

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS**

**LUIZ HENRIQUE SILVA BORSATO**

**EFEITOS DO CAMPO ELETROMAGNÉTICO DINÂMICO E DO ADESIVO DE FIBRINA, USADOS SEPARADAMENTE OU EM ASSOCIAÇÃO, SOBRE A CICATRIZAÇÃO DE ANASTOMOSES COLÔNICAS DE RATOS.**

**Belo Horizonte - MG**

**2012**

**LUIZ HENRIQUE SILVA BORSATO**

**EFEITOS DO CAMPO ELETROMAGNÉTICO DINÂMICO E DO ADESIVO DE FIBRINA, USADOS SEPARADAMENTE OU EM ASSOCIAÇÃO, SOBRE A CICATRIZAÇÃO DE ANASTOMOSES COLÔNICAS DE RATOS.**

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

Área de concentração: Cicatrização

Linha de pesquisa: Fatores intervenientes na cicatrização tecidual.

Orientador: Professor Doutor Cláudio de Souza (UFMG)

**Universidade Federal de Minas Gerais**

**Belo Horizonte**

**2012**

Borsato, Luiz Henrique Silva.

B738e Efeitos do campo eletromagnético dinâmico e do adesivo de fibrina, usados separadamente ou em associação, sobre a cicatrização de anastomoses colônicas de ratos [manuscrito]. / Luiz Henrique Silva Borsato. - - Belo Horizonte: 2012.

73f.: il.

Orientador: Cláudio de Souza.

Área de concentração: Ciências Aplicadas à Cirurgia e à Oftalmologia.

Tese (doutorado): Universidade Federal de Minas Gerais, Faculdade de Medicina.

1. Adesivo Tecidual de Fibrina. 2. Cicatrização. 3. Intestinos. 4. Campos Eletromagnéticos. 5. Dissertações Acadêmicas. I. Souza, Cláudio de. II. Universidade Federal de Minas Gerais, Faculdade de Medicina. III. Título.

NLM: WH 310

**LUIZ HENRIQUE SILVA BORSATO**

**EFEITOS DO CAMPO ELETROMAGNÉTICO DINÂMICO E DO ADESIVO DE FIBRINA, USADOS SEPARADAMENTE OU EM ASSOCIAÇÃO, SOBRE A CICATRIZAÇÃO DE ANASTOMOSES COLÔNICAS DE RATOS.**

Tese de Doutorado apresentada e defendida perante Comissão Examinadora constituída pelos professores:

---

Prof. Dr. Cláudio de Souza (UFMG). Orientador

---

Prof. Dr. Tarcizo Afonso Nunes (UFMG)

---

Prof. Dr. João Baptista de Rezende Neto (UFMG)

---

Prof. Dr. Cícero de Lima Rena (UFJF)

---

Prof<sup>a</sup>. Dra. Maria Cristina Vasconcellos Furtado (UFJF)

Belo Horizonte, 2012

# **UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS**

**Reitor:** Prof.Dr. Clélio Campolina Diniz

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

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

**Pró-Reitor de Pesquisa:** Prof. Dr. Renato de Lima dos Santos

**Diretor da Faculdade de Medicina:** Prof. Dr. Francisco José Penna

**Vice-Diretor da Faculdade de Medicina:** Prof. Dr. Tarcizo Afonso Nunes

**Coordenador do Centro de Pós-Graduação:** Prof. Dr. Manoel Otávio da Costa  
Rocha

**Subcoordenadora do Centro de Pós-Graduação:** Prof<sup>a</sup>. Dra. Teresa Cristina de  
Abreu Ferrari

**Chefe do Departamento de Cirurgia:** Prof. Dr. Marcelo Eller Miranda

**Chefe do Departamento de Oftalmologia e Otorrinolaringologia:** Prof<sup>a</sup>. Dra. Ana  
Rosa Pimentel de Figueiredo

**Colegiado do Programa de Pós-Graduação em Ciências Aplicadas à Cirurgia e**

**à Oftalmologia:**

Prof. Dr. Marcelo Dias Sanches- **Coordenador**

Prof<sup>a</sup>. Dra. Ivana Duval de Araújo- **Subcoordenadora**

Prof. Dra. Tarcizo Afonso Nunes

Prof. Dr. Alcino Lázaro da Silva

Prof. Dr. Renato Santiago Gomes

Prof. Dr. Márcio Bittar Nehemy

Sumara Marques Barral – **Representante Discente titular**

Hevila Tamar Rolim Lima – **Representante Discente**

# AGRADECIMENTOS

Ao Professor Dr. Cláudio de Souza, exemplo de conduta como homem e médico , pelos ensinamentos. Mais uma vitória juntos...

Ao Professor Dr. Cícero de Lima Rena que acreditou no meu potencial e me abriu portas para que eu pudesse estar vivendo este momento.

À Professora Dra. Maria Cristina Vasconcellos Furtado, pelo apoio, amizade e confiança.

Ao Professor Dr. Marco Antônio Gonçalves Rodrigues, pela primorosa correção da tese.

Meus amigos e professores Fernando Mendonça Vidigal e José Otávio Guedes Junqueira, em quem me espelho como médicos e cirurgiões e que me deram a honra de sermos colegas de equipe.

Meu primo Vitor Silva Duarte, engenheiro eletricista, pela amizade e pelo fundamental apoio na construção da bobina geradora do campo eletromagnético.

Minha mãe, irmãos e familiares, a melhor família do mundo!

Diana, Bianca e Isabela, "as chefes" da turma!

Meu pai, que o tempo não consegue apagar a dor da saudade. Exemplo maior da minha vida. Que continue a olhar por nós e que um dia eu possa ser digno de estar ao seu lado.

**RESUMO**



A busca por fatores que auxiliem a cicatrização de anastomoses intestinais e que possam diminuir a ocorrência de deiscências, vazamentos, fístulas e peritonite, continua como objetivo de muitos estudos na literatura. Apesar dos avanços da medicina, essas complicações continuam frequentes com elevada mortalidade. O eletromagnetismo e o adesivo biológico de fibrina já foram empregados para auxiliar na cicatrização de tecidos. O presente trabalho tem como objetivo estudar os efeitos do campo eletromagnético dinâmico e do adesivo de fibrina, usados isoladamente ou em associação, sobre a cicatrização de anastomoses colônicas. Quarenta ratos Wistar, machos adultos, com peso entre 228g e 282g, foram distribuídos em quatro grupos com 10 animais cada. Nos animais do Grupo I (controle) não se empregou o campo eletromagnético, nem foi utilizado o adesivo de fibrina. Os animais do Grupo II (campo) foram expostos exclusivamente ao campo eletromagnético no pós-operatório (três ciclos de duas horas de duração, com intervalos de vinte e duas horas). Nos animais do Grupo III (cola), foi realizado apenas reforço da anastomose com adesivo de fibrina. No Grupo IV (campo + cola), os animais além de terem sido expostos ao campo eletromagnético no pós-operatório, eles haviam sido submetidos, no peroperatório, a reforço da anastomose com adesivo de fibrina. Todos os animais foram submetidos à transsecção do cólon a 3cm distalmente ao ceco, que se seguiu da confecção de anastomose término-terminal com pontos separados. A reoperação, em todos os grupos, ocorreu 72 horas após essa intervenção, sendo ressecado o segmento intestinal que continha a anastomose para estudo. Esse segmento foi submetido à medida de pressão de ruptura e exames histológicos para avaliação da cicatrização. A análise estatística dos dados mostrou que os valores de pressão de ruptura foram significativamente maiores nos animais dos Grupos II, III e IV em relação aos do Grupo I ( $p < 0,05$ ), mas sem diferença entre eles. A análise histológica de fragmentos da anastomose corados pela hematoxilina-eosina mostrou exacerbação do processo de cicatrização nos animais dos Grupos II e IV em relação aos Grupos I e III, mas sem diferença entre eles, ( $p < 0,05$ ). Também foi observado aumento da proporção de colágeno neoformado nos animais do Grupo II e IV em relação aos Grupos I e III, porém sem diferenças entre eles ( $p < 0,05$ ). Concluiu-se que a exposição ao campo eletromagnético isoladamente ou em associação ao uso do adesivo de fibrina sobre anastomoses de cólon em ratos aumenta a pressão de ruptura e a produção de colágeno e que com o uso isolado do adesivo de fibrina, observa-se aumento da pressão de ruptura da anastomose, mas, não se observa alterações histológicas significativas sobre a cicatrização da anastomose intestinal.

Descritores: eletromagnetismo, cicatrização intestinal, adesivo de fibrina

**ABSTRACT**

The search for factors that assist the healing of intestinal anastomoses and which may decrease the incidence of dehiscence, leakages, fistulas and peritonitis, continues to be the subject of many studies in the literature. Despite medical advances, these complications are still frequent with a high mortality rate. Electromagnetism and fibrin biological adhesive have been used to assist the healing of tissues. This search aims to study the effects of a dynamic electromagnetic field and fibrin glue, used separately or together, on the healing of colonic anastomoses. Forty Wistar rats, adult males weighing between 228g and 282g, were divided into four groups of 10 animals each. In Group I (control) neither an electromagnetic field nor fibrin glue was used. Animals in Group II (field) were exposed postoperatively to an electromagnetic field only (three cycles of two hours duration with intervals of twenty-two hours). In the animals in Group III (glue), the anastomosis was only reinforced with fibrin glue. In Group IV (field + glue), as well as being exposed postoperatively to an electromagnetic field, the animals had also had peroperative reinforcement of the anastomosis with fibrin glue. All animals were subjected to transection of the colon 3cm distal to the cecum, following end-to-end anastomosis with separate stitches. The reoperation in all groups occurred 72 hours after this intervention, and the intestinal segment which contained the anastomosis was resected for study. This segment was subjected to measurement of burst pressure and histological examinations to assess the healing. Statistical analysis of the data showed that the burst pressure values were significantly higher in animals in Groups II, III and IV compared to Group I ( $p < 0.05$ ), but with no difference among them. Histological analysis of fragments of the anastomosis stained with hematoxylin-eosin showed exacerbation of the healing process in animals in Groups II and IV compared to Groups I and III, but with no difference between them ( $p < 0.05$ ). There was also an increase in the proportion of newly formed collagen in Groups II and IV compared to Groups I and III, but without differences between them ( $p < 0.05$ ). It was concluded that exposure to an electromagnetic field alone or in association with the use of fibrin glue on colonic anastomoses in rats increases the burst pressure and the production of collagen, and with the isolated use of fibrin glue there is increased anastomotic burst pressure but no significant histological changes observed in the healing of intestinal anastomosis.

Key Words: electromagnetism, intestinal healing, fibrin glue

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

FIGURA 1	Bobina geradora do campo eletromagnético.....	18
FIGURA 2	Linhas de força do campo eletromagnético gerado por solenoide.....	18
FIGURA 3	Multímetro (M) ligado à bobina (B). S: sensor.....	19
FIGURA 4	Bobina (B) no interior da gaiola.....	20
FIGURA 5	Kit Tissucol®.....	21
FIGURA 6	Animal posicionado para intervenção cirúrgica. Tosquia realizada. Linha tracejada: marcação do local da celiotomia.....	24
FIGURA 7	Local da colotomia e anastomose (seta). C: ceco.....	25
FIGURA 8	Anastomose (seta).....	25
FIGURA 9	Aplicação do adesivo de fibrina sobre a linha de sutura...	26
FIGURA 10	Segmento intestinal contendo anastomose .....	27
FIGURA 11	Dispositivo para medida da pressão de ruptura. Compressor (C). Esfigmomanômetro digital (E). Cateter de Nelaton (N). Segmento intestinal (I).....	28
FIGURA 12	Dispositivo para medida da pressão de ruptura. Esfigmomanômetro digital (E). Cateter de Nelaton (N). Recipiente com água (R).....	28
FIGURA 13	Fotomicrografia de corte histológico da zona da anastomose mostrando depósito moderado de colágeno. À esquerda: Picrosirius (fibras de colágeno tipo I da submucosa são coradas de laranja) À direita: HE. SM: submucosa.	36

QUADRO 1	Fórmula para cálculo da intensidade do campo magnético.....	19
QUADRO 2	Distribuição dos animais em relação ao período de exposição ao campo eletromagnético e ao uso do adesivo de fibrina	22
QUADRO 3	Escala de Ehrlich e Hunt modificada.....	30
TABELA 1	Resultado das medidas de pressão de ruptura nos grupos em mmHg.....	33
TABELA 2	Comparação entre aumento das medidas de pressão de ruptura (mmHg) entre os grupos.....	34
TABELA 3	Varição do escore de pontos nos grupos do estudo.....	35
TABELA 4	Comparação entre o aumento do número de pontos do escore entre os grupos .....	35
TABELA 5	Variações entre as porcentagens do colágeno nos grupos do estudo.....	36
TABELA 6	Aumento entre as proporções de colágeno entre os grupos.....	37

