não. Essa relação entre o estado inflamatório, a capacidade coagulatória e a atividade fibrinolítica fornece uma base lógica para que numerosos fatores pré-cirúrgicos, cirúrgicos e pós-cirúrgicos possam ser manipulados em prol de evitar essa temível complicação (FIG. 1).

FIGURA 1 - Sistemas envolvidos na formação de aderências



Fonte: adaptado de *Pathogenesis of postoperative adhesion formation* mostrando as principais interações entre a inflamação, coagulação e fibrinólise, após a injúria peritoneal. tPA, *tissue plasminogen activator*; uPA, *urokinase plasminogen activator*; PAI, *plasminogen activator inhibitor* (HELLEBREKERS; KOOISTRA, 2011).

Hellebrekers e Kooistra (2011) chamam a atenção para o papel da inflamação como fator desencadeador e propõem investigações sobre o tratamento com anti-inflamatórios. Eles também destacam a supressão da

inflamação, a relação com o aumento direto da atividade fibrinolítica e a necessidade de mais estudos que investiguem a extensão da formação de adesão quanto ao estado inflamatório e fatores de coagulação e fibrinólise.

As células mesoteliais secretam interleucinas (IL), fator de necrose tumoral (TNF – *tumor necrosis factor*), fator de transformação do crescimento (TGF – *transforming growth factor*), quando estimuladas *in vitro*. Essas células podem contribuir no processo fibrinolítico, secretando ativador de plasminogênio tecidual e inibidor do ativador de plasminogênio (*plasminogen activator inhibitor* - PAI). No sistema fibrinolítico com poder diminuído e ineficaz, o tecido ativador de plasminogênio (tPA – *tissue plasminogen activator*) tem sua função dependente diretamente da proporção com seu inibidor (PAI-1). Estudo recente demonstrou que a razão tPA/PAI-1 é marcadamente diminuída nos fibroblastos peritoneais seguida de hipóxia *in vitro* (IRKORUCU *et al.*, 2009; KECE *et al.*, 2010). A expressão da molécula intercelular de adesão (*Intercellular adhesion molecule* ICAM-1) pelas células mesoteliais, quando estimuladas *in vitro*, já foi descrita, bem como a síntese de ácido hialurônico e prostaglandinas (CHEONG *et al.*, 2001). A hipóxia induz a conversão de fibroblastos peritoneais em fibroblastos com menos atividade fibrinolítica e significativo aumento dos níveis basais de ácido ribonucleico mensageiro (*messenger ribonucleic acid* - mRNA) para várias citocinas, fatores de coagulação e enzimas proteolíticas que desempenham papel na remodelação da matriz extracelular no processo de recuperação da injúria (ALPAY; SAED; DIAMOND, 2008; CORONA *et al.*, 2011; HOLTZ, 1984).

A oxigenação tecidual adequada aperfeiçoa a cicatrização e auxilia na prevenção da formação de aderências ao influenciar seus fatores causadores (CORONA *et al.*, 2011; FERNANDES, 2009; HELLEBREKERS; KOOISTRA, 2011). Foi com base nesse fato que surgiu a proposta da utilização da oxigenação hiperbárica na tentativa de prevenir essa complicação pós-operatória.

### 3.3 Prevenção de aderências

Em 1880 surgiram os primeiros registros de identificação de aderências abdominais como causa de complicações pós-operatórias. Apesar do considerável progresso em discernimento nos fatores determinantes da aderência, estratégias preventivas ainda são guiadas por cinco condutas descritas por Boys, em 1942: limitação ou prevenção do dano inicial do peritônio, prevenção da exsudação, retirada ou dissolução do depósito de fibrina, separação das superfícies e prevenção da organização da matriz inibindo a proliferação de fibroblastos (BECKER; STUCCHI, 2004; ELLIS, 2005; HELLEBREKERS; KOOISTRA, 2011).

No começo do século XX, várias propostas foram feitas no sentido de prevenir a formação de aderências pós-operatórias, as primeiras direcionadas para a prevenção ou diminuição do depósito de fibrina, utilizando citratos, heparina e cumarínicos. Porém, trata-se de medicações de uso restrito no pós-operatório imediato, por estarem associadas ao risco de sangramento (ELLIS, 2005; MOLINAS *et al.*, 2001; MUNIREDDY; KAVALUKAS; BARBUL, 2010). Experimentos posteriores consideraram a possibilidade de retirada do exsudato de fibrina entre as superfícies danificadas, na tentativa de lavar ou diluir a fibrina, utilizando soluções de salina, dextrose hipertônica e outras. Propuseram, ainda, digeri-la ou retirá-la com pepsina, tripsina, estreptoquinase e estreptodornase (SMANIOTTO *et al.*, 1997; VERREET *et al.*, 1989). O ativador de plasminogênio tecidual demonstrou ser promissor em modelo experimental em coelhos (CHEONG *et al.*, 2001; CHEUNG *et al.*, 2009; ELLIS, 2005).

Ampla variedade de substâncias foi utilizada na tentativa de separação de superfícies traumatizadas no ato cirúrgico, sendo que algumas delas surtiram efeito contrário ao desejado, tais como: salina, solução de ringer lactato, gelatina, azeite de oliva, parafina, silício, plasma, lanoline, âmnio, peritônio de carpa, peritônio de bezerro e enxertos de omento. Dessas barreiras, só uma membrana composta de ácido hialurônico e carboximetilcelulose foi capaz de causar redução na formação de aderências. Outros novos produtos estão sendo estudados atualmente, como o *Seprafilm*<sup>®</sup> (Hal-F, *Bioresorbable Membrane*; Genzyme Cooperation, Cambridge, MA, USA), *Sepracoat*<sup>®</sup> (HAL-C; Genzyme Corporation),

*Intergel*<sup>®</sup> (Ethicon, Inc.) e *Icodextrin solution*<sup>®</sup> (M.L. Laboratories, Plc, Leicester, UK) (CHEONG *et al.*, 2001; ELLIS, 2005; IRKORUCU *et al.*, 2009).

Na tentativa de inibição de proliferação fibroblástica, foram utilizados anti-histamínicos e esteroides com administração tópica e sistêmica. O conflito entre cicatrização da injúria cirúrgica e da prevenção das adesões fibrinosas não desejadas foi descrito por estudos que usam fluorouracil em ratos. Com alta dosagem deste fármaco houve inibição completa de adesões no ceco que sofreu abrasão, porém associada a complicações com falha na cicatrização da lesão e gangrena no sítio de esmagamento cecal (CORONA *et al.*, 2011).

Alguns fatores pré-cirúrgicos como idade, sexo, obesidade, medicação, infecção, tabagismo, diabetes, fase do ciclo menstrual, hipercolesterolemia, doença maligna, estresse e gravidez foram identificados como influentes na formação das aderências. Fatores cirúrgicos mais facilmente controláveis também contribuem na persistência da produção e depósito de fibrina, inclusive características da cirurgia como tipo e duração, uso de irrigação, anestésico, medicação adicional (como antimicrobianos) e transfusão sanguínea (HELLEBREKERS; KOOISTRA, 2011).

Um foco especial é a influência da extensão do dano peritoneal. Estudos mostraram que a cirurgia aberta ocasionou ativação significativamente maior do sistema de coagulação em plasma do que os procedimentos laparoscópicos. A laparoscopia, contudo, tem efeitos específicos pela forma como é executada. O pneumoperitônio pode ser deletério, o dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>), gás mais comumente utilizado, induz modificações locais como acidose, dissecação, hipotermia e efeitos adversos sobre microcirculação, possivelmente induzindo hipóxia (CLAUDIO; DIOGO FILHO; MAMEDE FILHO, 2006; LAUDER *et al.*, 2010).

Estudos visando à laparoscopia como forma de prevenção das aderências, que depararam com os aspectos negativos e estimuladores da formação das mesmas, abriram campo para que novas pesquisas fossem realizadas, na tentativa de diminuir suas complicações (AL-WAILI; BUTLER, 2006; CLAUDIO; DIOGO FILHO; MAMEDE FILHO, 2006; CORONA *et al.*, 2011; MOLINAS *et al.*, 2001; TOWNSEND *et al.*, 2005; WHANG *et al.*, 2011). A reação inflamatória no sítio de lesão é largamente aceita como atuante no mecanismo de formação de aderência. No entanto, as pesquisas mostram que os anti-inflamatórios não

esteroides (AINEs) como inibidores da cyclooxygenase-1 (COX-1) ou cyclooxygenase-2 (COX-2) e anticorpos que neutralizam o TNF- $\alpha$  não apresentaram efeitos sobre a formação de adesão ocorrida sob hipóxia (CO<sub>2</sub> puro no pneumoperitônio) ou adesão sob hiperóxia (pneumoperitônio com mais 12% de oxigênio - O<sub>2</sub>). Por outro lado, a dexametasona, um medicamento anti-inflamatório esteroide, reduziu a incidência de aderências em 30 e 62% na hipóxia e hiperóxia, respectivamente (CLAUDIO; DIOGO FILHO; MAMEDE FILHO, 2006). Outras tentativas envolveram a diminuição do tempo de pneumoperitônio, variação nos gases utilizados e nos níveis de pressão intraperitoneal (CORONA *et al.*, 2011; MOLINAS *et al.*, 2001). Mesmo com esses fatores atuando desfavoravelmente na efetividade da laparoscopia, esta, pelo menor trauma, ainda é capaz de diminuir a incidência das aderências, se comparada à cirurgia aberta (AL-WAILI; BUTLER, 2006; FERNANDES, 2009; LAUDER *et al.*, 2010).

### **3.4 Provocação experimental de aderências**

Whang *et al.* (2011) pesquisaram sobre as quatro técnicas mais utilizadas em pesquisa experimental: incisão, abrasão ou criação do botão de sutura em peritônio parietal e, no último grupo, abrasão do ceco. A análise multivariada, realizada para quantificar o desempenho de cada modelo, mostrou que a criação de um botão de sutura no peritônio apresentou os melhores resultados em termos de qualidade e quantidade. Segundo eles, a técnica a que denominaram de criação de botão peritoneal é mais consistente e reprodutível como modelo provocador de aderência intra-abdominal, modelo este que pode ajudar na padronização de estudos e desenvolvimento de pesquisas futuras para evitar a formação de aderências.

### **3.5 Oxigenação hiperbárica**

Oxigenação hiperbárica consiste na administração de uma fração inspirada de oxigênio próximo de um (100%) em ambiente com pressão duas a três vezes a

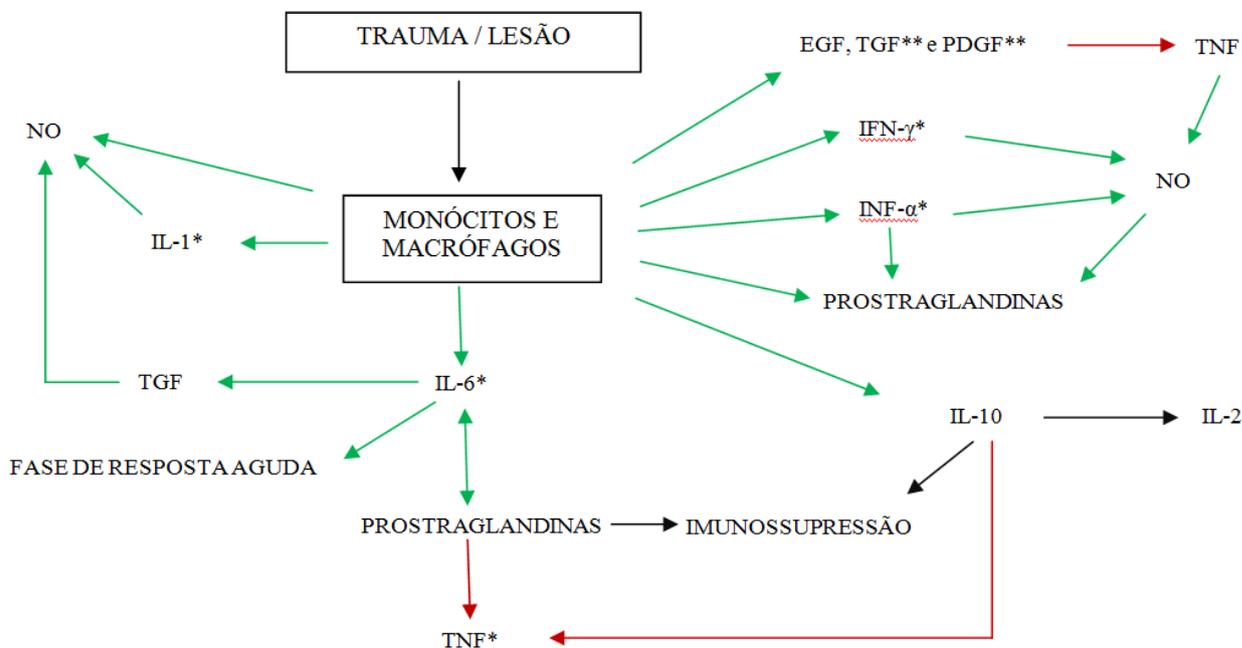
pressão atmosférica em nível do mar, o que causa aumento da pressão arterial e tecidual de oxigênio com efeitos terapêuticos. O maior aporte tecidual de oxigênio permite o aumento de enzimas anti-oxidativas e a modulação de fatores de crescimento e citocinas, envolvendo redução de edema, ativação de fibroblastos e macrófagos e estímulo à angiogênese e à síntese de colágeno (AL-WAILI; BUTLER, 2006; FERNANDES, 2009).