## **LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS**

B: Densidade de Fluxo Magnético

CBR: Centro de Biologia da Reprodução

Hz: Hertz

HE: Hematoxilina- eosina

$\mu$ T : MicroTesla

mmHg : Milímetros de mercúrio

mT: mili Tesla]

nm: Nanômetros

PVC: Cloreto de polivinil

T: Tesla

UFJF: Universidade Federal de Juiz de Fora

UFMG: Universidade Federal de Minas Gerais

V: Volts

W: Watts

## ÍNDICE

1	INTRODUÇÃO.....	1
2	OBJETIVOS.....	4
3	REVISÃO DA LITERATURA.....	6
3.1	Princípios da cicatrização intestinal.....	7
3.2	Princípios do eletromagnetismo.....	9
3.3	Bioefeitos do eletromagnetismo.....	9
3.4	Adesivos de fibrina.....	11
3.5	Métodos de avaliação de anastomoses intestinais.....	13
3.5.1	Métodos físicos.....	13
3.5.2	Método histológico / Hematoxilina-eosina.....	14
3.5.3	Método histológico / Densitometria do colágeno.....	14
4	MATERIAIS E MÉTODO.....	16
4.1	Campo eletromagnético.....	17
4.2	Adesivo biológico.....	20
4.3	Manutenção e manejo dos animais.....	21
4.4	Grupos do experimento.....	22
4.5	Anestesia.....	23
4.6	Procedimento cirúrgico.....	24
4.7	Analgesia pós-operatória.....	26
4.8	Reoperação.....	26
4.9	Pressão de ruptura.....	27
4.10	Análise histológica / Hematoxilina-eosina.....	29
4.11	Análise histológica / Densitometria do colágeno.....	30

4.12	Análise estatística dos dados.....	31
5	RESULTADOS.....	32
5.1	Dados clínicos e perioperatórios .....	33
5.2	Pressão de ruptura.....	33
5.3	Análise histológica / Hematoxilina-eosina.....	34
5.4	Análise histológica / Densitometria do colágeno.....	36
6	DISCUSSÃO.....	38
6.1	Modelo experimental.....	39
6.2	Efeitos do campo eletromagnético sobre a cicatrização intestinal	41
6.3	Efeitos do adesivo de fibrina sobre a cicatrização intestinal....	44
6.4	Efeitos da associação entre campo eletromagnético e adesivo de fibrina sobre a cicatrização intestinal.....	46
6.5	Perspectivas futuras.....	47
7	CONCLUSÕES.....	48
8	REFERÊNCIAS.....	50
9	ANEXOS.....	60



# **INTRODUÇÃO**

A otimização da cicatrização de anastomoses colônicas continua sendo objetivo de muitos estudos da literatura médica, visando à prevenção de vazamentos, deiscência, fístula e da peritonite estercoral. Tais complicações são devastadoras para pacientes e cirurgiões. São relatadas taxas de deiscência de anastomoses colônicas de 1 a 30%, embora cirurgiões colorretais relatem valores entre 1 e 6%.<sup>1</sup> As taxas de mortalidade relacionadas à deiscência de anastomose do cólon variam entre 10 a 15%.<sup>2</sup>

São muitos os fatores de risco atribuídos à tais complicações. Eles podem ser divididos em fatores específicos do paciente, intra operatórios e específicos para anastomose retal baixa. Os fatores relacionados ao paciente incluem desnutrição, uso de esteroides, tabaco, álcool, leucocitose, doenças cardiovasculares e diverticulite. Fatores de risco intra operatórios incluem anastomoses baixas, suprimento sanguíneo inadequado na anastomose, tempo operatório maior que 2 horas, obstrução intestinal, transfusão de hemoderivados peroperatória e sepse. Os fatores relacionados à anastomose retal baixa incluem gênero masculino e obesidade.<sup>3,4,5</sup>

O período crítico da consolidação das anastomoses do cólon situa-se entre o terceiro e quinto dias de pós-operatório. Nesta fase ocorre diminuição acentuada do conteúdo de colágeno, causando baixa resistência da anastomose.<sup>6</sup> Estudos foram empreendidos no intuito de estabelecer os melhores tipos de fio de sutura, técnica de anastomose e o uso de agentes farmacológicos, todos almejando aprimorar o processo de cicatrização.<sup>7</sup>

Ainda há controvérsia quanto a medidas usadas para prevenção da deiscência de anastomoses de cólon. As ressecções laparoscópicas possuem taxas de complicações similares às das cirurgias laparotômicas.<sup>8,9</sup> São atribuídas taxas similares de fístulas entre anastomoses manuais e mecânicas.<sup>10,11</sup> Ostomia proximal protetora da anastomose não diminui a taxa de deiscência, mas a gravidade dessa complicação.<sup>12,13</sup> O preparo mecânico de cólon pré-operatório não diminui a incidência de fístulas assim como o reforço da anastomose com omento.<sup>14,15</sup> O uso de drenos não previne os vazamentos e ainda não há conclusões definitivas quanto ao uso de próteses colônicas intra luminais.<sup>16</sup> Não há estudo prospectivo e randomizado a respeito da eficácia dos testes para verificar a integridade da anastomose no peroperatório.<sup>17</sup>

A gravidade das complicações relacionadas às cirurgias do cólon motiva os pesquisadores a buscar fatores que possam interferir positivamente sobre sua cicatrização. A relação entre o eletromagnetismo e o processo de cicatrização tecidual vem sendo estudada com maior ênfase desde a década de 80 do século passado. Sua relação com a cicatrização de anastomoses de cólon foi demonstrada por meio de estudos experimentais, mas ainda são escassas as publicações na literatura sobre o tema.<sup>18,19,20</sup>

A utilização de adesivos teciduais com o objetivo de melhorar a cicatrização intestinal foi estudada com maior ênfase a partir da década de 60 do século passado. Estudos demonstraram os efeitos dessas substâncias na prevenção e tratamento de aderências peritoneais, fístulas pancreáticas, enterocutâneas e anais.<sup>21,22,23,24</sup> Não há consenso sobre o real mecanismo de atuação dos adesivos sobre o processo de cicatrização. Alguns advogaram seu benefício apenas como barreira física contra vazamentos na anastomose enquanto outros demonstraram efeitos bioquímicos benéficos com o seu uso.

Não foram encontrados na literatura estudos que associem campo eletromagnético e adesivo de fibrina como fatores adjuvantes no processo de cicatrização intestinal.

O presente estudo procura avaliar os efeitos do campo eletromagnético e do adesivo de fibrina sobre a cicatrização de anastomoses intestinais, através de parâmetros físicos e histológicos, quando usados separadamente ou em associação.

# **OBJETIVOS**

Estudar os efeitos sobre a cicatrização de anastomoses colônicas:

- Da aplicação do campo eletromagnético dinâmico, no pós-operatório.
- Do adesivo de fibrina, no peroperatório, usado como reforço da anastomose.
- Da associação entre campo eletromagnético dinâmico e adesivo de fibrina.

# **REVISÃO DA LITERATURA**

### 3.1 Princípios da cicatrização intestinal

A cicatrização é um mecanismo de reparo dos tecidos frente a uma lesão. Há pouco mais de um século, seu conhecimento era limitado e os cirurgiões frequentemente se deparavam com feridas cirúrgicas drenando secreções intestinais e com graves complicações relacionadas aos procedimentos cirúrgicos do sistema digestório. Com o avanço no conhecimento dos mecanismos da cicatrização e a implementação de medidas práticas, o índice de complicações cirúrgicas diminuiu de maneira significativa ao longo do século XX.<sup>25</sup>

O mecanismo da cicatrização dá-se por meio de complexa interação entre células e mediadores bioquímicos na busca do organismo pela restauração da integridade do tecido lesado. O processo de cicatrização pode ser dividido didaticamente em três fases principais, que se sobrepõem.<sup>26</sup>

A primeira fase ocorre em média entre o primeiro e o quarto dias após a lesão tecidual quando predominam a inflamação e o edema. Há um desequilíbrio na proporção de colágeno, com aumento da degradação do colágeno existente, tanto nas bordas da ferida quanto nas suas adjacências, e deposição ainda pequena do colágeno neoformado.<sup>27</sup> O final da primeira fase é o período de maior risco para a anastomose, quando é mais frequente a ocorrência de deiscência e fístula.<sup>28</sup>

Na segunda fase, que se estende do terceiro ao décimo quarto dias, predominam a fibroplasia e a neoformação vascular. A principal célula envolvida é o fibroblasto, responsável pela síntese da molécula básica da fibra colágena. O colágeno é uma glicoproteína presente no tecido conjuntivo, e constituída pelos aminoácidos glicina, prolina, hidroxiprolina, lisina e hidroxilisina. Mais de dezoito diferentes tipos de colágeno foram descritos, sendo que os tipos I e III predominam no processo de cicatrização intestinal. Nas fases iniciais, ocorre degradação do colágeno tipo I e maior síntese do colágeno tipo III. A degradação do colágeno inicia-se precocemente e é muito ativa durante o processo inflamatório. O colágeno confere elasticidade e força tênsil necessárias à boa cicatrização. Observa-se grande aumento na resistência da anastomose nesta fase.<sup>27</sup>

A terceira fase estende-se do 14º dia até aproximadamente seis meses. Ocorre o remodelamento da cicatriz e o equilíbrio entre a síntese e a deposição do colágeno.<sup>27</sup>

A cicatrização intestinal apresenta particularidades em relação à cicatrização cutânea devido às diferenças estruturais entre os tecidos e à capacidade de diferenciação dos fibroblastos intestinais, os miofibroblastos e as células de Cajal.<sup>29</sup> A velocidade de reparo intestinal parece estar relacionada com a vascularização de cada segmento. Assim, anastomoses do intestino grosso, por serem menos vascularizadas, seriam mais propensas a apresentarem fístulas do que as anastomoses do delgado. A ruptura do segmento ocorre habitualmente ao redor da linha de sutura, pela perda do colágeno na região circunvizinha.<sup>30,31</sup>

É fundamental o envolvimento da camada submucosa na linha de sutura, graças a sua elevada concentração de fibras colágenas. Durante o processo de cicatrização, os fibroblastos entram em mitose aumentando a produção de colágeno. A submucosa representa o principal elemento de contenção da sutura.<sup>32</sup>

A relação entre a cicatrização de anastomoses intestinais e a natureza dos materiais e técnicas empregados na sua confecção vem sendo estudada, visando à redução na ocorrência das complicações dessas anastomoses.

As anastomoses em plano único, além de serem mais anatômicas, apresentam revascularização mais precoce, são seguras, produzem menor estreitamento luminal, oferecendo melhores condições para a cicatrização. A sutura em dois planos apresenta fenômenos de reparação mais intensos e conduz à maior fibrose, apresenta maior resistência tênsil quando comparada à sutura em plano único, aumentando a incidência de estenoses.<sup>7</sup>

Halsted, em 1887, a partir de estudo experimental em cães, concluiu que a submucosa é a camada mais importante a ser incluída nos pontos de sutura. Ela é rica em colágeno, conferindo grande resistência à anastomose. Preconizou que as anastomoses deveriam ser confeccionadas em plano único extramucoso.<sup>33</sup>

Com relação ao afrontamento das bordas, os melhores resultados são obtidos quando se realiza a sutura manual com inversão destas. Isso impede que a mucosa fique na linha de sutura, o que aumentaria o índice de fístulas. A sutura com pontos separados é menos isquêmica que a sutura contínua, propiciando maior aporte de oxigênio e de nutrientes necessários à melhor cicatrização.<sup>7</sup>



### 3.2 Princípios do eletromagnetismo

O magnetismo é a propriedade de determinado material atrair ou repelir objetos. A primeira referência conhecida sobre a existência de substância capaz de atrair outras é a de Tales de Mileto. Segundo ele, os habitantes de Magnésia, região da Grécia, conheciam material com tal propriedade, mas esse fenômeno nunca despertou grande interesse até o século XIII, quando passou a ser empregado na confecção das bússolas.<sup>34</sup>

Alguns pesquisadores tentaram explicar o magnetismo durante essa época, mas só no século XIX, Oersted e Maxwell formularam as leis que descreviam esses fenômenos. Foi James Maxwell que descreveu a relação entre o magnetismo e a eletricidade. O movimento dos elétrons seria capaz de gerar um campo eletromagnético ao seu redor. O número e a maneira como os elétrons se organizam nos átomos constituintes dos diversos materiais é que explicariam o comportamento das substâncias quando elas estão sobre influência de um campo eletromagnético.<sup>34</sup>

Indução magnética ou densidade do fluxo magnético ( $\beta$ ) é o número de linhas de fluxo por unidade de área que permeiam o campo eletromagnético. Ela fornece a magnitude do campo. No Sistema Internacional de Unidades é expressa em Tesla (T).<sup>35</sup>

A Terra funciona como um imenso imã. O magnetismo terrestre é formado por ferro e níquel, em partes sólida e líquida. A combinação dos dois minerais com a rotação da Terra formam um campo magnético ao redor do planeta. O campo magnético ao redor da Terra é de aproximadamente  $10^{-5}T$  e o dos aparelhos de ressonância magnética entre 0,5 e 2 T. Nos estudos experimentais que avaliam os bioefeitos do magnetismo, as densidades dos campos magnéticos variam de 0,2 microTesla a 20 miliTesla.<sup>36</sup>

### 3.3 Bioefeitos do eletromagnetismo

O número de estudos científicos publicados sobre o uso terapêutico do eletromagnetismo é crescente.