Atualmente, são crescentes os estudos e aplicações da oxigenação hiperbárica como tratamento médico, inclusive em áreas cirúrgicas. Costa-Val *et al.* (2006) descreveram os efeitos benéficos do uso da oxigenação hiperbárica na redução da mortalidade e atenuação dos efeitos nocivos ao fígado em ratos submetidos à ligadura das veias hepáticas.

A ação da oxigenoterapia hiperbárica, seja no tratamento de feridas, infecção, trauma ou cirurgia, envolve vários mediadores químicos, entre eles as citocinas, prostaglandinas e ácido nítrico. O importante papel no tratamento de feridas, intoxicação por monóxido de carbono, entre outras, já está bem documentado. Al-Waili e Butler (2006) mostraram que a OHB tem importante efeito sobre a biologia das citocinas e mediadores inflamatórios. Atua na inibição da regulação das citocinas responsáveis pelos estímulos pró-inflamatórios, estimula os fatores de crescimento e inibe a liberação de TNF- $\alpha$  e endotelinas. O nível do fator de crescimento do endotélio vascular (VEGF) é significativamente aumentado com a OHB e, inversamente, ocorre redução das prostaglandinas (FIG. 2).

O volume de oxigênio dissolvido e transportado pelo plasma, que é mínimo à pressão atmosférica, aumenta mais de 22 vezes sob a pressão de 2,5 atm. A hiperóxia aumenta a atividade fagocítica dos neutrófilos polimorfonucleares, diminuindo a taxa de infecção, além do efeito bactericida contra microrganismos anaeróbios. O estímulo da matriz de colágeno melhora a angiogênese e cicatrização, principalmente estimulada pela alternância hiperóxia/normóxia e melhoria da perfusão microvascular (AL-WAILI; BUTLER, 2006; BINDA; MOLINAS; KONINCKX, 2003; FERNANDES, 2009; GOTTRUP, 2004; KECE *et al.*, 2010; MATSUZAKI *et al.*, 2007).

FIGURA 2 - Efeitos da oxigenação hiperbárica nos mediadores inflamatórios e imunológicos



Fonte: adaptado de Al-Waili e Butler (2006), mostrando as principais interações entre as citocinas, prostraglandinas e óxido nítrico (NO).

\*inibidos pela oxigenoterapia hiperbárica (OHB);

\*\*estimulados pela OHB;

IL: interleucinas; TNF: fator de necrose tumoral; TGF: fator transformador do crescimento; IFN: interferon; PDGF: fator de crescimento derivado de plaquetas; EGF: fator de crescimento epidérmico.

A seta verde representa aumento e a vermelha diminuição.

Neutrófilos liberam VEGF e IL-8, que ativa as células endoteliais e induz a angiogênese pelo mecanismo de retroalimentação, envolvendo regulação das interleucinas. Neutrófilos, entretanto, são rica fonte de citocinas pró-inflamatórias, tais como IL-8 e TNF. A IL-10 produzida desempenha papel ativo no desenvolvimento de imunossupressão pós-trauma. Vários mediadores, como as prostraglandinas (PGs), óxido nítrico e citocinas, são liberados após lesão, principalmente frente à diminuição do aporte de oxigênio e isquemia. Óxido nítrico parece desempenhar papel na deposição do colágeno e possível inibição da fibrinólise (MUNIREDDY; KAVALUKAS; BARBUL, 2010).

A oxigenação hiperbárica afeta a liberação de várias citocinas e fatores de crescimento importantes no processo de cicatrização e induz, por exemplo, a neovascularização no enxerto de pele, preservando a capacidade regenerativa no

limite do enxerto e proliferativa normal da epiderme. Já foi descrito que a oxigenação na ferida sobe de 0 a 600 mmHg com a oxigenação hiperbárica, mantendo a hiperóxia por mais de uma hora após o término da sessão. Ocorre aumento de VEGF em cerca de 40% no quinto dia de tratamento (AL-WAILI; BUTLER, 2006).

Estudos sobre os efeitos da oxigenação hiperbárica em mediadores inflamatórios podem explicar o seu mecanismo de ação, além de expandir sua aplicação clínica. Al-Waili e Butler (2006) concluíram que a ação angiogênica que a oxigenoterapia provoca pode ser resultado do aumento da produção de VEGF e diminuição do óxido nítrico. Os efeitos imunossupressores e anti-inflamatórios devem-se à redução de produção de IL-1 e inibição de IFN- $\gamma$ , PGs, TNF- $\alpha$ , IL-1 e IL-6.

O indicador do efeito benéfico da oxigenoterapia está no coeficiente de isquemia-reperfusão da lesão, provocando aumento do B-cell lymphoma 2 (bcl-2) um inibidor da apoptose, e diminuição dos níveis de TNF- $\alpha$ . Verifica-se, ainda, estímulo à imunidade geral e local, por diminuir PGs, IL-1 e IL-10. O efeito anti-inflamatório estimula sua utilização em doenças inflamatórias agudas ou crônicas, em que grandes quantidades de PGs são produzidas. Os efeitos da oxigenoterapia em vários mediadores da inflamação não estão completamente registrados e estudos estão em andamento com possíveis resultados favoráveis para consagrar novas aplicações desse tratamento, identificando-se a necessidade de estudos mais direcionados para essa área (AL-WAILI; BUTLER, 2006; FERNANDES, 2009; GOTTRUP, 2004).

Até o momento, sabe-se que na fisiologia da cicatrização de feridas a importância da oxigenação efetiva está bem documentada. A hipóxia impede a cicatrização e prejudica a capacidade bactericida leucocitária, sendo o principal estímulo de produção do VEGF, que em alguns estudos foi apresentada como fator determinante da formação de adesão intra-abdominal. Anticorpo contra VEGF limitou a formação de aderências em coelhos (MOLINAS *et al.*, 2001).

Na oxigenação hiperbárica ocorre o aumento da produção do VEGF controlado, pois a hipóxia é induzida pela hiperóxia e normóxia, não ocorrendo uma produção demasiada do fator de crescimento, ele aumenta afetando a neovascularização, porém não ocorre o crescimento descontrolado pois a hipóxia verdadeira não ocorre com a oxigenação hiperbárica.

## 4 MÉTODO

Esta pesquisa foi aprovada pela Câmara Departamental do Departamento de Cirurgia da Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG) e do Comitê de Ética em Pesquisa Animal (nº169/10, ANEXO A). O experimento foi realizado em 54 ratas da espécie *Rattus norvegicus* e linhagem *Wistar*, com média de dois meses de idade, cujo peso variou de 250 a 280 g. Os animais foram obtidos no biotério do Instituto de Ciências Biológicas da UFMG e permaneceram em quarentena por 48 horas sem sinais ou sintomas de doenças que justificassem excluí-los da pesquisa. Os procedimentos cirúrgicos foram realizados no Núcleo de Experimentação Animal da Faculdade de Medicina da UFMG, situado na Av. Alfredo Balena, 190, na cidade de Belo Horizonte-MG. Nesse núcleo, os animais foram alojados em gaiolas coletivas para cinco ratos, durante a maior parte do experimento, e individuais somente no pós-operatório imediato. Os animais receberam água filtrada à vontade e ração duas vezes ao dia durante todo o período de experimentação, assim como cuidados com sanitização diária das gaiolas e do ambiente.

### 4.1 Composição dos grupos de animais

Todas as ratas foram submetidas à laparotomia em um mesmo dia e distribuídas, aleatoriamente, em três grupos de 18 animais e submetidos às condutas preestabelecidas para cada grupo, ou seja:

- Grupo 1 – laparotomia (controle)
- Grupo 2 – laparotomia, oxigenação a 21% sob 2,5 atmosferas
- Grupo 3 – laparotomia, oxigenação a 100% sob 2,5 atmosferas

### 4.2 Procedimento cirúrgico

Todos os animais dos três grupos foram submetidos ao mesmo procedimento cirúrgico.

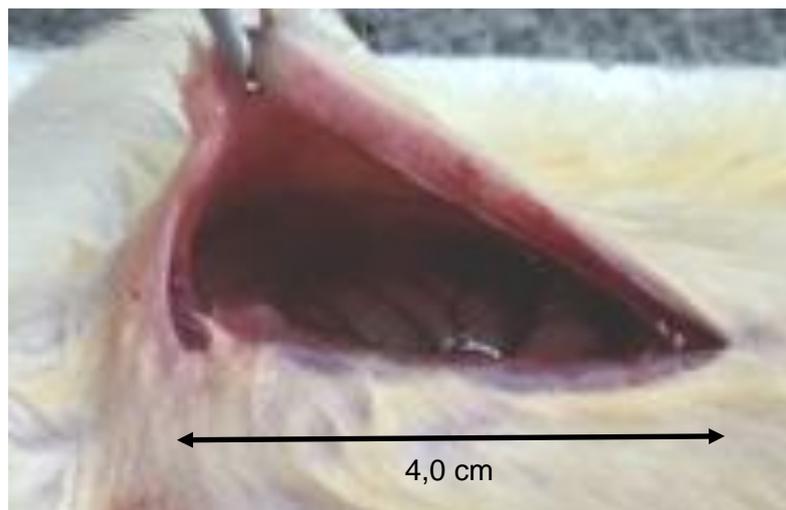
#### 4.2.1 Preparação dos animais para o procedimento cirúrgico

Os animais foram transferidos individualmente à sala de experimento em gaiolas menores momentos antes do procedimento, visando ao mínimo tempo possível de estresse. Realizada anestesia geral com associação de cetamina na dose de 70 mg/kg e xilazina a 10 mg/kg via intramuscular, de acordo com protocolo e orientações do Comitê de Ética em Experimentação Animal. Imobilização dos animais em decúbito dorsal com esparadrapo em prancha de isopor. Realizada antisepsia na região ventral com solução degermante de clorexidine.

#### 4.2.2 Laparotomia

Após colocar o animal em decúbito dorsal, o mesmo foi fixo com esparadrapo, pelos membros superiores e inferiores. Realizada incisão mediana com extensão de 4,0 cm, a 1,0 cm do subxifóide, estendendo-se do terço inferior do apêndice xifóide até o púbis (FIG. 3).