Em 1982, Basset *et al.* demonstraram os efeitos do eletromagnetismo no tratamento de fraturas e de pseudo-artrose. O tempo de recuperação foi menor nos ratos expostos a campos eletromagnéticos, sendo maior a regeneração óssea.<sup>37</sup>

Ito e Basset, em 1983, comprovaram os efeitos positivos do eletromagnetismo na regeneração de nervos, seccionados cirurgicamente em ratos. Houve aumento do estímulo sensitivo nos animais expostos a um campo eletromagnético.<sup>38</sup>

Ottani *et al.*, em 1984, realizaram estudo experimental no qual ratos foram submetidos a hepatectomias parciais. Os animais expostos a pulsos eletromagnéticos no pós-operatório apresentaram maior regeneração hepática que os demais.<sup>39</sup>

Hendriks e Mastboom, em 1990, encontraram aumento significativo no número de mitoses de fibroblastos expostos a um campo eletromagnético em meio de cultura.<sup>6</sup>

Em 1993, Dindar *et al.* realizaram estudo experimental com 80 ratos. Um grupo de animais recebeu, durante duas semanas de pré-operatório, doses de dexametasona (0,1mg/Kg/dia). Os animais foram submetidos à ressecção intestinal com anastomose primária. Houve aumento na força tênsil da anastomose e na concentração de hidroxiprolina nos animais expostos a campo eletromagnético no pós-operatório, inclusive naqueles que receberam corticóide.<sup>40</sup>

Em 1996, Mentis *et al.* comprovaram a influência de campo eletromagnético na cicatrização de anastomoses de cólon. Em estudo experimental, expuseram ratos submetidos a anastomoses de cólon a campos eletromagnéticos de 1 mT e 2 mT no pós-operatório com ciclos de 18 horas de exposição e intervalos de seis horas entre os ciclos. Setenta e duas horas após o procedimento cirúrgico realizaram teste de pressão de ruptura e dosagem de hidroxiprolina nos segmentos intestinais anastomosados. Os resultados demonstraram aumento de resistência na anastomose e na concentração de hidroxiprolina nos segmentos intestinais de animais expostos ao campo eletromagnético.<sup>18</sup>

Nayci *et al.*, em 2001, concluíram que o eletromagnetismo interferiu positivamente na cicatrização de anastomoses do íleo e do cólon. Os autores expuseram ratos operados a um campo magnético de 10,78 mT com ciclos de duas horas, com intervalo de 18 horas entre estes. Após sete dias, observaram que durante a aplicação de uma força de tensão sobre segmentos intestinais

anastomosados, aqueles que foram submetidos ao campo eletromagnético apresentavam pontos de ruptura localizados fora da linha de sutura. Nos segmentos não submetidos ao campo, o local de ruptura aconteceu mais frequentemente na linha de sutura. Os autores observaram aumento na concentração de hidroxiprolina nos segmentos de intestino dos animais que foram expostos ao campo magnético.<sup>19</sup>

Em outro estudo realizado em 2003, Nayci *et al.* expuseram animais a campo eletromagnético com as mesmas características do estudo anterior. Os animais operados (secção e anastomose de cólon) receberam doses de 5-Fluouracil de 20mg/Kg/dia por cinco dias no pós-operatório. Aqueles expostos ao campo eletromagnético tiveram aumento significativo na dosagem de hidroxiprolina na anastomose.<sup>20</sup>

Tepper *et al.*, em 2004, estudaram os efeitos de um campo eletromagnético sobre a angiogênese. Submeteram cultura de células de veia umbilical humana a um campo eletromagnético. Houve aumento na concentração de fatores de crescimento angiogênicos (Fator Beta 2 de crescimento de fibroblastos, Angioproteína 2 e Fator de crescimento de epiderme).<sup>41</sup>

Ahmandian *et al.*, em 2006, aplicaram campos eletromagnéticos de 1 e 4 mT, duas horas e meia por dia, em ratos que sofreram uma incisão cirúrgica de pele na região dorsal. Após sete dias, em todos os animais submetidos ao campo, os autores observaram aumento significativo de hidroxiprolina adjacente à linha de sutura em relação ao grupo controle.<sup>42</sup>

Em 2009, Borsato demonstrou a eficácia de um campo eletromagnético sobre a cicatrização de anastomoses de cólon por meio de parâmetros físicos e histológicos. O autor não encontrou efeitos sobre a cicatrização quando o campo eletromagnético era aplicado no pré-operatório.<sup>43</sup>

### **3.4 Adesivos de fibrina**

Adesivos biológicos à base de fibrina são uma combinação de cálcio, trombina, fibrinogênio (70-110 mg/mL), fator XIII (10 a 50 UI), e um antifibrinolítico, como a aprotinina (inibidor de protease) ou o ácido tranexâmico. Têm sido considerados os adesivos fisiológicos ideais.<sup>44</sup>

Embora inicialmente utilizados com intenção hemostática, posteriormente coágulos de fibrina foram utilizados para promover aderência entre estruturas. Suas propriedades hemostática, oclusiva, adesiva, promotora da cicatrização (estímulo ao crescimento dos fibroblastos) e antisséptica conferem-lhe uma gama de aplicações clínicas.<sup>44,45</sup>

O uso isolado de adesivos de fibrina em anastomoses tem ocorrido apenas em modelos experimentais.<sup>44,46</sup> De outra forma sua utilização em humanos tem se restringido ao reforço das suturas do trato gastrointestinal e aplicação em áreas cruentas.<sup>44,47</sup> Sua aplicação propicia cicatrização mais rápida, com menor incidência de vazamentos, inclusive considerando anastomoses esofágicas, esofagojejunais e colônicas.<sup>48</sup> Sua utilização concomitante aos grampeadores mecânicos trouxe benefícios no que diz respeito à prevenção de vazamentos e velocidade de cicatrização.<sup>49</sup>

Hjortrup *et al.*, em 1989, estudaram em cães, a combinação da sutura convencional com pontos separados, extra mucosos, e o adesivo de fibrina aplicado na mucosa em anastomose retal e avaliaram a resistência tênsil. Concluíram que o adesivo agiu positivamente sobre a cicatrização.<sup>50</sup>

Saclarides *et al.*, em 1992, pesquisaram, em ratos, a utilização da cola de fibrina na linha de sutura nas êntero-anastomoses realizadas com fio e tratadas com radioterapia. O adesivo de fibrina melhorou o processo de cicatrização, pela avaliação da concentração de hidroxiprolina e da força de ruptura.<sup>51</sup>

Shinohara *et al.*, em 1998, estudaram o efeito da cola de fibrina na cicatrização de anastomoses intestinais, em ratos. Avaliaram a força de ruptura e formação de aderência. Os resultados permitiram concluir que o adesivo biológico de fibrina não evita aderência, mas contribui para acelerar o processo de cicatrização.<sup>52</sup>

Zilling *et al.*, em 1999, pesquisaram em suínos, o efeito do adesivo biológico de fibrina nas anastomoses intestinais realizadas com fio de sutura e grampos. Avaliaram os aspectos macro e microscópicos do processo de reparação tecidual. Concluíram que o adesivo biológico de fibrina atua positivamente na cicatrização intestinal como reforço tanto nas anastomoses manuais quanto nas mecânicas.<sup>53</sup>

Estudos têm evidenciado que anastomoses intestinais reforçadas com adesivos de fibrina mostram melhor cicatrização, seja no que diz respeito aos aspectos micro e macroscópicos, seja na maior resistência a pressão de ruptura.<sup>44</sup>

AKGUN *et al.*, em 2006, encontraram valores mais altos de pressão de ruptura nas anastomoses de ratos confeccionadas com adesivo de fibrina em relação ao grupo controle do estudo.<sup>54</sup>

O adesivo de fibrina foi utilizado como reforço de anastomoses arteriais de suínos. Houve menor necessidade de pontos de reforço na linha de sutura, nos animais que receberam o adesivo, em relação ao grupo controle.<sup>55</sup>

### **3.5 Métodos de avaliação de anastomoses intestinais**

#### **3.5.1 Métodos físicos**

As anastomoses intestinais sofrem influências de forças mecânicas que atuam no sentido longitudinal da alça intestinal (força de tração) e no interior do lúmen intestinal (força de pressão).<sup>56</sup>

O método de avaliação por meio da pressão de ruptura foi descrito inicialmente por Chulmsky, em 1899, e vem sendo utilizado com frequência nos estudos sobre anastomoses intestinais. O local da anastomose fica no centro do segmento a ser estudado. Uma extremidade é fechada e a outra é conectada a sistema de insuflação de ar no interior do segmento. Ocorre insuflação de ar até que haja ruptura da anastomose, sendo determinada a pressão máxima necessária para induzir a ruptura.<sup>33</sup>

Existe controvérsia na literatura quanto ao método mais fidedigno para avaliar as forças que atuam sobre o intestino. Segundo Koruda e Rolandelli, em 1990, a pressão de ruptura é o método físico que melhor avalia a cicatrização de uma víscera oca. Os autores ressaltaram que existem fatores que podem influenciar nos resultados das medidas de pressão e tração de ruptura das anastomoses, como a remoção ou não dos fios de sutura e o estudo da anastomose *in situ* ou após sua remoção da cavidade abdominal. Para esses autores, a maioria dos pesquisadores não removeu os fios de sutura, e realizou a medida de pressão após a retirada do segmento da cavidade abdominal.<sup>32</sup>

Heibel *et al.*, em 2006, também consideraram a pressão de ruptura o melhor método para avaliar a resistência de anastomoses de vísceras ocas.<sup>5</sup>

### 3.5.2 Método histológico – Hematoxilina-eosina

O estudo histológico por meio da coloração hematoxilina-eosina é amplamente usado para avaliação de cicatrização de anastomoses intestinais. O método traz informações importantes para o estudo da cicatrização e pode fornecer dados passíveis de quantificação. Biondo-Simões *et al.*, em 2000, modificaram a escala de Ehrlich & Hunt, onde são atribuídos pontos para avaliação histológica.<sup>58</sup>

Greca *et al.*, em 2000, utilizaram o escore na avaliação da cicatrização de anastomoses intestinais de cães num estudo onde avaliaram a relação entre o fluxo sanguíneo intestinal e a cicatrização.<sup>59</sup>

Greca *et al.*, em 2000, utilizaram o mesmo escore adaptado na avaliação histopatológica da cicatrização de anastomoses de cólon esquerdo de ratos na vigência de doença inflamatória induzida.<sup>60</sup>

Biondo-Simões *et al.*, em 2000, utilizaram a referida escala na avaliação da influência do transcorrido entre a lesão do cólon e a sua síntese no processo de cicatrização.<sup>61</sup>

### 3.5.3 Método histológico - Densitometria do colágeno

Trata-se de método histológico usado especificamente para avaliar e diferenciar os tipos de colágeno. Por meio de corante específico e com o auxílio de luz polarizada, diferenciam-se os tipos de colágeno maduro e imaturo e estabelece-se relação entre eles.<sup>62</sup>

Biondo-Simões *et al.*, em 2000, utilizaram este método em dois estudos experimentais. No primeiro, avaliaram os efeitos da peritonite na síntese de colágeno em anastomoses intestinais de ratos. As porcentagens de colágeno Tipo I e III foram semelhantes quando dosadas no terceiro dia pós-operatório nos grupo controle e no grupo com peritonite induzida. Posteriormente estudaram a influência do tempo transcorrido entre uma lesão de cólon induzida cirurgicamente em ratos e sua respectiva síntese no processo de cicatrização da anastomose. As porcentagens de colágeno imaturo foram proporcionalmente menores nos grupos onde o tempo entre

lesão e a síntese foi maior, indicando que a síntese realizada após 12 horas da lesão retarda a maturação do colágeno.<sup>58,61</sup>

Greca *et al.*, em 2000, utilizaram o método na avaliação da cicatrização de anastomoses de cólon esquerdo de ratos na vigência de doença inflamatória induzida.<sup>60</sup>

Ferreira, em 2004, utilizou o método na avaliação da influência da radioterapia na cicatrização de anastomoses de cólon de ratos. O índice de maturação do colágeno foi menor nos grupos expostos à radioterapia tanto no pré quanto no pós-operatório em relação ao grupo controle (sem radioterapia).<sup>33</sup>

# **MATERIAIS E MÉTODO**



Foram utilizados 40 ratos (*Mammalia Rodentia, Muridae, Rattus norvegicus albinus*), machos, adultos, da linhagem Wistar, provenientes do biotério do Centro de Biologia da Reprodução (CBR), da Universidade Federal de Juiz de Fora (UFJF), onde foram realizados os experimentos. Os animais tinham entre 2,5 e 3 meses de idade e peso entre 228 e 282g O projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa e Experimentação Animal da UFJF. (Anexo 1).

#### 4.1 Campo eletromagnético

A bobina geradora do campo eletromagnético foi desenvolvida com o apoio de engenheiros eletricitistas da Faculdade de Engenharia da UFJF. Uma bobina foi construída enrolando-se um fio de cobre revestido por verniz com 0,57mm de diâmetro no formato de cilindro homogêneo ao redor de um tubo de PVC de 39,5cm de comprimento e 15,5cm de diâmetro, totalizando 4140 espiras (voltas ao redor do tubo) distribuídas em seis camadas de 690 espiras (FIG. 1).

O campo eletromagnético foi gerado por corrente elétrica que atravessava a bobina. As linhas de força do campo estão exemplificadas na FIG. 2.

A fonte geradora da corrente elétrica utilizada foi a rede de energia elétrica convencional, sendo a bobina ligada diretamente na tomada. A tensão da fonte foi de 128V e a frequência da corrente, 60Hz (dados da empresa fornecedora). Utilizando um multímetro, verificou-se que o valor da corrente através da bobina foi 0,78 *Ampéres*, a resistência, 165 *Ohms* e a corrente possuía uma potência de 100 *Watts*. O campo eletromagnético induz a uma corrente elétrica captada por um sensor localizado na extremidade de um fio de cobre conectado ao multímetro (FIG. 3).



FIGURA 1- Bobina geradora do campo eletromagnético

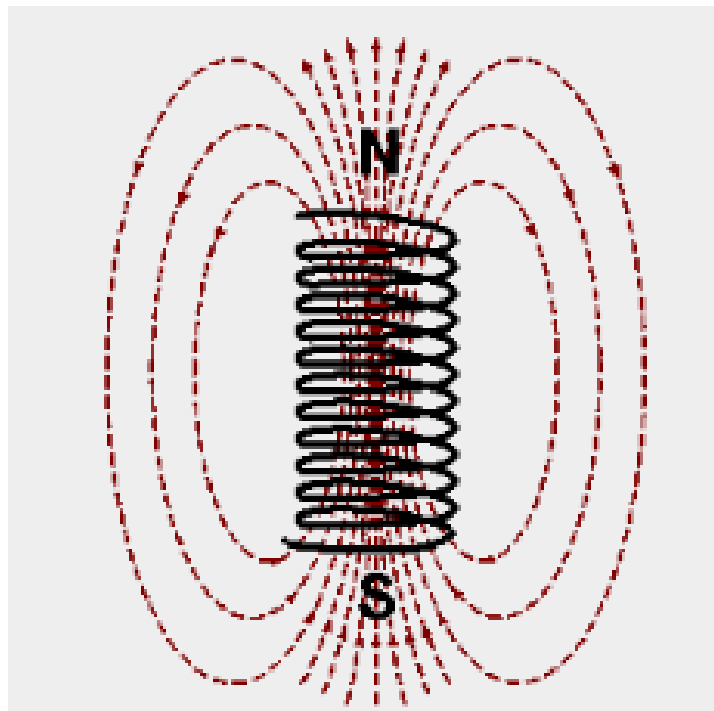


FIGURA 2- Linhas de força do campo eletromagnético gerado por solenoide.

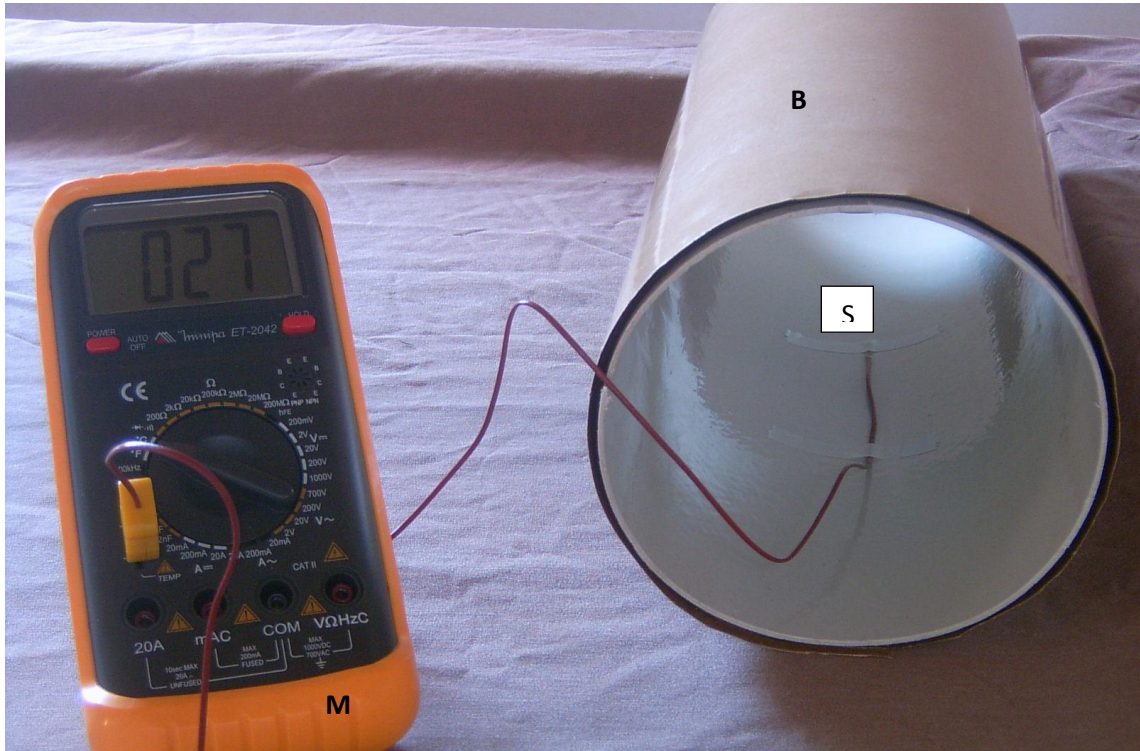


FIGURA 3 – Multímetro (M) ligado à bobina (B). S: sensor

A intensidade do campo eletromagnético foi de 10,04 mili Tesla, conforme calculado pela equação mostrada no QUADRO 1.

#### QUADRO 1

Fórmula para cálculo da intensidade do campo magnético

Intensidade:  $\frac{\mu_0 \times N \times I}{L}$

$\frac{\mu_0 \times N \times I}{L}$

$\mu_0$ : Permeabilidade magnética no vácuo ( $1,26 \times 10^{-6}$  H/m) Henry/metro

N: número de espiras

I: corrente (Amperes)

L: comprimento (metro)

Foi construída gaiola de madeira de modo que a bobina ficasse em seu interior (FIG. 4). Os animais foram expostos ao campo eletromagnético colocando-os no interior da bobina com o circuito elétrico ligado.



FIGURA 4 – Bobina (B) no interior da gaiola.

#### 4.2 Adesivo biológico

O adesivo biológico utilizado no presente estudo foi Kit de Tissucol<sup>®</sup> – fibrinogenio, aprotinina e trombina e um concentrado liofilizado de proteínas humanas para fins adesivos, Baxter<sup>®</sup>. Cada um dos componentes é apresentado separadamente em frascos, totalizando quatro frascos. Concentrado proteico, aprotinina, trombina seca e cloridrato de cálcio (FIG 5). Ao se unirem em seringa própria para aplicação, em 10 a 20 segundos inicia-se a coagulação e dependendo da concentração de trombina, em cinco a 20 minutos atinge-se o efeito adesivo máximo. Depois de preparado o tempo máximo de aproveitamento é de quatro horas.



FIGURA 5 - Kit Tissucol®

### 4.3 Manutenção e manejo dos animais

Os ratos foram alojados, em grupos de cinco, em gaiolas de polipropileno com mamadeira para água e cocho para ração. As gaiolas foram dispostas em armários climatizados, com controle de temperatura e umidade e circulação de ar programada.

As instalações contavam com janelas teladas e lacradas e sistema de iluminação mista (luz natural e lâmpadas incandescentes). As lâmpadas incandescentes eram acesas às seis horas e apagadas às 18 horas, o que proporcionava fotoperíodos de 12 horas de luminosidade e de escuridão.

A água era oferecida *ad libitum* e a ração na proporção média de 10g de ração / 100g de peso corporal por dia, para cada animal. Não houve restrição de água e ração durante o período de pós-operatório. No pré-operatório, os animais foram submetidos a período de jejum de oito horas. Não houve nenhum tipo de preparo de cólon e não foi utilizado antibiótico profilático.

#### 4.4 Grupos do experimento

Os animais foram distribuídos aleatoriamente em quatro grupos com dez animais cada. (QUADRO 2).

QUADRO 2

Distribuição dos animais em relação ao período de exposição ao campo eletromagnético e ao uso do adesivo de fibrina.

<b>Grupo</b>	<b>Intensidade de campo</b>	<b>Adesivo de fibrina</b>	<b>Número de animais</b>
I	não	Não	10
II	10,04 mT	Não	10
III	não	Sim	10
IV	10,04 mT	Sim	10

Grupo I: animais que não foram expostos ao campo eletromagnético nem foi empregado Adesivo de fibrina (controle)

Grupo II: animais expostos exclusivamente ao campo eletromagnético

Grupo III: animais submetidos apenas ao emprego do adesivo

Grupo IV: animais expostos ao campo eletromagnético e submetidos ao emprego do adesivo de fibrina

mT: mili Tesla

#### Grupo I

O Grupo I (controle) constituiu-se por animais que não foram expostos ao campo eletromagnético e não foi utilizado adesivo de fibrina para reforço da anastomose. Foram identificados individualmente de A1 a A10. Foram submetidos ao procedimento cirúrgico descrito e reoperados cerca de 72 horas após.

## **Grupo II**

O Grupo II (campo) foi constituído por animais expostos exclusivamente ao campo eletromagnético no período pós-operatório. Os animais receberam três ciclos de exposição, de duas horas de duração, começando no pós-operatório imediato, com 22 horas de intervalo entre eles. Foram reoperados 72 horas após a intervenção. Os animais foram identificados individualmente de B1 a B10.

## **Grupo III**

O Grupo III (cola) foi constituído por animais submetidos apenas ao adesivo de fibrina como reforço peroperatório da anastomose. Os animais foram reoperados 72 horas após. Foram identificados de C1 a C10.

## **Grupo IV**

O grupo IV (campo + cola) foi constituído por animais expostos ao campo eletromagnético no pós-operatório e submetidos a reforço da anastomose com adesivo de fibrina. Os animais receberam três ciclos de exposição, de duas horas de duração, começando no pós-operatório imediato, com 22 horas de intervalo entre eles. Foram reoperados 72 horas após a intervenção. Os animais foram identificados individualmente de D1 a D10.

## **4.5 Anestesia**

Os animais foram anestesiados, após contenção manual, com injeção intraperitoneal da associação de Cloridrato de Ketamina 10%, na dose de 90mg/Kg de peso (Ketamina Agener<sup>®</sup> 10%; Agener União, Embu-Guaçu, S.P.), e Cloridrato de Xilazina 2%, na dose de 15mg/kg (Calmiun<sup>®</sup>; Agener União, Embu-Guaçu, S.P.). O tempo médio entre a anestesia e o início do procedimento cirúrgico foi de aproximadamente três minutos, quando não mais havia sensibilidade dolorosa ao manusear a pata do animal.

#### 4.6 Procedimento cirúrgico

Os animais foram submetidos a tosquia abdominal com aparelho elétrico, colocados na mesa cirúrgica em decúbito dorsal e feita antissepsia da região abdominal com polivinilpirrolidona-iodo a 1% (FIG. 6). Em seguida, procedeu-se a celiotomia mediana com 3cm de extensão.