FIGURA 3 - Fotografia digital de laparotomia mediana de 4 cm em região subxifóidea na rata

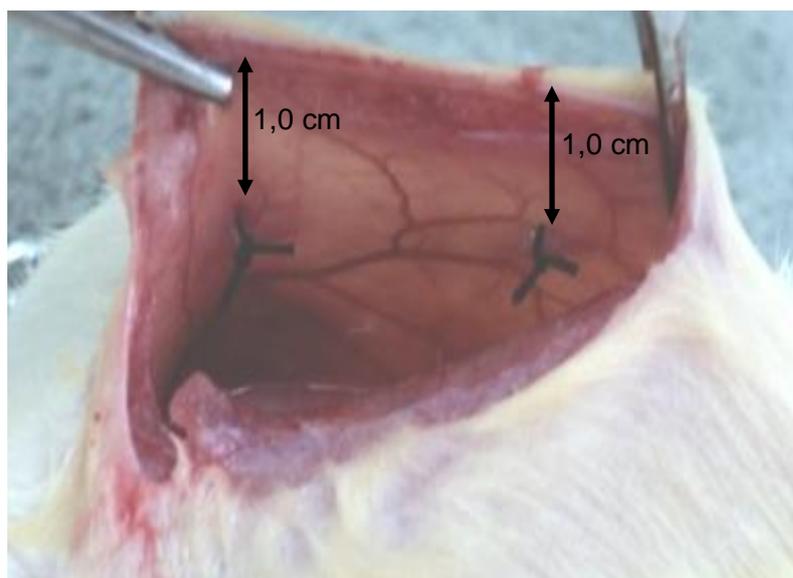


Fonte: da autora.

### 4.2.3 Procedimento intra-abdominal

Foram realizados quatro pontos em peritônio parietal a 1,0 cm lateralmente à incisão mediana, nos quatro quadrantes, superior e inferior, direito e esquerdo, com fio de seda 2-0, fazendo-se dois nós para estimular reação local e formação e aderências. Laparorrafia em plano único com *nylon* 3-0. Limpeza da ferida cirúrgica com clorexidine para retirar resíduos de sangue e diminuir o risco de automutilação (FIG. 4).

FIGURA 4 - Fotografia digital da cavidade abdominal, observando-se os fios de seda 2-0, localizados a 1,0 cm da incisão nos quadrantes superior e inferior direito



Fonte: da autora.

## 4.3 Pós-operatório

### 4.3.1 Cuidados gerais

No pós-operatório imediato, as ratas foram alojadas individualmente para evitar pisoteamentos ou agressões entre eles, motivados pela ferida operatória. Foi realizada analgesia com cetoprofeno na dose de 3 mg/kg, via subcutânea, a

cada 12 horas nos primeiros dias de pós-operatório. Os animais foram avaliados diariamente e receberam ração industrial (*Presence* ratos e camundongos®, Empresa *Presence* nutrição animal) e água. Os animais do grupo 1 (controle) não foram submetidos a outros procedimentos.

#### 4.3.2 Oxigenação hiperbárica

Nos seis dias subsequentes ao procedimento cirúrgico os animais dos grupos 2 e 3 foram submetidos à oxigenação em uma sessão diária, sob a pressão de 2,5 atmosferas, com duração de 90 minutos, em câmara hiperbárica (FIG. 5). O tempo total de oxigenação foi de 120 minutos, sendo os primeiros 15 minutos para compressão gradual e os últimos 15 para descompressão gradual.

Os animais do grupo 2 foram submetidos à oxigenação a 21% e os do grupo 3 oxigenação a 100%. O procedimento de oxigenação hiperbárica foi realizado simultaneamente e em câmaras separadas.

FIGURA 5 – Fotografia digital da câmara hiperbárica *monoplace*, usada na terapia em humanos, ocupada pelos animais alojados em recipiente



Fonte: da autora.

### 4.3.3 Eutanásia e procedimentos na cavidade abdominal

No sétimo dia de pós-operatório (grupo 1) e no dia seguinte ao término da oxigenação hiperbárica (grupos 2 e 3), os animais foram submetidos à eutanásia em câmara de CO<sub>2</sub>. Todos foram submetidos à laparotomia em “U” de modo a possibilitar a abertura da cavidade e avaliar as aderências sem danificá-las. Procedeu-se, inicialmente, uma incisão transversal suprapúbica e duas incisões paramedianas paralelas à cicatriz da primeira laparotomia e lateralmente aos pontos com fios de seda aplicados no peritônio parietal (FIG. 6).

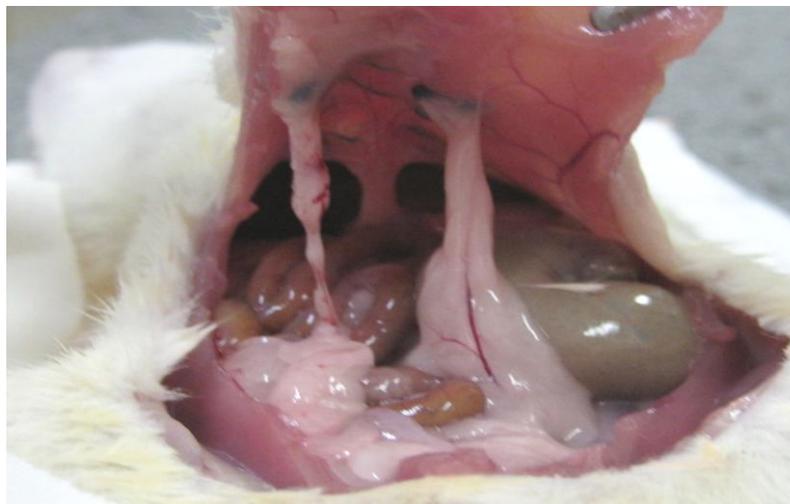
FIGURA 6 – Fotografia digital do abdome da rata com identificação da incisão em forma de “U” e abertura da cavidade abdominal



Fonte: da autora.

Após abertura da cavidade registrou-se, por meio de foto (FIG.7) e filmagem, o momento da elevação da parede abdominal e da tensão realizada até provocar a ruptura da aderência, foi utilizada uma pinça anatômica nos casos em que a aderência não rompeu por simples tração, para avaliar a resistência de cada uma delas. Essa documentação, numerada em planilha, evitou caracterizar de maneira explícita a qual grupo pertencia cada animal.

FIGURA 7 – Fotografia digital da cavidade abdominal e exposição do omento aderido à parede anterior nos locais dos fios de seda



Fonte: da autora.

Foi coletada amostra do peritônio nos quatro quadrantes (esquerdo superior e inferior e direito superior e inferior) e na ferida operatória, ou seja, cinco amostras para cada animal, identificadas por números. O material foi fixado com formaldeído a 10% e enviado para exame anatomopatológico com a numeração de cada animal, sem informar a qual grupo pertencia (FIG. 8).

FIGURA 8 – Fotografia digital dos frascos contendo amostra de peritônio dos quadrantes direito superior (DS), direito inferior (DI), esquerdo superior (ES), esquerdo inferior (EI) e ferida operatória (FO)



#### 4.4 Avaliação dos vídeos quanto à resistência das aderências

Os filmes foram avaliados por três cirurgiões individualmente, sem conhecerem a qual grupo o animal pertencia. Cada observador emitiu o resultado da graduação das aderências de cada animal com base na classificação macroscópica de Mazuji, Kalambaheti e Pawar (1964) (QUADRO 1). Na graduação final de cada rata foi considerada a aderência de maior graduação.

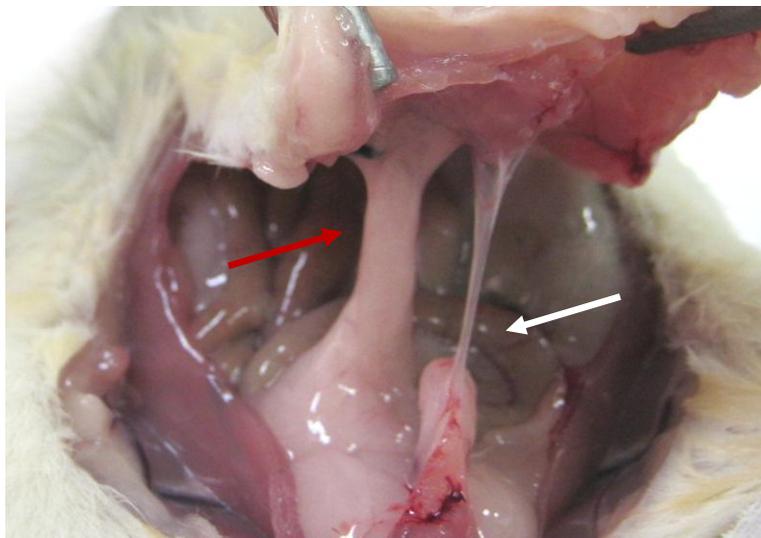
QUADRO 1 - Graduação das aderências conforme descrição à relaparotomia

| <b>Graduação</b> | <b>Descrição das aderências</b>              |
|------------------|--|
| 0                | Ausente                                      |
| 1                | Pequena e irregular                          |
| 2                | Facilmente separável, de média intensidade   |
| 3                | Intensa, de difícil separação                |
| 4                | Muito intensa, difícil separação e homogênea |

Fonte: classificação macroscópica adaptada de Mazuji, Kalambaheti e Pawar (1964).

Essa graduação possibilitou delinear a população em estudo de forma a identificar variações das características das aderências. Posteriormente, foi realizada a distribuição dos animais em dois grupos: grupo com aderências frágeis (animais graduados entre zero e dois); grupo com aderências resistentes (animais graduados entre três e quatro). Essa dicotomização foi elaborada para possibilitar a comparação e avaliação estatística (FIG. 9).

FIGURA 9 – Fotografia digital da cavidade abdominal da rata e aderências do tipo resistente (seta vermelha) e frágil (seta branca)



Fonte: da autora.

#### 4.5 Exame anatomopatológico do peritônio parietal

Depois de retiradas cinco amostras do peritônio parietal de cada animal, nos quatro quadrantes correspondentes aos pontos de seda e à ferida operatória (FO), foram preparadas as lâminas correspondentes, com coloração de hematoxilina e eosina (HE).

O patologista registrou a classificação individual de cada lâmina e, posteriormente, uma classificação geral comum aos quatro quadrantes e outra apenas da ferida operatória. Essa classificação foi registrada por números de zero a quatro, no qual o primeiro correspondeu à ausência e o último à maior intensidade. As biópsias peritoneais foram avaliadas histologicamente quanto aos seguintes aspectos: inflamação, fibrose e proliferação vascular, conforme classificação de Irkorucu (2009) (QUADRO 2).

QUADRO 2 - Gradação das alterações histológicas para avaliar biópsia peritoneal

| Classificação histológica |   | Gradação  |
|---------------------------|---|---|
| Fibrose                   | 0 | Ausente   |
|                           | 1 | Mínima  |
|                           | 2 | Moderada  |
|                           | 3 | Intensa   |
| Inflamação                | 0 | Ausente   |
|                           | 1 | Mínima (células gigantes; ocasionais linfócitos e células plasmáticas)      |
|                           | 2 | Moderada (células gigantes, células plasmáticas, eosinófilos e neutrófilos) |
|                           | 3 | Intensa (muitas células inflamatórias e microabscessos)                     |
| Proliferação vascular     | 0 | Ausente   |
|                           | 1 | Pouca   |
|                           | 2 | Moderada  |
|                           | 3 | Intensa   |

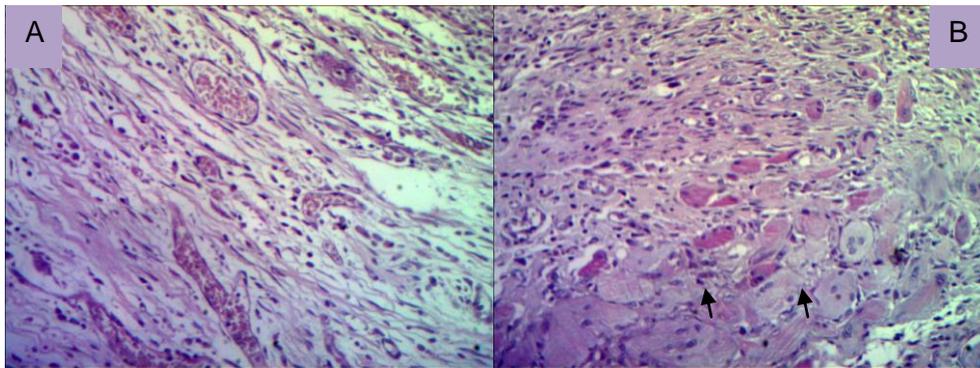
Fonte: classificação microscópica adaptada de Irkorucu (2009)

Posteriormente, foi realizada uma segunda classificação, na qual os animais foram distribuídos em dois grupos com gradação frágil ou resistente, com o objetivo de realizar a análise estatística da amostra. O exame histopatológico não encontrou grupo classificado como zero (ausente), portanto, a dicotomização reuniu os grupos de animais classificados como um e dois, de características mais semelhantes, o qual foi denominado de “aspecto leve”. E as amostras classificadas como três foram denominadas de “aspecto intenso”, por apresentarem elementos que as distinguem das demais (FIG. 10, 11 e 12).

Nas imagens pode-se perceber a presença de fibras colágenas espessas (fibrose intensa), o alto número de células inflamatórias mono e polimorfonucleares (inflamação intensa) e o tecido conjuntivo frouxo com diversos vasos neoformados (proliferação vascular intensa), todas as características

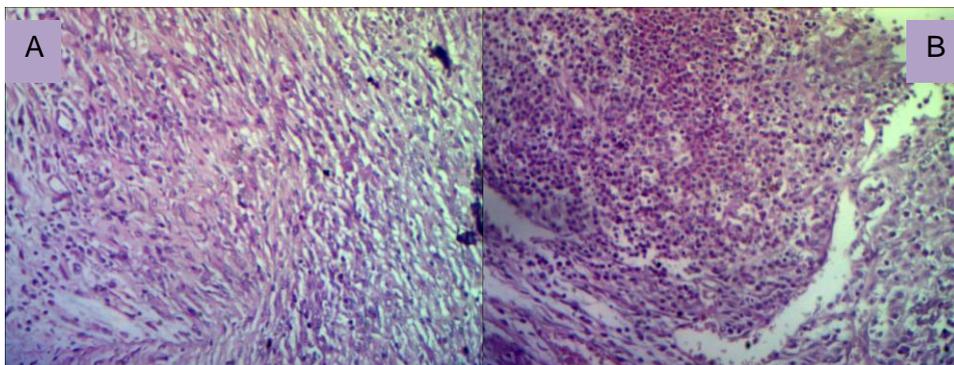
pertencentes à graduação 3 da classificação microscópica adaptada de Irkorucu (2009) (QUADRO 2).

FIGURA 10 – Microfotografia de lâminas com fibrose leve, estroma conjuntivo frouxo e vasos sanguíneos neoformados (A) e Imagem (B) com fibrose intensa com estroma conjuntivo denso e de fibra de deposição de colágenos espessas (setas)



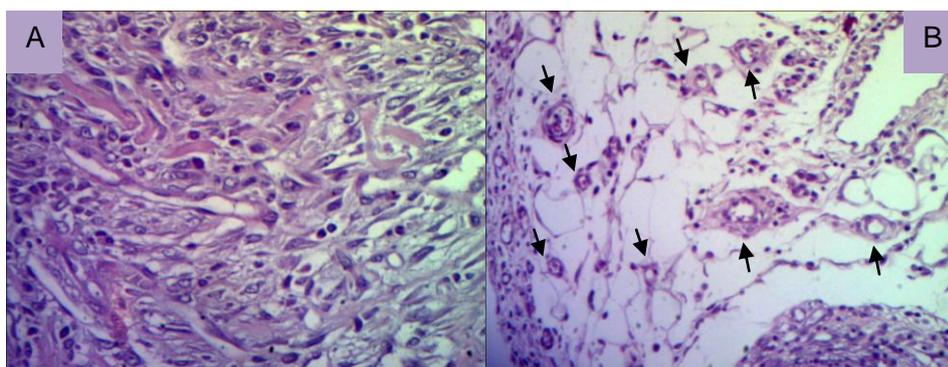
Hematoxilina-eosina (200x).

FIGURA 11 - Microfotografia de lâminas com inflamação do tipo leve (A) e infiltrado inflamatório intenso misto com alto número de células inflamatórias mono e polimorfonucleares (B)



Hematoxilina-eosina (200x).

FIGURA 12 - Microfotografia de lâmina com proliferação vascular imagem (A) com estroma conjuntivo mais denso e pouca proliferação vascular; (B) tecido conjuntivo frouxo com vasos neoformados (setas).



Hematoxilina-eosina (200x).

#### 4.6 Variáveis estudadas e testes estatísticos

O número de animais por grupo foi determinado considerando-se a amostragem aleatória simples no nível de 95% de confiança e com erro estimado de 21%, pretendendo-se erro com o mais baixo número de animais, para que o trabalho tivesse credibilidade, com variáveis mais estáveis. Para determinação, foi utilizada a fórmula:

$$n = \left( \frac{Z_{\alpha/2} \cdot \sigma}{E} \right)^2$$

Considerando “E” o erro, “ $z_{\alpha/2}$ ” assume o valor de 1,96 para nível de confiança igual a 95%, “ $\sigma$ ” corresponde ao desvio-padrão estimado (0,4546) e “n” é o valor amostral a ser calculado.

Foi realizada a análise de concordância entre os três observadores que avaliaram a macroscopia pelos vídeos e a comparação gráfica entre os grupos de

acordo com a classificação final concordante entre os mesmos. A frequência das aderências, número de ocorrências na população total de cada grupo, foi calculada com o objetivo de comparar os grupos e inferir a efetividade da oxigenação hiperbárica na prevenção das mesmas.

Para análise estatística entre os grupos, além dos gráficos, a classificação foi dicotomizada com o intuito de comparar graduação e o número de aderências, além dos aspectos histológicos dos animais submetidos à oxigenação hiperbárica, a 21% (grupo 2) e a 100% (grupo 3) e o controle (grupo 1). Os animais foram classificados de acordo com a característica das aderências em frágeis e resistentes. As primeiras são de fácil ruptura e não apresentam risco efetivo de gerar obstrução mecânica e possibilidade de reabsorção (fibrinólise). As aderências resistentes são as consideradas de difícil lise e, provavelmente, permanentes. Aplicaram-se os mesmos critérios na avaliação microscópica da fibrose, inflamação e proliferação vascular como leve e intensa.

A comparação entre os três grupos de animais, quanto às características das aderências, foi realizada por meio do teste de Fisher no programa *Epi Info*<sup>TM</sup>7, conjunto de programas de domínio público, produzidos pelo *Centers for Disease Control and Prevention* (CDC) com colaboração da Organização Mundial da Saúde (OMS), como descrito a seguir:

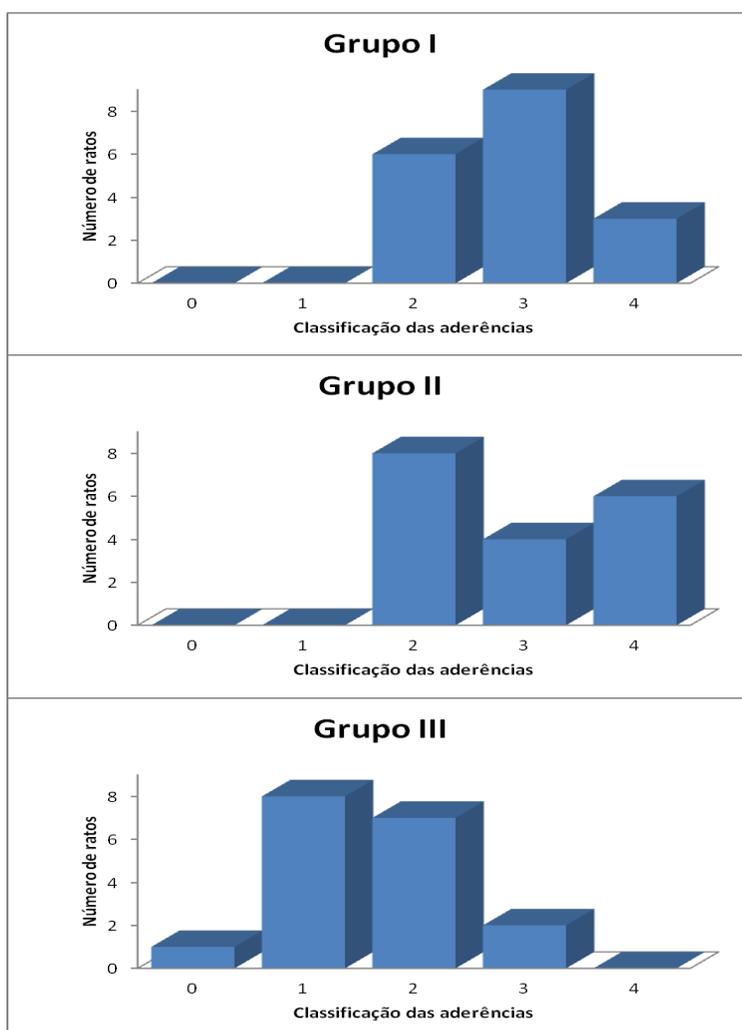
- Os grupos 1 e 3 foram comparados no intuito de verificar as alterações ocorridas com a introdução de duas variáveis, o oxigênio a 100% e a pressão de 2,5 atmosferas, e se a associação de ambos provocaria mudanças nos resultados;
- os grupos 2 e 3 foram comparados para avaliar apenas a variável oxigenação, uma vez que os dois grupos foram submetidos aos mesmos procedimentos, deslocamentos e sessões hiperbáricas;
- os grupos 1 e 2 foram comparados para verificar se a alteração apenas da pressão de oxigenação determinaria modificações na formação das aderências.

## 5 RESULTADOS

### 5.1 Frequência de aderências pós-operatórias

As ratas do grupo 1 (controle) e do grupo 2 (oxigenação a 21%) apresentaram aderências intensas, enquanto os animais do grupo 3, que receberam oxigenação hiperbárica a 100%, apresentaram aderências frágeis, sendo que um dos animais (grupo 3) não apresentou aderência (GRÁF. 1).

GRÁFICO 1 - Número de ratas classificadas de acordo com as características de cada aderência – grupo 1 (n=18) controle, grupo 2 (n=18) oxigenação hiperbárica a 21% e grupo 3 (n=18) oxigenação hiperbárica a 100%



## 5.2 Características macroscópicas das aderências

### 5.2.1 Comparação entre os animais dos grupos 1 (controle) e 3 (oxigenação a 100%)

O grupo de animais submetidos à oxigenação hiperbárica a 100% apresentou número significativamente mais elevado de aderências do tipo leve do que os animais do grupo controle ( $p=0,002$ ) (TAB. 1).

TABELA 1 - Comparação entre os animais dos grupos 1 ( $n = 18$ ) e grupo 3 ( $n=18$ ) quanto à graduação das aderências

| Grupos de animais    | Graduação das aderências e número de animais |         |
|----------------------|--|---------|
|                      | Leve   | Intensa |
| 1- controle          | 06   | 12      |
| 3- oxigenação a 100% | 16   | 02      |

( $p=0,002$ ) teste de Fisher realizado no programa Epi Info<sup>TM</sup>7.

### 5.2.2 Comparação entre os animais dos grupos 2 (oxigenação a 21%) e 3 (oxigenação a 100%)

O grupo de animais submetidos à oxigenação hiperbárica a 100% apresentou número significativamente mais alto de aderências do tipo frágil do que os animais do grupo oxigenação a 21%  $p=0,01$  (TAB. 2).

TABELA 2 - Comparação entre os animais dos grupos 2 ( $n=18$ ) e grupo 3 ( $n=18$ ) quanto à graduação das aderências na cavidade peritoneal

| Grupos de animais    | Graduação das aderências e número de animais |         |
|----------------------|--|---------|
|                      | Frágil                                       | Intensa |
| 2- oxigenação a 21%  | 08   | 10      |
| 3- oxigenação a 100% | 16   | 02      |

( $p=0,01$ ) teste de Fisher realizado no programa Epi Info<sup>TM</sup>7.

### 5.3 Avaliação histológica do peritônio parietal

Fibrose caracterizada como intensa ocorreu em 11,0% dos animais do grupo 3 (oxigenação a 100%), enquanto nos animais dos grupos 1 (controle) e 2 (oxigenação a 21%) essa porcentagem duplicou. Por outro lado, a porcentagem de fibrose do tipo mínima (leve) e moderada foi mais alta nos animais do grupo 3 em comparação aos dos grupos 1 e 2 (TAB. 3).