Após identificação do ceco, foi realizada secção transversal completa do cólon a 3 cm distais ao mesmo (FIG. 7).

A seguir foi realizada anastomose término-terminal, com pontos separados, sutura invertente, com fio inabsorvível de polipropileno 5-0 (Prolene<sup>®</sup> 5-0, Ethicon, São José dos Campos, São Paulo) (FIG. 8). O fechamento da aponeurose foi realizado com sutura contínua com mononylon 3-0 (Mononylon<sup>®</sup> 3-0, Ethicon, São José dos Campos, São Paulo) e a pele foi fechada com sutura contínua com mononylon 3-0.

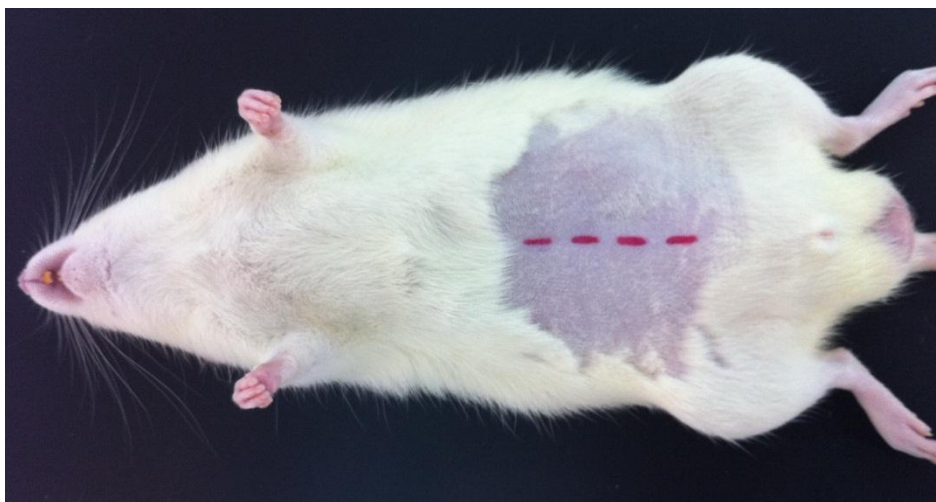


FIGURA 6 – Animal posicionado para intervenção cirúrgica. Tosquia realizada. Linha tracejada: marcação do local da celiotomia.



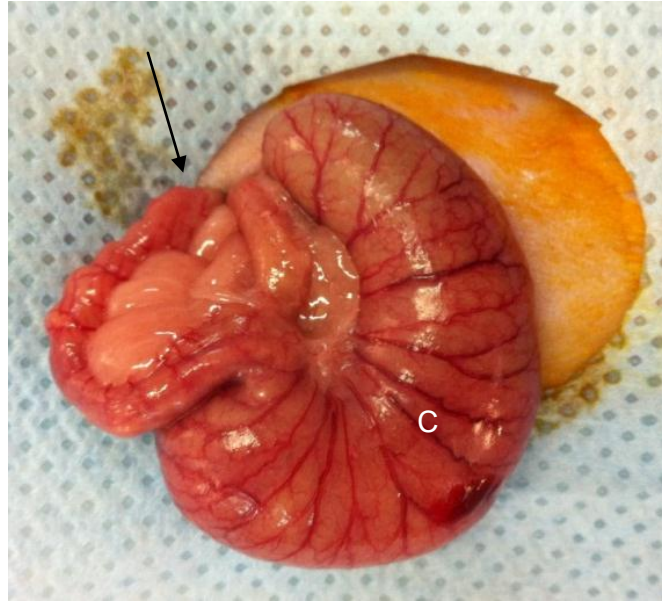


FIGURA 7 - Local da colotomia e para a realização da anastomose (seta) C: ceco.

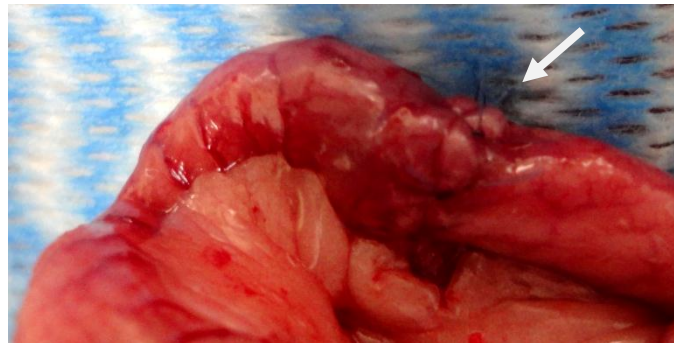


FIGURA 8 - Anastomose (seta)

Os animais dos grupos III e IV tiveram suas anastomoses reforçadas com o uso da cola biológica. Após a realização da sutura, o intestino foi tracionado com um ponto de reparo sobre a linha de sutura. A seguir foi aplicada a cola biológica diretamente sobre a linha de sutura em toda a sua extensão. Após um período de 20 minutos, o ponto de reparo foi seccionado e o segmento intestinal foi reposicionado na cavidade peritoneal para posterior síntese da parede abdominal (FIG. 9).

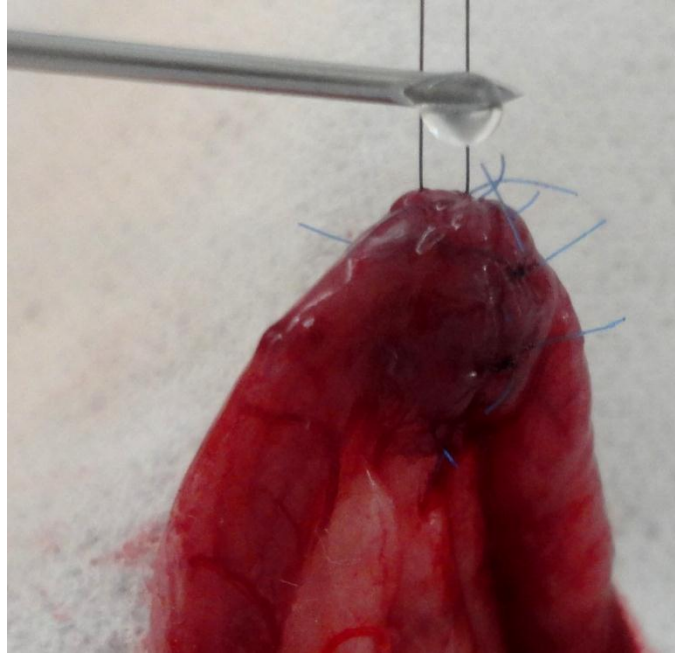


FIGURA 9 – Aplicação do adesivo de fibrina sobre a linha de sutura

#### **4.7 Analgesia pós-operatória**

O analgésico, Dipirona sódica gotas, na dose de 20mg/Kg de peso, foi dissolvido em água e oferecido de forma contínua, conforme protocolo do biotério.

#### **4.8 Reoperação**

Setenta e duas horas após a intervenção cirúrgica, todos os animais foram anestesiados com a mesma técnica anterior e submetidos à nova celiotomia. Os segmentos intestinais anastomosados foram identificados, as aderências foram delicadamente desfeitas e os segmentos intestinais foram ressecados com margem de 2cm de distância proximais e distais da anastomose (FIG 10).



FIGURA 10 - Segmento intestinal contendo anastomose

A eutanásia consistiu em aspirar cerca de 4ml de sangue da veia cava dos animais, o que levava a parada cardiorrespiratória.

Os segmentos intestinais ressecados, contendo a linha de sutura, foram submetidos à análise física por meio da medida da pressão de ruptura e análise histológica para avaliação da cicatrização.

#### 4.9 Pressão de ruptura

Os segmentos intestinais ressecados foram cateterizados com cateter de Nelaton, número 6. Foi injetada solução fisiológica a 0,9% para remoção de restos de fezes no interior do lúmen intestinal. A seguir foi fechada a outra extremidade da alça com fio de seda 3-0 (Seda<sup>®</sup> 3-0, Ethicon, São José dos Campos, São Paulo). Um tubo de borracha com duas saídas independentes foi conectado ao cateter. Uma das saídas foi conectada a compressor de ar, que insuflou o segmento do intestino, e a outra conectada a medidor digital de pressão (FIG. 11).

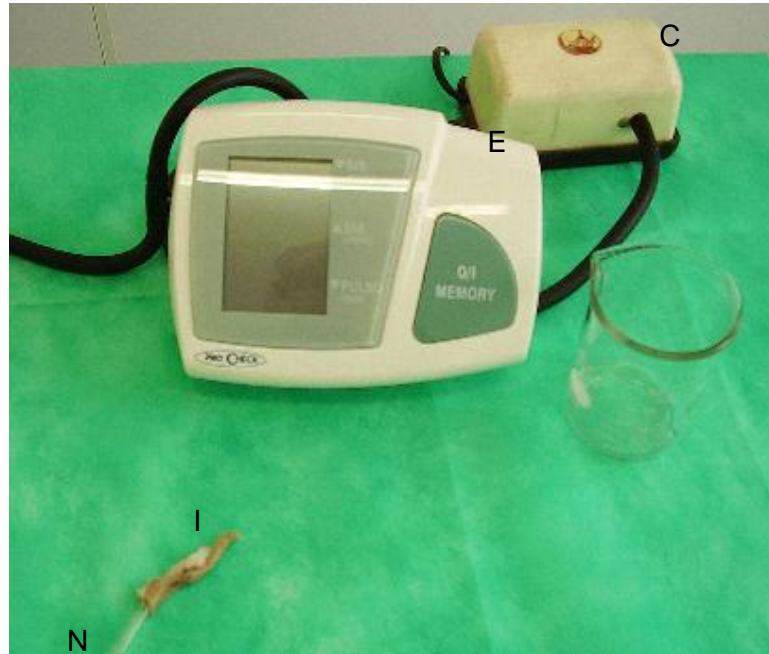


FIGURA 11 - Dispositivo para medida da pressão de ruptura.  
Compressor (C). Esfigmomanômetro digital (E).  
Cateter de Nelaton (N). Segmento intestinal (I).

Os segmentos intestinais eram imersos em recipiente contendo água, de modo que ficassem completamente submersos (FIG 12). Foram submetidos à insuflação contínua com ar até sua ruptura, observada quando aparecessem bolhas de ar no líquido do recipiente. À medida que os segmentos intestinais eram insuflados, o medidor de pressão registrava os valores de pressão intraluminal. Após a ruptura intestinal foi verificada a pressão máxima, registrada no aparelho, capaz de provocar a ruptura do intestino.

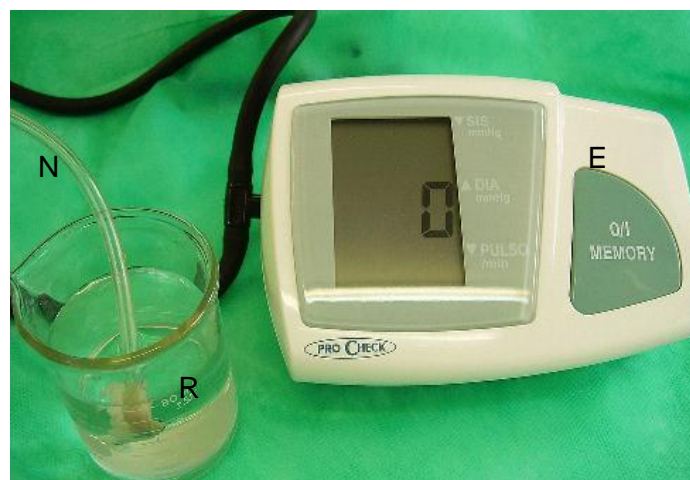


FIGURA 12 - Dispositivo para medida da pressão de ruptura  
Esfigmomanômetro digital (E).  
Cateter de Nelaton (N). Recipiente com água (R).

#### 4.10 Análise histológica / Hematoxilina-eosina

Terminada a análise da pressão de ruptura, os segmentos intestinais foram abertos em suas faces anti-mesentéricas, lavados com solução salina a 0,9% e fixados em solução de formalina a 10%.

Em seguida foram fixados em bloco de parafina, cortados em micrótomo, de modo que a linha de sutura fosse envolvida nos cortes, divididos em duas metades iguais (cada metade da anastomose foi submetida a uma análise histológica com coloração diferente) e metade da anastomose corada pela coloração hematoxilina-eosina. A análise foi feita em microscópio óptico convencional NIKON E 400. Foi realizada análise preliminar panorâmica com aumento de 100 vezes (objetiva 10 X e ocular 10 X) para seleção do campo a ser analisado com o maior aumento. A análise definitiva do processo de cicatrização e seus constituintes foi realizada com aumento de 400 X (objetiva de 40 X e ocular de 10 X).