TABELA 3 - Porcentagem de animais em cada grupo (n=18) de acordo com a graduação de intensidade da fibrose

| Grupos         | Intensidade da Fibrose |            |              |           |
|----------------|------------------------|------------|--------------|-----------|
|                | 0 (ausente)            | 1 (mínima) | 2 (moderada) | 3 (densa) |
| Grupo 1 (n=18) | 0                      | 28,0%      | 25,0%        | 22,0%     |
| Grupo 2 (n=18) | 0                      | 28,0%      | 25,0%        | 22,0%     |
| Grupo 3 (n=18) | 0                      | 44,5%      | 44,5%        | 11,0%     |

Em vermelho as mais altas porcentagens.

Inflamação caracterizada como intensa ocorreu nos animais do grupo 3 (oxigenação a 100%) em porcentagem mais baixa (11,0%) em comparação com os demais grupos. Nesses, a intensidade da inflamação se manteve com porcentagens similares (TAB. 4).

TABELA 4 - Porcentagem de animais em cada grupo (n=18) de acordo com a graduação de intensidade da inflamação

| Grupos         | Intensidade da Inflamação |            |              |             |
|----------------|---------------------------|------------|--------------|-------------|
|                | 0 (ausente)               | 1 (mínima) | 2 (moderada) | 3 (intensa) |
| Grupo 1 (n=18) | 0                         | 28,0%      | 44,0%        | 28,0%       |
| Grupo 2 (n=18) | 0                         | 22,0%      | 50,0%        | 28,0%       |
| Grupo 3 (n=18) | 0                         | 22,0%      | 67,0%        | 11,0%       |

Proliferação vascular caracterizada como intensa foi encontrada em maior porcentagem (44,5%) nos animais do grupo 3 (oxigenação a 100%), em comparação com os demais grupos (TAB. 5).

TABELA 5 - Porcentagem de animais em cada grupo (n=18) de acordo com a graduação de proliferação vascular

| Grupos         | Intensidade da Proliferação Vascular |            |              |             |
|----------------|--------------------------------------|------------|--------------|-------------|
|                | 0 (ausente)                          | 1 (mínima) | 2 (moderada) | 3 (intensa) |
| Grupo 1 (n=18) | 0                                    | 33,0%      | 61,0%        | 6,0%        |
| Grupo 2 (n=18) | 0                                    | 22,0%      | 67,0%        | 11,0%       |
| Grupo 3 (n=18) | 0                                    | 11,0%      | 44,5%        | 44,5%       |

Em vermelho as mais altas porcentagens.

### 5.3.1 Comparação entre os grupos 1 (controle) e 3 (oxigenação a 100%)

Fibrose caracterizada como leve e intensa foi verificada em ambos os grupos, sem diferença significativa ( $p=0,66$ ) (TAB. 6).

TABELA 6 - Comparação entre os animais do grupo 1 (n=18) e grupo 3 (n=18) quanto à fibrose

| Grupos de animais    | Fibrose e número de animais |         |
|----------------------|-----------------------------|---------|
|                      | Leve                        | Intensa |
| 1- controle          | 14                          | 04      |
| 3- oxigenação a 100% | 16                          | 02      |

( $p=0,66$ ) teste de Fisher realizado no programa Epi Info™7.

Inflamação caracterizada como leve e intensa registrou-se nos dois grupos de animais, sem diferença significativa ( $p=0,40$ ) (TAB. 7).

TABELA 7 - Comparação entre os animais do grupo 1 (n=18) e grupo 3 (n=18) quanto à inflamação

| Grupos de animais    | Inflamação e número de animais |         |
|----------------------|--------------------------------|---------|
|                      | Leve                           | Intensa |
| 1- controle          | 13                             | 05      |
| 3- oxigenação a 100% | 16                             | 02      |

( $p=0,40$ ) teste de Fisher realizado no programa Epi Info™7.

Proliferação vascular caracterizada como intensa acometeu maior número nos animais submetidos à oxigenação a 100%, cujo resultado foi significativo ( $p=0,02$ ) (TAB. 8).

TABELA 8 - Comparação entre os animais do grupo 1 ( $n = 18$ ) e grupo 3 ( $n=18$ ) quanto à proliferação vascular

| Grupos de animais    | Proliferação vascular e número de animais |         |
|----------------------|---|---------|
|                      | Leve                                      | Intensa |
| 1- controle          | 17  | 01      |
| 3- oxigenação a 100% | 10  | 08      |

( $p=0,02$ ) teste de Fisher realizado no programa Epi Info<sup>TM</sup>7.

### 5.3.2 Comparação entre os animais dos grupos 2 (oxigenação a 21%) e grupo 3 (oxigenação a 100%)

Fibrose caracterizada como leve e intensa foi constatada nos dois grupos de animais, sem diferença significativa ( $p=0,66$ ) (TAB. 9).

TABELA 9 - Comparação entre os animais do grupo 2 ( $n=18$ ) e grupo 3 ( $n=18$ ) quanto à fibrose

| Grupos de animais    | Fibrose e número de animais |         |
|----------------------|-----------------------------|---------|
|                      | Leve                        | Intensa |
| 2- oxigenação a 21%  | 14                          | 04      |
| 3- oxigenação a 100% | 16                          | 02      |

( $p=0,66$ ) teste de Fisher realizado no programa Epi Info<sup>TM</sup>7.

Apurou-se inflamação caracterizada como leve e intensa nos dois grupos, sem diferença significativa ( $p=0,40$ ) (TAB. 10).

TABELA 10 - Comparação entre os animais do grupo 2 (n=18) e grupo 3 (n=18) quanto à inflamação

| Grupos de animais    | Inflamação e número de animais |         |
|----------------------|--------------------------------|---------|
|                      | Leve                           | Intensa |
| 2- oxigenação a 21%  | 13                             | 05      |
| 3- oxigenação a 100% | 16                             | 02      |

(p=0,40) teste de Fisher realizado no programa Epi Info™7.

Proliferação vascular caracterizada como intensa ocorreu com mais expressividade e de maneira significativa nos animais submetidos à oxigenação a 100% (p=0,02) (TAB. 11).

TABELA 11 - Comparação entre os animais do grupo 2 (n=18) e grupo 3 (n=18) quanto à proliferação vascular

| Grupos de animais    | Proliferação vascular e número de animais |         |
|----------------------|---|---------|
|                      | Leve                                      | Intensa |
| 2- oxigenação a 21%  | 16  | 02      |
| 3- oxigenação a 100% | 10  | 08      |

(p=0,02) teste de Fisher realizado no programa Epi Info™7.

#### 5.4 Variação pressórica isolada em oxigenação-ambiente

##### 5.4.1 Comparação entre os animais do grupo 1 (controle) e grupo 2 (oxigenação a 21%), quanto à macroscopia das aderências

Aderências da cavidade peritoneal caracterizadas como leve e intensa foram encontradas nos dois grupos, sem diferença (p=0,73) (TAB. 12).

TABELA 12 - Comparação entre os animais do grupo 1 (n = 18) e grupo 2 (n=18) quanto às características das aderências na cavidade peritoneal

| Grupos de animais   | Características das aderências e número de animais |         |
|---------------------|--|---------|
|                     | Leve   | Intensa |
| 1- controle         | 06   | 12      |
| 2- oxigenação a 21% | 08   | 10      |

( $p=0,73$ ) teste de Fisher realizado no programa Epi Info<sup>TM</sup>7.

#### 5.4.2 Comparação entre os animais do grupo 1 (controle) e grupo 2 (oxigenação a 21%) quanto à histologia do peritônio parietal

A presença de fibrose, inflamação e proliferação vascular no peritônio verificou-se nos animais dos dois grupos, sem diferença ( $p=1,00$ ) (TAB. 13, 14 e 15).

TABELA 13 - Comparação entre os animais do grupo 1 (n=18) e grupo 2 (n=18) quanto à histologia do peritônio – fibrose

| Grupos de animais   | Fibrose e número de animais |         |
|---------------------|-----------------------------|---------|
|                     | Leve                        | Intensa |
| 1- controle         | 14                          | 04      |
| 2- oxigenação a 21% | 14                          | 04      |

( $p=1,00$ ) teste de Fisher realizado no programa Epi Info<sup>TM</sup>7.

TABELA 14 - Comparação entre os animais do grupo 1 (n=18) e grupo 2 (n=18) quanto às características microscópicas – inflamação

| Grupos de animais   | Inflamação e número de animais |         |
|---------------------|--------------------------------|---------|
|                     | Leve                           | Intensa |
| 1- controle         | 13                             | 05      |
| 2- oxigenação a 21% | 13                             | 05      |

( $p=1,00$ ) teste de Fisher realizado no programa Epi Info<sup>TM</sup>7.

TABELA 15 - Comparação entre os animais do grupo 1 (n=18) e grupo 2 (n=18) quanto às características microscópicas – proliferação vascular

| <b>Grupos de animais</b>   | <b>Proliferação vascular e número de animais</b> |                |
|----------------------------|--|----------------|
|                            | <b>Leve</b>                                      | <b>Intensa</b> |
| <b>1- controle</b>         | 17   | 01             |
| <b>2- oxigenação a 21%</b> | 16   | 02             |

(p=1,00) teste de Fisher realizado no programa Epi Info™7.

## 6 DISCUSSÃO

É frequente a proposta de novos procedimentos operatórios passíveis de serem simulados em animais, possibilitando a verificação de sua viabilidade e consequências. No presente estudo, a pesquisa experimental permitiu avaliar algumas das alterações fisiopatológicas do procedimento cirúrgico e a eficácia profilática e terapêutica da oxigenação hiperbárica. Toda a proposta e as ações atenderam as orientações do Comitê de Ética em Experimentação Animal (CETEA) (ANEXO A).

A formação de aderências intra-abdominais é um evento que ocorre em várias situações, sejam elas infecciosas, isquêmicas, lesões malignas, radiação e, principalmente, trauma cirúrgico (HELLEBREKERS; KOOISTRA, 2011). Apesar de haver numerosos estudos no intuito de alcançar a prevenção efetiva, faltam resultados e persistem questionamentos sobre a fisiopatologia (BECKER; STUCCHI, 2004; BERKKANOGLU *et al.*, 2005; CLAUDIO; DIOGO FILHO; MAMEDE FILHO, 2006; CORONA *et al.*, 2011; IRKORUCU *et al.*, 2009; JOHNS, 2001; SOUZA FILHO *et al.*, 2007; TOWNSEND *et al.*, 2005; VIANA *et al.*, 2008).

A formação das aderências relaciona-se, na maioria das vezes, às lesões que ocorrem durante o ato cirúrgico, provocando principalmente desequilíbrio na interação dos sistemas de coagulação, fibrinolítico e inflamatório (CORONA *et al.*, 2011; HELLEBREKERS; KOOISTRA, 2011). Apoiado nesse princípio e considerando que a isquemia é o maior indutor da formação das aderências (KECE *et al.*, 2010; MATSUZAKI *et al.*, 2007), foi elaborada a proposta, do ponto de vista teórico, da possibilidade de a oxigenação hiperbárica ter potencial preventivo no processo de formação das aderências.

A pesquisa foi realizada em ratos, pois estes apresentam baixa morbimortalidade, boa resistência a procedimentos cirúrgicos e à instalação de infecções, fácil tratamento e manipulação e possibilitam a reprodutibilidade do experimento. Estimulados pela possibilidade de provocar intervenção com intenção de prevenir a formação de aderências, foi iniciado projeto-piloto que delimitou algumas situações para a realização do estudo.

O projeto inicial consistia na realização de laparostomia com o objetivo de induzir aderências peritoneais. No entanto, esse projeto tornou-se inviável, uma vez que os ratos podem praticar automutilação, caso a ferida seja exposta e tenha sangue.

Em estudo comparativo de modelos formadores de aderência, na pesquisa por um modelo consistente foi proposta por Whang *et al.* a sutura em peritônio parietal, como aquele que reunia atributos como a fácil reprodutibilidade, associada à consistência da técnica, que permite a padronização da mensuração. Optou-se por algumas modificações do modelo, embasados em outros trabalhos (BANCHE *et al.*, 2007; CORRALES *et al.*, 2008; EZBERCI *et al.*, 2006). Foram feitas intervenções nos quatro quadrantes, evitando-se a concentração das aderências em uma só região e o fio utilizado foi o seda 2-0, pelo seu emprego na prática cirúrgica.