A mucosa foi avaliada quanto à presença (ou ausência) de solução de continuidade, crosta fibrino leucocitária, edema e reepitelização. Avaliou-se ainda a presença e as características do infiltrado inflamatório e a espessura da camada muscular. Com relação à camada submucosa, foram avaliadas a presença e as características das neoformações vascular e conjuntiva. A camada muscular própria foi avaliada quanto à presença (ou ausência) de hipertrofia e de plexos nervosos e, por fim, na serosa foi avaliada a presença de hialinização vascular.

Empregou-se protocolo com base na Escala de Ehrlich & Hunt modificada onde foram atribuídos pontos de acordo com as características encontradas com pontuação máxima de dezoito pontos, o que representaria maior exacerbação do processo de cicatrização. (QUADRO 3).

A cada animal foi atribuído um total de pontos tornando possível aplicar análise estatística para avaliar os parâmetros de cicatrização.

## QUADRO 3

Escala de Ehrlich e Hunt modificada por Biondo-Simões

<b>Parâmetros</b>	<b>0</b>	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>
<b>Depósito de colágeno</b>	ausente	discreto	moderado	intenso
<b>Neoformação conjuntivo-vascular</b>	ausente	discreta	moderada	intensa
<b>Infiltrado inflamatório</b>	ausente	discreto	moderado	intenso
<b>Padrão do infiltrado inflamatório</b>	ausente	linfoplasmocitário	granulocítico	neutrófilico
<b>Epitélio</b>	solução de continuidade	íntegro	..	..
<b>Hipertrofia da muscular</b>	ausente	presente	..	..
<b>Proliferação fibroblástica</b>	ausente	discreta	moderada	intensa
<b>Plexos nervosos</b>	rarefeitos	acentuados		

**4.11 Análise histológica / Densitometria do colágeno**

Os cortes histológicos (contendo a segunda metade da anastomose) foram corados com o corante *Sirius Red* F3AB e a seguir avaliados com luz polarizada para diferenciação das fibras colágenas.

O método utiliza a coloração de Van Gieson (picrofuccina), empregada pela primeira vez em técnicas histológicas em 1889. O corante ácido reage com as

moléculas de colágeno aumentando a sua birrefringência. Por meio da correlação entre as diferentes cores e a intensidade da birrefringência é possível diferenciar os tipos de colágeno existentes na amostra do tecido estudado. O colágeno maduro (tipo I) apresenta fibras espessas, fortemente birrefringentes e de coloração amarelo, laranja ou vermelho. Já o colágeno imaturo ou neoformado (tipo III) apresenta fibras finas e de coloração esverdeada. A proporção de fibras maduras e imaturas permite a avaliação quantitativa da cicatrização.

Calculou-se a porcentagem de fibras de colágeno tipos I e III por campo de grande aumento à microscopia óptica, a seguir foi estabelecida a razão entre as porcentagens. Com isso pode-se comparar a concentração de colágeno neoformado nos diferentes grupos.

#### **4.12 Análise estatística dos dados**

Os dados foram analisados usando o programa estatístico “one-way ANOVA” (análise de variância), com o teste “Post Hoc de Tuckey” para as variáveis paramétricas, considerando valor de  $p < 0,05$  como significativo.

Para as variáveis não paramétricas, foi utilizado o método de “Kruskal – Wallis” com o teste posterior de “Mann-Whitney”, também considerando valor de  $p < 0,05$  como significativo.

# **RESULTADOS**



## 5.1 Dados clínicos e peroperatórios

Não houve óbito nos animais do estudo nem foram observadas outras complicações clínicas. Todos os animais perderam peso entre os dias do procedimento cirúrgico e a reoperação, mas sem diferença significativa entre os grupos.

Durante a reoperação não foram encontrados abscessos de parede abdominal ou intra-peritoneais nem evidências de vazamentos ou fístulas. Em todos os animais foram encontradas aderências adjacentes à anastomose. Todas eram frouxas e foram facilmente desfeitas sem que houvesse danos à anastomose.

## 5.2 Pressão de ruptura

No Grupo I (controle) observou-se variação de pressão de ruptura de 38 a 54mmHg, com média de 47mmHg. O Grupo II (campo) apresentou uma variação de 50 a 95 mmHg com média de 72,8 mmHg. O Grupo III (cola) a variação foi de 54 a 98 mm Hg, com média de 73,5 mmHg. Já o Grupo IV (campo + cola), apresentou variação de 56 a 99 mmHg com média de 74 mmHg. (TAB 1).

TABELA 1

Resultado das medidas de pressão de ruptura nos grupos em mmHg

Grupos	Pressão mínima	Pressão máxima	Média
I (controle)	38	54	47
II (campo)	50	95	72,8
III(cola)	54	98	73,5
IV(campo +cola)	56	99	74

O Grupo II (campo) apresentou aumento da diferença das pressões de ruptura de  $25,8 \pm 3,8$ mmHg em relação ao Grupo I ( controle), com  $p < 0,001$ . O Grupo III (cola) apresentou um aumento de  $26,5 \pm 3,8$ mmHg em relação ao Grupo I

(controle) com  $p < 0,001$ . O Grupo IV (campo + cola) apresentou um aumento de  $27 \pm 3,8$  mmHg em relação ao Grupo I (controle) com  $p < 0,001$ .

O Grupo III (cola) apresentou aumento de  $0,7 \pm 3,8$  mmHg em relação ao Grupo II, com  $p > 0,05$ . O Grupo IV (campo + cola) apresentou aumento de  $2,8 \pm 3,8$  mmHg em relação ao Grupo II (campo) com  $p > 0,05$ . O Grupo IV apresentou um aumento de  $0,5 \pm 3,8$  mmHg em relação ao Grupo III (cola) com  $p > 0,05$  (TAB 2).

TABELA 2

Comparação entre o aumento das medidas de pressão de ruptura (mmHg) entre os grupos

Grupos	Diferença + DP	p
II (campo) / I (controle)	$25,8 \pm 3,8$	$p < 0,001^*$
III (cola) / I (controle)	$26,5 \pm 3,8$	$p < 0,001^*$
IV (campo + cola) / I (controle)	$27 \pm 3,8$	$p < 0,001^*$
III (cola) / II (campo)	$0,7 \pm 3,8$	$p > 0,05$
IV (campo + cola) / II (campo)	$2,8 \pm 3,8$	$p > 0,05$
IV (campo + cola) / III (cola)	$0,5 \pm 3,8$	$p > 0,05$

DP: desvio padrão

\* : resultado com significância estatística

### 5.3 Análise histológica / Hematoxilina-eosina

A variação no escore de pontos baseado na Escala de Ehrlich & Hunt modificada do Grupo I (controle) foi de 5 a 7, com média de 5,9. O escore do Grupo II (campo) variou entre 8 e 12, com média de 10,2. Já o grupo III (cola) apresentou variação de 5 e 8, com média de 6,5 e o Grupo IV (campo + cola) variou entre 8 e 13 com média de 10,5. O resultado entre a variação de pontos do escore está demonstrado na tabela 3.

TABELA 3  
Variação de pontos do escore nos grupos do estudo

<b>Grupos</b>	<b>Variação de pontos (0 -18)</b>	<b>Média de pontos</b>
<b>I (controle)</b>	5 – 7	5,9
<b>II (campo)</b>	8 – 12	10,2
<b>III (cola)</b>	5 – 8	6,5
<b>IV ( campo + cola)</b>	8 – 13	10,5

O Grupo II (campo) apresentou aumento de 4,3 pontos no escore em relação ao Grupo I (controle) com  $p < 0,05$ . O Grupo III (cola) apresentou aumento de 0,6 pontos em relação ao Grupo I (controle) com  $p > 0,05$ . O Grupo IV (campo + cola) apresentou aumento de 4,6 pontos em relação ao Grupo I (controle) com  $p < 0,05$ .

O Grupo II (campo) apresentou aumento de 3,7 pontos relação ao Grupo III (cola) com  $p < 0,05$ . O Grupo IV (campo + cola) apresentou um aumento de 4 pontos em relação ao grupo III (cola) com  $p < 0,05$  e um aumento de 0,3 pontos em relação ao Grupo II (campo) com  $p > 0,05$ . (TAB 4).

TABELA 4  
Comparação entre o aumento do número de pontos do escore entre os grupos

<b>Grupos</b>	<b>Aumento de pontos</b>	<b>p</b>
<b>II (campo) / I (controle)</b>	4,3	$p < 0,05^*$
<b>III (cola) / I (controle)</b>	0,6	$p > 0,05$
<b>IV (campo +cola) / I (controle)</b>	4,6	$p < 0,05^*$
<b>II (campo) / III (cola)</b>	3,7	$p < 0,05^*$
<b>IV (campo +cola) / III (cola)</b>	4	$p < 0,05^*$
<b>IV (campo +cola) / II (campo)</b>	0,3	$p > 0,05$

\* : resultado com significância estatística

#### 5.4 Análise histológica / Densitometria do colágeno

Os cortes das lâminas corados com *Sirius Red* permitiram a diferenciação entre a coloração dos colágenos tipos I e III. Com isso foi possível estabelecer uma relação entre as porcentagens da deposição colágeno novo em relação ao antigo (FIG. 13).

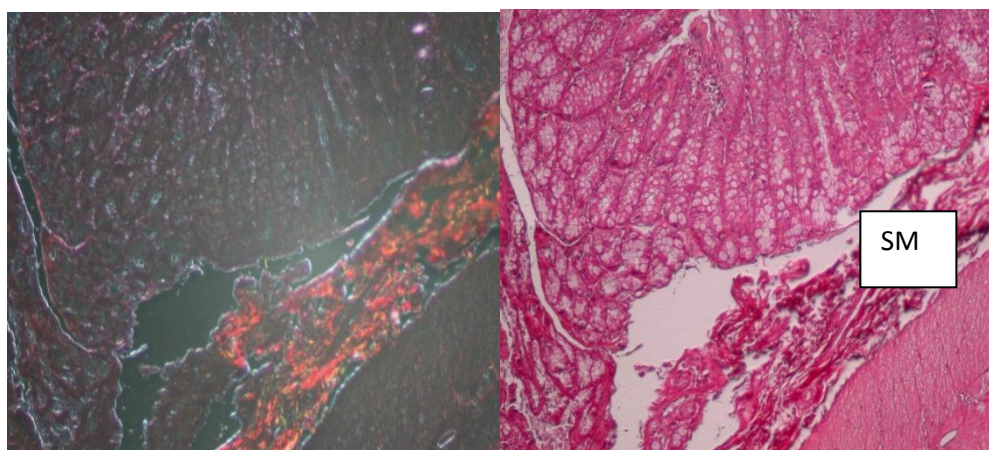


Figura 13 - Fotomicrografia de corte histológico da zona da anastomose mostrando depósito moderado de colágeno. À esquerda: Picrosirius (fibras de colágeno tipo I da submucosa são coradas de laranja) À direita: HE. SM: submucosa.

Dividindo o valor da porcentagem de colágeno tipo III pelo valor da porcentagem do colágeno tipo I encontramos o valor da razão. Quanto maior o valor da razão, maior o valor da porcentagem de colágeno tipo III.

A razão entre as porcentagens de colágeno encontradas no Grupo I (controle) variou entre 0,11 e 0,25, com média de 0,17. O Grupo II (campo) apresentou variação entre 0,25 e 0,53, com média de 0,38. O Grupo III (cola) apresentou variação entre 0,11 e 0,25, com média de 0,17 e o Grupo IV (campo + cola) apresentou variação entre 0,25 a 0,53, com média de 0,38.(TAB 5).

TABELA 5

Variações entre as porcentagens de colágeno nos grupos do estudo

Grupos	Varição entre as razões de colágeno	Média
I (controle)	0,11 - 0,25	0,17
II (campo)	0,25 - 0,53	0,38
III (cola)	0,11 - 0,25	0,17
IV (campo + cola)	0,25 - 0,53	0,38

O grupo II (campo) apresentou aumento de  $0,21 \pm 0,03$  em relação ao Grupo I (controle) ( $p < 0,05$ ). Não houve aumento entre os grupos III (cola) e I (controle), ( $p = 1$ ). O Grupo IV (campo + cola) apresentou aumento de  $0,21 \pm 0,03$  em relação ao Grupo I (controle), ( $p < 0,05$ ).

O grupo II apresentou aumento de  $0,21 \pm 0,03$  em relação ao Grupo III (cola), ( $p < 0,05$ ). O grupo IV (campo + cola) apresentou aumento de  $0,21 \pm 0,03$  em relação ao Grupo III (cola), ( $p < 0,05$ ). Não houve aumento entre os grupos IV (campo + cola) e II (campo), ( $p = 1$ ). (TAB 6).