A associação cetamina-xilasina foi indicada para animais de pequeno porte e eventos de curta duração, de acordo com protocolo e princípios éticos do CETEA da UFMG (ANEXO C). A cetamina é um fármaco que causa efeitos dissociativos e hipnóticos, associados à acentuada redução da intensidade da dor neuropática induzida em ratos, além de apresentar efeitos neuroprotetores (SILVA *et al.*, 2010). Enquanto a xilazina atua no sistema nervoso central sendo agonista adrenérgico alfa-2 com potente atividade antinociceptiva ou analgésica, provoca relaxamento da musculatura esquelética, por inibição da transmissão de impulsos ao sistema nervoso central.

Quanto à oxigenação hiperbárica, existe atualmente um comitê que consagra seu uso a alguns tratamentos e define aqueles com uso discutível e os sem indicações (ANEXO D). A maioria das indicações formais envolve isquemia tecidual, úlceras isquêmicas, de pressão e diabéticas, fasciites, osteomielites, intoxicação por monóxido de carbono e embolia gasosa. Estão em andamento várias pesquisas investigando outros benefícios da utilização da oxigenação hiperbárica (CORONA *et al.*, 2011; FERNANDES, 2009; HELLEBREKERS; KOOISTRA, 2011).

A oxigenação sistêmica é alterada pelo oxigênio fornecido a 100% apenas sob altas pressões, pelo aumento da pressão parcial do oxigênio e de sua solubilidade no plasma sanguíneo. A maior oxigenação nas regiões traumatizadas e no tecido isquêmico promove a queda dos estímulos pró-inflamatórios ao inibir a

regulação de citocinas e estimular fatores de crescimento. A tensão de oxigênio está diretamente relacionada à resistência à infecção, síntese do colágeno e neovascularização. O tratamento com oxigenação hiperbárica tem indicações crescentes ao longo dos anos, sendo introduzido em protocolos de diversos tratamentos.

Além disso, a alternância da hiperóxia e normóxia provoca melhora da perfusão microvascular, por estimular a neovascularização na região, pois esta entende a baixa oxigenação após a hiperóxia como um estado de hipóxia. Com o aumento do aporte de oxigênio, mediadores como as prostaglandinas, citocinas e óxido nítrico, responsáveis pela inibição da fibrinólise e deposição de colágeno, diminuem consideravelmente e contribuem para que as aderências formadas sejam desfeitas e não se organizem em aderências resistentes e definitivas.

Cientes desses fatores, no presente estudo iniciaram-se as sessões de oxigenação hiperbárica no dia seguinte ao procedimento cirúrgico, com o objetivo de prevenir a formação das aderências. A não realização da sessão de oxigenação no dia da operação teve o objetivo de evitar o aumento da morbimortalidade dos animais com o deslocamento dos mesmos até o centro de tratamento hiperbárico no dia da laparotomia para submetê-los a outro estresse além do cirúrgico. Entre outros dados, constatou-se que a exposição intermitente ao oxigênio diariamente pode ser suficiente para suprir as necessidades do tecido isquêmico, não sendo necessária mais de uma sessão diária (IRKORUCU *et al.*, 2009; MATSUZAKI *et al.*, 2007; SANCHES; RAUSCH; ALMEIDA, 2003).

Em revisão de literatura Yagci *et al.* (2006) demonstraram a efetividade em aumentar a concentração do oxigênio nos tecidos no tratamento de oxigenação hiperbárica dentro do período de 90 minutos, detectada a ineficácia se tempo curto e o aumento do risco de complicações indesejadas se tempo mais prolongado.

A reintervenção cirúrgica foi programada para o sétimo dia, com base em estudos prévios nos quais as aderências avaliadas depois de sete dias não variaram significativamente das observadas nesse dia. No período de cinco a oito dias, o processo de cicatrização já ocorreu quase que completamente (CHEONG *et al.*, 2001; MOLINAS *et al.*, 2001).

Efeitos positivos foram alcançados no presente estudo, com indicativos de que a proliferação vascular aumentada possa ter contribuído para os resultados

obtidos, frequência aumentada de aderências frágeis nas ratas do grupo 3 (oxigenação a 100% sob 2,5 atm).

Não foi registrada diferença significativa na frequência de aderências abdominais entre os grupos. Porém, os dados permitem afirmar que o grupo 3 (oxigenação hiperbárica a 100%) e os demais grupos se diferenciaram na intensidade das aderências e na proliferação vascular. O grupo 3 foi o que apresentou aderências mais frágeis e proliferação vascular mais intensa, o que contribuiu para a diminuição da isquemia local e conseqüente alteração da intensidade das aderências intra-abdominais. Esse resultado está em concordância com a afirmação de que a oxigenação hiperbárica está entre as modalidades terapêuticas capazes de diminuir os efeitos deletérios causados pelo trauma cirúrgico, atuando no processo de isquemia e reperfusão (MUNIREDDY; KAVALUKAS; BARBUL, 2010). Esse efeito pode ser devido à redução dos radicais livres e óxido nítrico, uma vez que essas substâncias estão presentes em mais quantidade no tecido isquêmico, podem aumentar o depósito de colágeno e interferir na lise das aderências, provocando organização das aderências e persistência das mesmas (HELLEBREKERS; KOOISTRA, 2011).

Kece *et al.* (2010) estudaram os efeitos da oxigenação hiperbárica associados ao uso do fator estimulador de colônias de granulócito (*granulocyte-colony stimulating factor* - G-CSF). Concluíram que somente quando associados exerceriam efeito preventivo efetivo na incidência de aderências. Porém, nesse trabalho também houve diminuição da graduação das aderências no grupo submetido à oxigenação hiperbárica, mas não foi avaliada a proliferação vascular.

Segundo Schnüringer *et al.* (2011) existem condutas consagradas que podem ser utilizadas em todas as operações no sentido de prevenir aderências, são elas: evitar talco nas luvas; evitar dissecação extensa e desnecessária e cuidados com a presença de conteúdo intestinal ou vesicular na cavidade peritoneal. Mesmo com essas condutas, associadas ou não ao uso da laparoscopia em substituição à laparotomia, não há garantia da ausência das aderências que continuaram frequentes (KAMEL, 2010; SCHNÜRIGER *et al.*, 2011).

As barreiras mecânicas têm seu risco-benefício questionado, podendo ser consideradas em procedimentos específicos nos quais há elevado risco da ocorrência de aderências. O ácido hialurônico, um dos agentes mais testados,

mostrou-se efetivo em numerosos estudos, porém há preocupação sobre a alta incidência de deiscência anastomótica nos casos em que foi colocado diretamente próximo das mesmas.

Vários agentes absorvíveis em gel foram desenvolvidos e testados, mas a maioria foi abandonada, por questão de segurança ou por ineficácia. Os agentes fluidos foram pesquisados pela vantagem de cobrir os locais com grande potencial de formação de aderências, porém os estudos são limitados e a utilização em cirurgias gastrintestinais conduziu a inaceitável taxa de complicações. Um produto efetivo a ser utilizado em todos os casos não foi ainda descoberto. Existem questionamentos ainda não respondidos, como por que alguns pacientes desenvolvem mais aderências que outros? Há alguma forma de detectá-los no pré-operatório? (KAMEL, 2010; SCHNÜRIGER *et al.*, 2011). Os trabalhos não podem ser comparados, devido a não padronização experimental, que vai desde a forma de provocação das aderências até a avaliação estatística dos resultados.

A profilaxia com a oxigenação hiperbárica pode ser promissora, pela possibilidade de intervenção não invasiva, sem aumento de morbimortalidade ou riscos de aumento na incidência de complicações inerentes ao processo cirúrgico. Pelo contrário, ela pode intervir, além da formação de aderências, na ocorrência de deiscências de sutura, formação de processos infecciosos e na aceleração da cicatrização da ferida operatória. A existência de alta frequência de aderências frágeis nos ratos do grupo 3 no sétimo dia leva a pensar na possibilidade de que as aderências poderiam ter sido degradadas e desfeitas se aumentasse o período para a realização da relaparotomia.

O grupo 2 (oxigenação a 21% e pressão de 2,5 atm), quando comparado com o grupo 1 (controle), acentuou que apenas a alteração da pressão sem a oxigenação a 100% não alterou significativamente os resultados, enfatizando que é necessária a oxigenação a 100% para influenciar o processo.

A fisiopatologia da formação das aderências está em constante investigação, considerando-se que sua prevenção é dependente do conhecimento da sua origem. Estudos no sentido de compreender e intervir nos componentes do processo permitem a proximidade de solucionar esse problema de forma efetiva na prática cirúrgica.

Ainda falta melhor padronização dos experimentos, desde o fator provocador das aderências até a determinação do período de reabertura da cavidade, para permitir que as pesquisas sejam comparáveis (WHANG *et al.*, 2011). Enquanto as pesquisas são desenvolvidas no sentido de sanar esse problema, o cirurgião deve prevenir as aderências peroperatórias mediante as condutas de diminuir o tempo cirúrgico, realizar hemostasia adequada, evitar manipulação excessiva e reduzir o trauma.

A efetividade da oxigenação hiperbárica poderia ser aperfeiçoada. O início das sessões no dia da operação objetiva melhorar ainda mais precocemente a oxigenação tecidual e, assim, reduzir a resposta inflamatória inicial, a produção das citocinas, do óxido nítrico, das prostaglandinas e favorecer o sistema fibrinolítico desde o início do processo.

Yagci *et al.* (2006) concluíram que a oxigenação hiperbárica no pré e pós-operatório de anastomoses gastrintestinais nos pacientes com deficiência da microcirculação e com diabetes diminuiria o risco de complicações do procedimento. Sua aplicação em cirurgias é uma possibilidade de potencializar o efeito sem utilização de outros produtos associados.

Na perspectiva de avaliar efetivamente com sensibilidade e especificidade os efeitos da oxigenação hiperbárica, fazem-se necessárias investigações mais aprofundadas, como o estudo das células mesoteliais ou do tecido cicatricial. A combinação de técnicas de histologia, imunologia, bioquímicas e imuno-histoquímica poderá identificar componentes envolvidos e alterados em todo o processo de cicatrização.

A elaboração de protocolo, com descoberta de método eficaz ou mesmo associações de métodos preventivos, pode tornar possível amenizar ou mesmo sanar o problema das aderências na cavidade peritoneal e suas consequências. Para isso, a sistematização e a padronização são necessárias em todos os estudos futuros, permitindo, assim, que possam ser comparáveis e reprodutíveis.

## 7 CONCLUSÃO

Neste estudo, a oxigenação hiperbárica no pós-operatório de ratas submetidas à laparotomia:

- Não alterou a frequência, mas reduziu a intensidade das aderências;
- promoveu mais proliferação vascular peritoneal na área acometida.

Na presença de oxigenação-ambiente a alteração somente da pressão atmosférica não influenciou a formação das aderências.

## REFERÊNCIAS

ALPAY, Z.; SAED, G.M.; DIAMOND, M.P. Postoperative adhesions: from formation to prevention. **Semin Reprod Med**, v. 26, n. 4, p. 313-21, Jul 2008. ISSN 1526-4564.

AL-WAILI, N.S.; BUTLER, G.J. Effects of hyperbaric oxygen on inflammatory response to wound and trauma: possible mechanism of action. **Scientific World Journal**, v. 6, p. 425-41, 2006. ISSN 1537-744X.

BANCHE, G. *et al.* Microbial adherence on various intraoral suture materials in patients undergoing dental surgery. **J Oral Maxillofac Surg**, v. 65, n. 8, p. 1503-7, Aug 2007. ISSN 0278-2391.

BECKER, J.M.; STUCCHI, A.F. Intra-abdominal adhesion prevention: are we getting any closer? **Ann Surg**, v. 240, n. 2, p. 202-4, Aug 2004. ISSN 0003-4932.

BERKKANOGLU, M. *et al.* Inhibition of chemokines prevents intraperitoneal adhesions in mice. **Hum Reprod**, v. 20, n. 11, p. 3047-52, Nov 2005. ISSN 0268-1161.

BINDA, M.M.; MOLINAS, C.R.; KONINCKX, P.R. Reactive oxygen species and adhesion formation: clinical implications in adhesion prevention. **Hum Reprod**, v. 18, n. 12, p. 2503-7, Dec 2003. ISSN 0268-1161.

CHEONG, Y.C. *et al.* Peritoneal healing and adhesion formation/reformation. **Hum Reprod Update**, v. 7, n. 6, p. 556-66, 2001 Nov-Dec 2001. ISSN 1355-4786.

CHEUNG, J.P. *et al.* Adjuvant therapy for the reduction of postoperative intra-abdominal adhesion formation. **Asian J Surg**, v. 32, n. 3, p. 180-6, Jul 2009. ISSN 1015-9584.

CLAUDIO, R.H.; DIOGO FILHO, A.; MAMEDE FILHO, D.O. Peritoneostomy with latex coated polypropylene: experimental study in rats. **Acta Cir Bras**, v. 21, n. 6, p. 402-8, 2006 Nov-Dec 2006. ISSN 0102-8650.

CORONA, R. *et al.* Postoperative inflammation in the abdominal cavity increases adhesion formation in a laparoscopic mouse model. **Fertil Steril**, v. 95, n. 4, p. 1224-8, Mar 2011. ISSN 1556-5653.

CORRALES, F. *et al.* Preventing intraperitoneal adhesions with vitamin E and sodium hyaluronate/carboxymethylcellulose: a comparative study in rats. **Acta Cirurgica Brasileira**, v. 23, p. 36-41, 2008.

COSTA-VAL, R. *et al.* [Hyperbaric oxygen therapy in rats submitted to hepatic veins ligation: mortality valuation and histological study of liver and spleen]. **Acta Cir Bras**, v. 21, n. 1, p. 52-7, 2006 Jan-Feb 2006. ISSN 0102-8650.

ELLIS, H. Intraabdominal and postoperative peritoneal adhesions. **J Am Coll Surg**, v. 200, n. 5, p. 641-4, May 2005. ISSN 1072-7515.

EZBERCI, F. *et al.* Intraperitoneal tenoxicam to prevent abdominal adhesion formation in a rat peritonitis model. **Surg Today**, v. 36, n. 4, p. 361-6, 2006. ISSN 0941-1291.

FERNANDES, T. D. Hyperbaric medicine. **Acta Med Port**, v. 22, n. 4, p. 323-34, 2009 Jul-Aug 2009. ISSN 1646-0758.

GOTTRUP, F. Oxygen in wound healing and infection. **World J Surg**, v. 28, n. 3, p. 312-5, Mar 2004. ISSN 0364-2313.

HELLEBREKERS, B.W.; KOOISTRA, T. Pathogenesis of postoperative adhesion formation. **Br J Surg**, v. 98, n. 11, p. 1503-16, Nov 2011. ISSN 1365-2168.

HOLTZ, G. Prevention and management of peritoneal adhesions. **Fertil Steril**, v. 41, n. 4, p. 497-507, Apr 1984. ISSN 0015-0282.

IRKORUCU, O. *et al.* Reduction of postsurgical adhesions in a rat model: a comparative study. **Clinics (Sao Paulo)**, v. 64, n. 2, p. 143-8, 2009. ISSN 1980-5322.

JOHNS, A. Evidence-based prevention of post-operative adhesions. **Hum Reprod Update**, v. 7, n. 6, p. 577-9, 2001 Nov-Dec 2001. ISSN 1355-4786.

KAMEL, R.M. Prevention of postoperative peritoneal adhesion. **Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol**, v. 150, p. 111-18, 2010. ISSN 0301-2115.

KECE, C. *et al.* Synergistic effects of hyperbaric oxygen and granulocyte colony stimulating factor on postoperative adhesion formation in a rat cecal abrasion model. **Bratisl Lek Listy**, v. 111, n. 3, p. 115-20, 2010. ISSN 0006-9248.

LAUDER, C.I. *et al.* Abdominal adhesion prevention: still a sticky subject? **Dig Surg**, v. 27, n. 5, p. 347-58, 2010. ISSN 1421-9883.

MATSUZAKI, S. *et al.* Effects of supplemental perioperative oxygen on post-operative abdominal wound adhesions in a mouse laparotomy model with controlled respiratory support. **Hum Reprod**, v. 22, n. 10, p. 2702-6, Oct 2007. ISSN 0268-1161.

MAZUJI, M.K.; KALAMBAHETI, K.; PAWAR, B. Prevention Of Adhesions With Polyvinylpyrrolidone. Preliminary Report. **Arch Surg**, v. 89, p. 1011-5, Dec 1964. ISSN 0004-0010.

MOLINAS, C.R. *et al.* Peritoneal mesothelial hypoxia during pneumoperitoneum is a cofactor in adhesion formation in a laparoscopic mouse model. **Fertil Steril**, v. 76, n. 3, p. 560-7, Sep 2001. ISSN 0015-0282.

MUNIREDDY, S.; KAVALUKAS, S.L.; BARBUL, A. Intra-abdominal healing: gastrointestinal tract and adhesions. **Surg Clin North Am**, v. 90, n. 6, p. 1227-36, Dec 2010. ISSN 1558-3171.

SANCHES, M.D.; RAUSCH, M.; ALMEIDA, S.R. Obstrução intestinal recorrente por aderências: o que fazer? *In*: LTDA., E.M.C. (ed.). **Obesidade e urgências gastroenterológicas**. Rio de Janeiro: MEDSI, v. 13, 2003, cap. 26, p. 335-354. (Tópicos em Gastroenterologia). ISBN 85-7199-358-x.

SCHNÜRIGER, B. *et al.* Prevention of postoperative peritoneal adhesions: a review of the literature. **Am J Surg**, v. 201, n. 1, p. 111-21, Jan 2011. ISSN 1879-1883.

SILVA, F.C. *et al.* Ketamina, da anestesia ao uso abusivo: artigo de revisão. **Revista de Neurociências**, v. 18, n. 2, p. 227-37, 2010.

SMANIOTTO, B. *et al.* Effect of streptokinase in the prevention of intra-abdominal adhesions in the rat. **Acta Cirurgica Brasileira**, v. 12, p. 240-245, 1997.

SOUZA FILHO, Z.A. *et al.* Abdominal wall healing in reoperated rats. **Acta Cir Bras**, v. 22, n. 2, p. 147-51, 2007 Mar-Apr 2007. ISSN 0102-8650.

TOWNSEND, C.M. *et al.* **Tratado de cirurgia**. 17. Rio de Janeiro, RJ: Elsevier Editora Ltda., 2005.

VERREET, P.R. *et al.* Preventing recurrent postoperative adhesions: an experimental study in rats. **Eur Surg Res**, v. 21, n. 5, p. 267-73, 1989. ISSN 0014-312X.

VIANA, A.E.T. *et al.* Comparative study between parietal peritoneum suture and nonsuture in midline laparotomies in rats. **Acta Cir Bras**, v. 23, n. 4, p. 348-51, 2008 Jul-Aug 2008. ISSN 1678-2674.

YAGCI, G. *et al.* Preoperative and postoperative administration of hyperbaric oxygen improves biochemical and mechanical parameters on ischemic and normal colonic anastomoses. **J Invest Surg**, v. 19, n. 4, p. 237-44, 2006, jul-aug, 2006. ISSN 0894-1939.

WHANG, S.H. *et al.* In search of the best peritoneal adhesion model: comparison of different techniques in a rat model. **J Surg Res**, v. 167, n. 2, p. 245-50, May 2011. ISSN 1095-8673.

## ANEXOS

### ANEXO A – Parecer ético CETEA



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

#### CERTIFICADO

Certificamos que o **Protocolo nº 169/2010**, relativo ao projeto intitulado "**Efeitos da Oxigenoterapia hiperbárica no fechamento de peritoneostomia em ratos**", que tem como responsável(is) **Tarcizo Afonso Nunes**, está(ão) de acordo com os Princípios Éticos da Experimentação Animal, adotados pelo **Comitê de Ética em Experimentação Animal (CETEA/UFMG)**, tendo sido aprovado na reunião de **6/ 10/2010**.

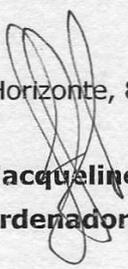
Este certificado expira-se em **6/ 10/ 2015**.

#### CERTIFICATE

We hereby certify that the **Protocol nº 169/2010**, related to the project entitled "**Hyperbaric oxygen effects in closing peritoneostomy in rats**", under the supervisors of **Tarcizo Afonso Nunes**, is in agreement with the Ethical Principles in Animal Experimentation, adopted by the **Ethics Committee in Animal Experimentation (CETEA/UFMG)**, and was approved in **October 6, 2010**.

This certificate expires in **October 6, 2015**.

Belo Horizonte, 8 de Outubro de 2010.

  
**Prof.ª Jacqueline Isaura Alvarez-Leite**  
**Coordenadora do CETEA/UFMG**

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

**ANEXO B – Parecer ético – CIR-UFMG**

|   |   |   |
|---|---|---|
|  | <p align="center"><b>FACULDADE DE MEDICINA DA UFMG</b><br/><b>DEPARTAMENTO DE CIRURGIA</b></p> <p align="center">Av. Prof. Alfredo Balena 190 - 2º andar<br/>Caixa postal 340 - cep 30130-100<br/>31-3409-9759 e 3409-9760(telefax)<br/>cirurgia@medicina.ufmg.br</p> |  |
|---|---|---|

Belo Horizonte, 10 de março de 2010.

**PARECER****Título do projeto de pesquisa**

Efeitos da oxigenoterapia hiperbárica no fechamento de peritoneostomia em ratos

**Pesquisadores**

Prof. Tarcizo Afonso Nunes (Departamento de Cirurgia da Faculdade de Medicina da UFMG); Roberto Carlos Oliveira e Silva, Simone Vargas Bento, Ricardo Dias Corrêa

**Histórico**

A realização deste estudo experimental permitirá a avaliação dos efeitos da oxigenoterapia hiperbárica na cicatrização da ferida operatória e nas aderências de laparostomias em ratos. Todos os animais serão submetidos à laparostomia e distribuídos, mediante sorteio, em três grupos de vinte animais: controle, oxigenoterapia hiperbárica diária por 90 minutos por 20 dias e oxigenoterapia hiperbárica diária por 90 minutos com oxigênio a 100% por 20 dias. Os animais serão mortos no 40º DPO e a laparostomia será avaliada quanto a cicatrização e quanto às aderências que serão classificadas e graduadas de acordo com a classificação de Mazuji (1964). A avaliação histológica da cicatriz e das aderências será sob os seguintes aspectos: inflamação, fibrose e proliferação vascular, conforme classificação de Oktay (2009).

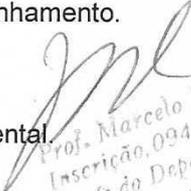
**Mérito**

O trabalho é interessante e relevante e segue linha de pesquisa do orientador. O protocolo para o CETEA está preenchido e pronto para o encaminhamento.

**Conclusão**

Sou favorável à aprovação deste projeto pela Câmara Departamental.

**Parecer aprovado pela Câmara Departamental em 10/03/2010**

  
Prof. Marcelo Eller Miranda  
Inscrição: 094587  
Chefe do Departamento de Cirurgia  
Faculdade de Medicina - UFMG

## ANEXO C – Princípios éticos da experimentação

CETEA - UFMG

### PRINCÍPIOS ÉTICOS PARA O USO DE ANIMAIS DE EXPERIMENTAÇÃO

O Comitê de Ética em Experimentação Animal (CETEA), que agora será também denominado CEUA (Comissão de Ética no USO de Animais), estabelece normas gerais para a utilização de animais para pesquisa e para procedimentos pedagógicos (aulas práticas, treinamentos etc.). 1- PARA PROCEDIMENTOS PEDAGÓGICOS as aulas práticas que utilizam animais para a demonstração ou treinamento de alunos regularmente matriculados em cada disciplina dos diferentes cursos de graduação e programas de pós-graduação deverão ser igualmente protocoladas. O encaminhamento do processo ao CETEA é feito pelo chefe do departamento acadêmico. A cada dois anos, o protocolo deverá ser submetido a uma nova avaliação ou sempre que, nesse período, ocorrerem alterações significativas no conteúdo prático.