TABELA 6

Aumento entre as proporções de colágeno entre os grupos

<b>Grupos</b>	<b>Aumento + DP</b>	<b>p</b>
II (campo) / I (controle)	$0,21 \pm 0,03$	$p < 0,05^*$
III (cola) / I (controle)	0	$p = 1$
IV (campo + cola) / I (controle)	$0,21 \pm 0,03$	$p < 0,05^*$
II (campo) / III (cola)	$0,21 \pm 0,03$	$p < 0,05^*$
IV (campo + cola) / III (cola)	$0,21 \pm 0,03$	$p < 0,05^*$
IV (campo + cola) / II (campo)	0	$p = 1$

DP: Desvio padrão

\* : resultado com significância estatística

**DISCUSSÃO**

## 6.1 Modelo Experimental

O marcante avanço do conhecimento sobre o processo de cicatrização intestinal durante o século passado contribuiu para a redução das complicações relacionadas às anastomoses gastrointestinais. Ainda assim, a possibilidade de deiscências de sutura, vazamentos e fístulas continua sendo temida pelos cirurgiões, o que motiva a pesquisa de fatores que possam interferir no processo fisiológico da cicatrização.

As complicações relacionadas às cirurgias do cólon são graves e temidas pelos cirurgiões. O elevado número de bactérias contido nas fezes associa as complicações a quadros infecciosos graves. Outro fator agravante, quando ocorrem complicações relacionadas à cicatrização, é o PH alcalino do conteúdo colônico que é pouco irritante para o peritônio. Assim, os pacientes podem apresentar quadros de infecções sistêmicas graves sem apresentarem sinais e sintomas precoces de peritonite.

O uso terapêutico de campos eletromagnéticos na prática cirúrgica é recente e ainda pouco difundido, sendo o mecanismo de ação sobre o processo de cicatrização pouco conhecido.

O uso de adesivos biológicos em cirurgia é notadamente maior que o do eletromagnetismo. Sua aplicação ultrapassa os limites da cirurgia experimental já sendo utilizados na prática clínica.

A realização de ensaio experimental em modelo animal justifica-se pelo fato de não serem ainda bem estabelecidos os riscos do uso do eletromagnetismo para o organismo. Ainda não foram definidas faixa de intensidade de campo, número de horas de exposição e frequência de corrente segura. Não foram encontrados, com base na revisão de literatura, estudos em humanos sobre o uso de campos eletromagnéticos no aprimoramento da cicatrização de anastomoses gastrointestinais. Com relação ao adesivo de fibrina, existem estudos semelhantes na literatura quanto ao seu uso isolado, porém não foram encontrados estudos que o associem a campo eletromagnético.

Ratos da raça Wistar foram escolhidos devido ao seu fácil manuseio em biotério, serem passíveis de realização de anastomoses intestinais, e por terem sido os animais utilizados nas pesquisas encontradas na literatura que associam a cicatrização intestinal a campo eletromagnético.<sup>19,20,40,42</sup> Quanto aos adesivos

biológicos, existem estudos realizados nesses animais e também em outras espécies.<sup>54,63,64,65</sup>

O número de dez animais por grupo foi escolhido por ser suficiente para a aplicação dos testes estatísticos sem ferir os princípios éticos para a realização de pesquisas em animais. Devemos sempre utilizar o menor número possível de animais que seja suficiente para a validação estatística da pesquisa. O número de animais utilizado foi aprovado pelo Comitê de Ética em pesquisas animais da UFJF.

O cólon foi o órgão escolhido devido à gravidade das complicações relacionadas à falha no processo de cicatrização na prática clínica. Nos estudos sobre cicatrização de anastomoses de cólon os autores têm utilizado a porção intraperitoneal do cólon, evitando o reto extra-peritoneal (local mais difícil de acessar e realizar a anastomose).<sup>18,19,20,40,42</sup>

O material utilizado para a sutura intestinal (polipropileno 5.0) e a técnica cirúrgica adotada para a sutura (pontos separados, plano único e sutura invaginante) foram escolhidos devido à sua utilização na prática clínica bem como seus benefícios já terem sido demonstrados cientificamente.<sup>7</sup> Não há consenso na literatura quanto ao tipo de fio ou à técnica de sutura ideais. Existe uma tendência à maior utilização de fios sintéticos, monofilamentares e absorvíveis como a polidioxanona, que vem ganhando espaço nas cirurgias colorretais, mas fios multifilamentares e inabsorvíveis como a seda ainda são utilizados. Não acreditamos que o fio de sutura escolhido possa ter tido influência nos resultados do estudo. A sutura mecânica com grampeadores também vem sendo cada vez mais utilizada. Apesar dos maiores custos, a facilidade técnica para confecção da anastomose com sua utilização e a diminuição do tempo cirúrgico tornam tais materiais atrativos para os cirurgiões. Seu emprego em anastomoses colônicas apresenta taxa de fístulas semelhantes à sutura manual. Também não acreditamos que a técnica cirúrgica empregada tenha tido influência nos resultados do estudo.

Não houve óbitos ou complicações tais como deiscência de sutura, vazamentos ou fístulas em nenhum dos animais do estudo. Também não houve perda significativa de peso nos animais. Talvez o período curto de observação (72 horas) possa explicar este fato.



## 6.2 Efeitos do campo eletromagnético sobre a cicatrização intestinal

O campo eletromagnético desenvolvido para o presente estudo foi baseado nos campos utilizados por Menten *et al.*, em 1996, e Nayci *et al.*, em 2001. Um solenóide percorrido por uma corrente elétrica gerou um campo eletromagnético externo aos animais que foram colocados em seu interior.<sup>18,19</sup>

Em trabalho anterior, para dissertação de Mestrado, foram estudados os efeitos do campo eletromagnético dinâmico aplicado no pré e no pós-operatório sobre a cicatrização de anastomoses colônicas de ratos. O campo eletromagnético foi gerado pela mesma bobina do trabalho atual com as mesmas características de intensidade de campo e período de exposição. Não foram encontradas alterações significativas quando a aplicação ocorreu no pré-operatório. A aplicação no pós-operatório apresentou efeitos positivos sobre a cicatrização, em todos os parâmetros avaliados, o que motivou a sua aplicação no presente estudo. Foram utilizados os mesmos parâmetros para avaliação nos dois estudos e os resultados encontrados foram muito semelhantes quando da aplicação do campo eletromagnético no pós-operatório.<sup>43</sup>

A frequência da corrente elétrica geradora do campo foi de 60 Hz. No estudo de Menten *et al.*, em 1996, a frequência utilizada foi de 100 Hz, já nos estudos de Nayci *et al.*, em 2001 e 2003, a frequência foi de 50 Hz. Ahmandians *et al.*, em 2006, utilizaram a mesma intensidade de campo com frequências variáveis de 25 Hz, 50 Hz e 100 Hz.<sup>18,19,20,42</sup> Os autores encontraram resultados mais favoráveis à frequência de 25 Hz. As frequências entre 10 Hz e 300 Hz são as mais indicadas para estudos experimentais em modelo animal, por não terem sido observados efeitos deletérios aos animais.<sup>18</sup>

As intensidades dos campos eletromagnéticos nos estudos experimentais precedentes para avaliação da cicatrização de anastomoses foram: 1 mT e 2 mT, 1 mT e 4 mT, e 10,76 mT.<sup>18,19,20,42</sup> O presente estudo utilizou um campo magnético de 10,04 mT de intensidade. De acordo com Cridland *et al.*, em 1996, as intensidades de campos magnéticos em estudos experimentais variam de 0,2  $\mu$ T a 20 mT.<sup>36</sup> Não há até o presente estudo sobre a intensidade ideal do campo capaz de produzir os melhores efeitos sobre a cicatrização.

A exposição dos animais ao campo magnético ocorreu em ciclos de duas horas/dia com intervalos de 24 horas entre os ciclos a partir do pós-operatório

imediatamente (Grupos II e IV). Menten *et al.*, em 1996, utilizaram ciclos de 18 horas/dia em dois de seus grupos e um outro grupo com dois períodos de 6 horas/dia. No total os animais ficaram expostos 18 horas/dia e 12 horas/dia.<sup>18</sup>

Nayci *et al.*, em 2001 e 2003,<sup>19,20</sup> expuseram os animais a dois ciclos de duas horas/dia, com intervalos de 10 horas entre os ciclos, num total de quatro horas/dia. Ahmandians *et al.*, em 2006,<sup>42</sup> utilizaram ciclos de 2,5 horas/dia com intervalos de 21,5 horas entre os ciclos. Ainda não foram realizados estudos para estabelecer o número de horas ideal para a exposição dos animais ao campo eletromagnético.

No presente estudo foi utilizado o período de 2 horas, como Nayci *et al.*, em 2001,<sup>20</sup> porém em apenas um ciclo por dia. Tal opção baseou-se na aceitação de que o ideal seria expor os animais ao menor número de horas possível para encontrar os efeitos desejáveis sobre a cicatrização. Considerou-se também a aplicação hipotética em humanos. Seria pouco prático expor o paciente em período de pós-operatório por muitas horas a um aparelho gerador de campo eletromagnético.

A escolha do período de 72 horas no pós-operatório para as análises dos parâmetros de cicatrização teve o intuito de estudar as alterações cicatriciais na transição entre a primeira e a segunda fase da cicatrização, que constitui um período crítico do processo. Greca *et al.*, em 2000, em estudos sobre cicatrização intestinal em ratos, também analisaram as anastomoses no terceiro dia de pós-operatório por considerarem este período como crítico para a cicatrização.<sup>59</sup>

No presente estudo as pressões de ruptura encontradas nos animais do Grupo II (campo) foram maiores que nos animais do Grupo controle com significância estatística. Quando comparados aos animais que tiveram suas anastomoses reforçadas com o adesivo de fibrina (Grupo III), os animais do Grupo II apresentaram pressão de ruptura pouco menor, porém não houve significância estatística.

Em relação à análise histológica por meio da coloração hematoxilina – eosina, os animais expostos ao campo eletromagnético (Grupo II) tiveram um aumento significativo de pontos do escore em relação aos animais do Grupo controle. Quando comparados os resultados com os de Grupo III (cola) também houve aumento significativo de pontos do escore. Quando comparado ao Grupo IV

(campo + cola), onde também houve um aumento significativo de pontos em relação ao Grupo controle, não houve diferença com significância estatística.

Quando estudamos isoladamente cada camada da parede intestinal, observaram-se, com maior relevância nos Grupo II (campo) e IV (campo + cola), diminuição do edema e um padrão de infiltrado inflamatório caracterizado como misto, ao contrário dos demais onde há uma predominância do infiltrado polimorfonuclear. Com relação à submucosa, também houve maior tendência à neoformação vascular e conjuntiva nos Grupos II e IV em relação aos demais. Não houve estudo estatístico que comparasse cada camada da parede intestinal isoladamente entre os grupos do estudo.

Nos estudos publicados que relacionam campo eletromagnético e cicatrização intestinal os autores não utilizaram análises histológicas com coloração hematoxilina-eosina para avaliar a cicatrização e sim as dosagens de hidroxiprolina. Mentis *et al.*, em 1996, Nayci *et al.*, em 2001 e 2003 encontraram valores significativamente maiores de hidroxiprolina nos animais expostos ao campo eletromagnético que seus respectivos grupos controle.<sup>18,19,20</sup>

Outro método utilizado para avaliar a cicatrização foi por meio da coloração picrossirius-red F3BA. Comparando os resultados obtidos nos quatro grupos, observou-se aumento na proporção de colágeno Tipo III nos animais do Grupo II (campo) e IV (campo + cola) em relação aos grupos III (cola) e controle. A associação campo magnético e cola biológica utilizada nos animais do Grupo IV apresentou as mesmas proporções de colágeno que os animais expostos apenas ao campo eletromagnético (Grupo II).