Em documento anexo, os projetos de ensino deverão incluir as informações que fazem parte do programa da disciplina e que foram contempladas no formulário, sempre que aplicáveis, tais como:

- Programa da disciplina, incluindo o cronograma das práticas semestrais
- Objetivos de cada aula prática
- Justificativa para o uso de animais, quando não forem utilizados métodos substitutivos
- Número de alunos/aula, grupo de alunos x animal e tipo de participação (visualização, participação ativa, execução, etc)
- Origem, cuidados sanitários, manejo e alimentação etc.
- Descrição breve dos procedimentos, principalmente os invasivos, pré e pós-operatórios
- Protocolos pré-anestésicos e de anestesia utilizados durante a aula prática
- Destino dos animais não eutanasiados
- Método de eutanásia e destino dos animais
- Métodos substitutivos já em uso nas aulas práticas e que dispensam o uso de animais a exemplo de filmes e simulações em objetos modelados ou em computadores
- Outros dados que, a juízo do docente, são importantes para a avaliação do projeto de ensino ou de treinamento. Os cursos de treinamento destinados a docentes, discentes e aqueles abertos

aos inscritos em congressos, seminários e eventos científicos afins deverão ser igualmente protocolados, sempre que seja previsto o uso de animais. 2- PARA PROCEDIMENTOS DE PESQUISA 1. O uso de animais de experimentação deve estar de acordo com a legislação vigente (ver em "informações úteis").

2. A pesquisa envolvendo animais de experimentação deve ser aplicável à saúde humana ou animal, ao benefício geral da sociedade e ao avanço do conhecimento científico

3. As condições de vida dos animais devem ser seguras e confortáveis.

4. Acesso a cuidados veterinários deve estar disponível em todos os momentos de maneira que possam ser empregados sempre que for necessário.

5. Na medida do possível, procedimentos alternativos que substituam de forma parcial ou completa o uso de animais, tais como modelos matemáticos, simulações em computador e sistemas biológicos *in vitro*, devem ser utilizados.

6. Os animais devem ser cuidadosamente selecionados, de forma a utilizar a espécie e linhagem mais adequadas ao propósito do estudo.

7. Delineamentos experimentais apropriados devem ser elaborados com o objetivo de reduzir o número de animais utilizados nos protocolos.

8. Todas as etapas do estudo com animais de experimentação devem ser realizadas de maneira a minimizar o desconforto ou dor. Os pesquisadores devem assumir que procedimentos causadores de dor e desconforto em humanos podem induzir respostas semelhantes nos animais de experimentação.

9. Os procedimentos cirúrgicos devem ser realizados levando-se em conta as técnicas de anti-sepsia e assepsia e o uso correto de sedativos, anestésicos e analgésicos.

10. O uso de agentes paralisantes musculares deve ser evitado. Se necessário, devem ser usados somente em animais devidamente anestesiados.

11. Animais submetidos a dor ou desconforto crônicos, que não podem ser aliviados, devem ser sacrificados, utilizando-se procedimentos indolores ou que causem o menor sofrimento possível.

12. Procedimentos dolorosos ou eutanásia não devem ser realizados na presença de outros animais.

13. Os pesquisadores e todo o pessoal que maneja e utiliza animais devem ser qualificados e treinados regularmente para conduzir os procedimentos.

14. Protocolos envolvendo o uso de animais de experimentação devem ser avaliados pelo CETEA.

15. As exceções a qualquer um dos princípios deste Guia serão avaliadas pelo CETEA.

## **ANEXO D – Resolução do Conselho de Medicina sobre OHB**

### **Protocolo de uso de oxigenoterapia hiperbárica da Sociedade Brasileira de Medicina Hiperbárica**

#### **1. Premissas**

##### **1.1. A OHB é reservada para:**

- Recuperação de tecidos em sofrimento;
- condições clínicas em que seja o único tratamento;
- lesões graves e/ou complexas;
- falha de resposta aos tratamentos habituais;
- lesões com necessidade de desbridamento cirúrgico;
- piora rápida com risco de óbito;
- lesões em áreas nobres: face, mãos, pés, períneo, genitália, mamas;
- lesões refratárias; recidivas frequentes.

##### **1.2. A OHB não é indicada como tratamento para:**

- Lesões com resposta satisfatória ao tratamento habitual;
- Lesões que não respondem à OHB: sequelas neurológicas, necroses estabelecidas;
- Infecções que não respondem à OHB: pneumonia, infecção urinária.

## 2. Indicações de OHB conforme Resolução CFM 1.457/95 e classificação de gravidade da USP

|                            |                             | Início   | Indicação   | Situações  | Nº sessões                    |
|----------------------------|-----------------------------|--|---|--|-------------------------------|
| <b>EMERGÊNCIA</b>          | <b>Principal</b>            | Imediato   | 1. Doença descompressiva  | Todos os casos   | 2 a 5<br>(em 95% dos casos)   |
|                            |                             |  | 2. Embolia traumática pelo ar   |  |                               |
|                            |                             |  | 3. Embolia gasosa   |  |                               |
|                            |                             |  | 4. Envenenamento por CO ou inalação de fumaça   |  |                               |
|                            |                             |  | 5. Envenenamento por gás cianídrico / sulfídrico  |  |                               |
| <b>URGÊNCIA</b>            | <b>Tratamento adjuvante</b> | Imediato conforme condições clínicas/ outros procedimentos | 6. Gangrena gasosa  | Todos os casos   | 10 a 30<br>(em 95% dos casos) |
|                            |                             |  | 7. Síndrome de Fournier   | Classificação de gravidade da USP III ou IV  |                               |
|                            |                             |  | 8. Outras infecções necrotizantes de tecidos moles: celulites, fasciites, miosites (inclui infecção de sítio cirúrgico)               | Classificação de gravidade da USP II, III ou IV  |                               |
|                            |                             |  | 9. Isquemias agudas traumáticas: lesão por esmagamento, síndrome compartimental, reimplantação de extremidades amputadas, outras      | Classificação de gravidade da USP II, III ou IV  |                               |
|                            |                             |  | 10. Vasculites agudas de etiologia alérgica, medicamentosa ou por toxinas biológicas (aracnídeos, ofídios, insetos)                   | Em sepse, choque séptico ou insuficiências orgânicas   |                               |
|                            |                             |  | 11. Queimaduras térmicas e elétricas  | Acima de 30% de 2º e 3º graus ou queimaduras em áreas nobres (face, mamas, mãos, pés, períneo, genitália)  |                               |
| <b>ELETIVO</b>             | <b>Tratamento adjuvante</b> | Início planejado   | 12. Lesões refratárias: úlceras de pele, pés diabéticos, escaras de decúbito, úlceras por vasculite autoimune e deiscência de suturas | Após revascularização ou outros procedimentos cirúrgicos se indicados;<br>– osteomielite associada;<br>– perda de enxertos ou retalhos prévios;<br>– infecção com manifestações sistêmicas | 30 a 60<br>(em 95% dos casos) |
|                            |                             |  | 13. Lesões por radiação: radiodermite, osteoradionecrose e lesões actínicas de mucosa   | Todos os casos   |                               |
|                            |                             |  | 15. Osteomielites   | Após limpeza cirúrgica e/ou remoção de material de síntese   |                               |
| <b>SITUAÇÕES ESPECIAIS</b> | <b>Casos selecionados</b>   | Início imediato  | 14. Retalhos ou enxertos comprometidos ou de risco  | Evolução desfavorável nas primeiras 48 horas, e avaliação a cada 5 sessões   | 10 a 40<br>(em 95% dos casos) |
|                            |                             |  | 16. Anemia aguda nos casos de impossibilidade de transfusão sanguínea   | Associada a suporte respiratório e eritropoetina   |                               |

## Contraindicações ao uso da oxigenoterapia hiperbárica

### Absolutas:

- Uso de drogas – Doxorubicin, Dissulfiram, Cis-Platinum;
- Pneumotórax não tratado
- Gravidez

### Relativas:

- Infecções das vias aéreas superiores
- DPOC com retenção de CO<sub>2</sub>;
- Hipertermia
- História de pneumotórax espontâneo
- Cirurgia prévia em ouvido
- Esferocitose congênita
- Infecção viral - fase aguda

Obs: todas essas merecem avaliação antes da realização da oxigenoterapia hiperbárica.

O tratamento é realizado em sessões com duração de 90 a 120 minutos, com pressão variando de 2 a 3 ATA, sempre a critério do médico hiperbarista. As sessões poderão variar desde uma a três por dia e, dependendo da fase de tratamento, poderá ser empregado o uso de sessões em dias alternados.

**Questionamento 8** – não há descrição de especificidades para o tratamento de crianças e idosos, mas é imperioso o exame clínico apurado, pré-tratamento em todos os casos, além da solicitação de encaminhamento detalhado do médico assistente do paciente (clínico ou cirúrgico), para verificação de contraindicações que possam ser conjuntamente avaliadas em relação ao risco-benefício do tratamento.

Também julgo de suma importância levar ao conhecimento do órgão consulente a Classificação de Gravidade da Universidade de São Paulo (USP) para tratamento em OHB.

**Classificação de gravidade da Universidade de São Paulo**  
**Escala “USP” de gravidade**  
**Avaliação para tratamento com OHB\***

| ITENS                          | PONTOS    |                 |                   |
|--------------------------------|-----------|-----------------|-------------------|
|                                | 1 ponto   | 2 pontos        | 3 pontos          |
| Idade                          | < 25 anos | 26 a 50 anos    | > 51 anos         |
| Tabagismo                      |           | Leve / moderado | Intenso           |
| Diabetes                       |           | Sim             |                   |
| Hipertensão arterial sistêmica |           | Sim             |                   |
| Queimadura                     |           | < 30%           | > 30%             |
| Osteomielite                   |           | Sim             | c/exposição óssea |
| Toxemia                        |           | Moderada        | Intensa           |
| Choque                         |           | Estabilizado    | Instável          |
| Infecção / secreção            | Pouca     | Moderada        | Acentuada         |
| > Diâmetro DA > lesão          | < 5 cm    | 5 a 10 cm       | > 10 cm           |
| Crepitação subcutânea          | < 2 cm    | 2 a 6 cm        | > 6 cm            |
| Celulite                       | < 5 cm    | 5 a 10 cm       | > 10 cm           |
| Insuficiência arterial aguda   |           | Sim             |                   |
| Insuficiência arterial crônica |           |                 | Sim               |
| Lesão aguda                    |           | Sim             |                   |
| Lesão crônica                  |           |                 | Sim               |
| Alteração linfática            |           | Sim             |                   |
| Amputação / desbridamento      | Em risco  | Planejada       | Realizada         |
| Dreno de tórax                 |           | Sim             |                   |
| Ventilação mecânica            |           | Sim             |                   |
| Períneo / mama / face          |           |                 | Sim               |

Classificação em 4 grupos ( I a IV) pela somatória dos pontos:

G I: < 10 pontos    G II: 11 a 20 pontos    G III: 21 a 30 pontos    G IV: > 31 pontos

Mortalidade de acordo com os grupos:

G I = 1,2%    G II = 7%    G III = 30%    G IV = 66% (p < 0.001)\*

*(\*) The “University of São Paulo (USP) Severity Score” for hyperbaric oxygen patients. M. D’Agostino Dias, S.V. Trivellato, J.A. Monteiro, C.H.Esteves, L.M.Menegazzo, M.R.Sousa, L.A Bodon. Undersea & Hyperbaric Medicine V. 24 Supplement p.35. 1997.*

São as seguintes as referências bibliográficas que basearam a documentação da SBMH:

1. Kindwall EP, Whelan HT *Hyperbaric Medicine Practice* 3<sup>rd</sup> edition, 2008. Best Publishing Company USA, p. 1075.
2. Resolução nº 1.457/95 do Conselho Federal de Medicina, 1995. Brasília.
3. D'Agostino DM, Fontes B, Poggetti RS, Birolini D. Hyperbaric oxygen therapy: types of injury and number of sessions-a review of 1506 cases. *Undersea Hyperb Med.* 2008 Jan-Feb;35(1):53-60.
4. Relatório Periódico da UHMS. Bethesda USA, 2003. Tradução da SBMH, 453 p.

Este é o parecer, SMJ.

Brasília-DF, 10 de fevereiro de 2011

**Antonio Gonçalves Pinheiro**

Conselheiro relator