O mecanismo por meio do qual o campo eletromagnético influencia no processo de cicatrização é desconhecido. Cridland *et al.*, em 1996, demonstraram aumento na proliferação de fibroblastos e na síntese de colágeno de culturas de tendões de aves expostas a diferentes formas de ondas eletromagnéticas, constatando aumento do número de mitoses. Os autores concluíram que tanto os fibroblastos quanto o próprio colágeno produzido sofreram efeitos das ondas eletromagnéticas.<sup>36</sup>

Goodman e Henderson, em 1986, encontraram aumento na proliferação de fibroblastos cultivados em meio de cultura quando foram expostos a campos eletromagnéticos.<sup>66</sup>

Nursal *et al.*, em 2006, realizaram experimento onde ratos submetidos a anastomoses de cólon foram expostos a campos eletromagnéticos por meio de uma fonte geradora implantada no interior da cavidade abdominal dos animais. Realizaram análise de parâmetros físicos (pressão de ruptura), histológicos e bioquímicos (dosagem de hidroxiprolina). Avaliaram a cicatrização das anastomoses no terceiro e sétimo dias de pós-operatório. Em nenhum dos grupos de estudo foram encontradas variações significativas em relação às análises realizadas, concluindo os autores que, diferentemente de campos eletromagnéticos dinâmicos, campos eletromagnéticos estáticos não parecem exercer efeitos sobre a cicatrização de anastomoses intestinais.<sup>67</sup>

As análises da cicatrização, no presente estudo, foram realizadas após 72 horas de pós-operatório, período onde ainda estão presentes os efeitos da fase inflamatória da cicatrização e a produção de colágeno tipo III ainda se encontra em fase inicial. As análises dos resultados podem dar indícios do mecanismo de atuação do campo eletromagnético sobre o processo de cicatrização. Uma hipótese seria a aceleração do processo, com redução da fase inflamatória e início mais precoce da fase de fibroplasia. Outra hipótese seria apenas a influência sobre a segunda fase, acelerando a produção de colágeno tipo III. São necessárias análises mais complexas para se chegar à conclusão do mecanismo de atuação do campo eletromagnético, como dosagens bioquímicas de mediadores de resposta inflamatória ou estudos de imunohistoquímica para diferentes tipos de colágeno. Análises em fases mais tardias da cicatrização também são necessárias.

### **6.3 Efeitos do adesivo de fibrina sobre a cicatrização intestinal**

Os estudos sobre os adesivos de fibrina e suas aplicações nas anastomoses intestinais data do início do século XX, com maior ênfase a partir dos anos 70. Ainda é controverso o exato mecanismo de ação dos adesivos de fibrina sobre a cicatrização intestinal, pois os resultados das pesquisas sobre o tema são contraditórios.<sup>68</sup>

Foram descritos efeitos positivos dos adesivos de fibrina sobre a cicatrização como a produção de hemostasia local, o estímulo ao fluxo de macrófagos com a

produção de fatores que favorecem a angiogênese, a proliferação de fibroblastos e a produção de colágeno.<sup>7,69,70</sup>

O uso isolado dos adesivos de fibrina como método de confecção de anastomoses intestinais tem sido restrito a estudos experimentais. Na prática clínica vem sendo utilizados em associação a métodos convencionais de sutura (manual ou mecânica). Por esta razão, optamos por utilizar o adesivo de fibrina como reforço na anastomose constituída por sutura manual de pontos separados com polipropileno 5.0.

As análises de pressão de ruptura mostram que os Grupos onde se utilizou o adesivo de fibrina isoladamente (Grupo III) ou em associação com campo eletromagnético (Grupo IV) foram significativamente maiores que no grupo controle, o que corrobora o resultado de alguns estudos.<sup>54,63,64</sup> Também foram encontrados resultados contrários em outros trabalhos, onde não houve aumento da pressão de ruptura quando se usou o adesivo de fibrina para confecções de anastomoses intestinais.<sup>64</sup> Quando comparados ao Grupo II (campo), também foram encontrados valores mais altos de pressão de ruptura, porém sem significância estatística.

Por outro lado, os resultados da análise histológica realizada com a coloração hematoxilina-eosina não mostram efeitos do adesivo de fibrina sobre a cicatrização intestinal no presente estudo.

O Grupo III (cola) apresentou aumento de pontos do escore em relação ao grupo controle, mas não houve significância estatística. Quando comparado ao Grupo II (campo), o total de pontos do escore foi significativamente menor assim como quando a comparação se deu com o Grupo IV (campo + cola) o que sugere que o aumento de pontos do grupo IV em relação ao grupo controle se deva a exposição ao campo eletromagnético e não ao uso do adesivo de fibrina.

Estudos mostraram resultados contraditórios em relação ao uso dos adesivos de fibrina em relação à cicatrização intestinal, baseados em avaliação histológica. Foram encontrados aumento nos marcadores de imunohistoquímica para angiogênese, porém marcadores para deposição de colágeno e atividade de fibroblastos não foram diferentes em relação aos respectivos grupos controle dos estudos.<sup>63,64</sup> No estudo de Karagoz Avci, et al, em 2011, não houve diferença estatística em relação a dosagem de hidroxiprolina e análise histológica entre ratos submetidos a tratamento de lesão de duodeno com adesivo de fibrina ou com sutura simples.<sup>65</sup>

Os resultados da análise histológica da densitometria do colágeno através da coloração *Sirius Red* são semelhantes aos encontrados com a coloração hematoxilina-eosina. Não houve aumento de colágeno neoformado no grupo III (cola) em relação ao grupo controle. Já os grupos II (campo) e IV (campo + cola), apresentaram aumento significativo de colágeno neoformado em relação aos grupos III (cola) e I (controle), porém não houve diferença entre si. Os resultados sugerem que o aumento de colágeno neoformado se deva a exposição dos animais ao campo eletromagnético e não ao uso do adesivo de fibrina.

As análises dos resultados mostram que os adesivos de fibrina tiveram importante papel no aumento da pressão de ruptura intestinal nos animais onde foi utilizado como reforço da anastomose, atuando como selante.

#### **6.4 Efeitos da associação entre campo eletromagnético e cola biológica sobre a cicatrização intestinal**

Não encontramos na literatura estudos onde se associaram campos eletromagnéticos a adesivos de fibrina como fatores adjuvantes em cicatrização.

Serão analisados os resultados do Grupo IV (campo + cola) em relação aos demais grupos do estudo.

Em relação à medida de pressão de ruptura, houve aumento significativo dos valores do Grupo IV em relação ao Grupo controle, mas não em relação aos grupos onde foram empregados isoladamente o adesivo de fibrina (Grupo III) e o campo eletromagnético (Grupo II). Era esperado aumento da pressão de ruptura quando se associassem os dois fatores uma vez que, usados isoladamente, ambos apresentaram aumento dos valores de pressão de ruptura em relação ao Grupo controle.

Quanto aos resultados das análises histológicas, o Grupo IV apresentou valores mais elevados no escore da análise H.E. e maior proporção de colágeno neoformado que os Grupos controle e III, porém apresentou valores semelhantes em relação ao Grupo II, onde se empregou o campo eletromagnético isoladamente.

Parece que o “fator” campo eletromagnético, isoladamente, foi o responsável pela melhora do processo de cicatrização.

### **6.5 perspectivas futuras**

O presente trabalho faz parte de uma linha de pesquisa onde procuramos estudar fatores intervenientes sobre a cicatrização tecidual. Já estudamos a influência do campo eletromagnético sobre a cicatrização de anastomoses colônicas, quando aplicado no pré e no pós-operatório, e agora sua utilização concomitante aos adesivos de fibrina.

São necessários estudos onde se avalie períodos de exposição diferentes ao campo eletromagnético, assim como suas características (intensidade, frequência, tipo de fonte geradora), para que se possam estabelecer quais as condições de melhor influência sobre a cicatrização intestinal e seus possíveis riscos à integridade tecidual dos animais de estudo.

Também objetivamos avaliar o processo de cicatrização por meio de outros métodos descritos na literatura. Análises bioquímicas de marcadores de resposta inflamatória, imunohistoquímica para colágeno entre outros poderiam nos dar indícios do real mecanismo de atuação do eletromagnetismo sobre a cicatrização tecidual.

O trabalho também abre perspectivas para a associação entre diferentes fatores adjuvantes que possam interferir sobre a cicatrização tecidual por meio de mecanismos diferentes.

# **CONCLUSÕES**



Por meio do presente estudo conclui-se, a partir de 72 horas de pós-operatório de anastomoses de cólon de ratos, que:

- O campo eletromagnético melhorou a cicatrização, quando aplicado isoladamente, considerando parâmetros físicos e histológicos.
- O adesivo de fibrina aumentou a pressão de ruptura agindo como selante da anastomose , quando aplicado isoladamente, porém não foram encontradas alterações histológicas.
- A associação entre o campo eletromagnético dinâmico e o adesivo de fibrina se mostrou benéfica sobre a cicatrização, mas não foram encontradas alterações significativas em relação ao uso isolado do campo eletromagnético.

## **REFERÊNCIAS**

1. Kinghan TP, Pachter HL. Colonic Anastomotic Leak: Risk factors, Diagnosis and Treatment. *J Am Coll Surg.* 2009; 10(20):1-10.
2. Hyman NH, Osler T, Cataldo P, Burns EH, Shackford. Anastomotic Leaks after Bowel Resection: What Does Peer Review Teach Us about the relationship to Postoperative Mortality? *J Am Coll Surg.* 2008; 10(20): 1-5.
3. Law WI, Chu KW, Ho JW, Chan CW. Risk factors for anastomotic leakage after low anterior resection with total mesorectal excision. *Am J Surg.* 2000; 179: 92-96.
4. Alberts JC, Parvaiz A, Moran BJ. Predicting risk and diminishing the consequences of anastomotic dehiscence following rectal resection. *Colorectal Dis.* 2003; 5: 478-482.
5. Golub R, Golub RW, Cantu R Jr, Stein HD. A multivariate analysis of factors contributing to leakage of intestinal anastomoses. *J Am Coll Surg.* 1997; 184: 364-372.
6. Hendriks T, Mastboom WJ. Healing of experimental intestinal anastomosis: parameters for repair. 1990; 30: 891-901.
7. Souza C. Uso de adesivos biológicos em anastomoses intestinais – Estudo experimental em coelhos. (Tese). Belo Horizonte: Universidade Federal de Minas Gerais. Faculdade de Medicina, 1993.
8. Patankar SK, Larach SW, Ferrara A, et al. Prospective comparison of laparoscopic vs. open resections for colorectal adenocarcinoma over a ten-year period. *Dis Colon Rectum.* 2003; 46: 601-611.
9. Kockerling F, Schneider C, Raymond MA, et al. Laparoscopic resection of sigmoide diverticulitis. Results of a multicenter study. *Laparoscopic Colorectal Surgery Study Group. Surg Endosc.* 1999; 13: 567-571.
10. Docherty JG, McGregor JR, Akyol AM, et al. Comparison of manually constructed and stapled anastomoses in colorectal surgery. *West of Scotland and Highland Anastomosis Group. Ann Surg.* 1995; 221: 176-184.

11. Lustosa SA, Matos D, Atallah AN, castro AA. Stapled versus handsew methods of colorectal anastomosis surgery. Cochrane database Syst Rev. 2001: CD 003144.
12. Pakkastie TE, Ovaska JT, Pekkala ES, et al. A randomised study of colostomies in low colorectal anastomoses. Eur J Surg. 1997; 163:929-933.
13. Gastinger I, Marusch F, Steinert R, et al. Prospective disfunctionig stoma in low anterior resection for rectal carcinoma. Br J Surg. 2005; 92:1137-1142.
14. Miettinen RP, Laitinen ST, Makela JT, Paakkonen ME. Bowel preparation with oral polyethylene glycol electrolyle solution vs. no preparation in elective open colorectal surgery: prospective, randomized study. Dis Colon Rectum. 2000; 43: 669-75.
15. Ram E, Scherman Y, Weil R, et al. Is mechanical bowel preparation mandatory for elective colon surgery? A prospective randomized study. Arch Surg. 2005; 140: 285-288.
16. Yo LS, Consten EC, Quarles HM, et al. Buttressing of a staple line in gastrointestinal anastomoses: overwien of new technology designed to reduce perioperative complications. Dig Surg 2006; 23: 283-291.
17. Beard JD, Nicholson ML, Sayers RD, et al. Intraoperative air testing of colorectal anastomoses: a prospective, randomized trial. Br J Surg. 1990; 77: 1095-1097.
18. Menten BB, Tasclar O, Taglu E. Influence of pulsed eletromagnetic fields on healing of experimental colonic anastomosis. Dis Colon Rectum. 1996; 39: 1031-1038.
19. Nayci AL, Cakmak M, Aksoyek S, et al. Comparison of electromagnetic field stimulation on the healing of small and large intestinal anastomosis. Dis Colon Rectum. 2001; 44: 1181-1188.

20. Nayci AL, Cakmak M , Renda N , et al. Effect of electromagnetic fields and early postoperative 5-flourouracil on the healing of colonic anastomoses . *Int J Colorectal Dis.* 2003; 18:136–141.
21. Fingerhut A, Veyrie N, Ata T, Alexakis N, Leandros E. Use of sealants in pancreatic surgery: critical appraisal of the literature. *Dig Surg.* 2009; 26(1):7-14.
22. Fontes CER, Taha MO, Fagundes DJ, Ferreira MV, Prado Filho OR, Mardegan MJ. Estudo comparativo do uso de cola de fibrina e cianoacrilato em ferimento de fígado de rato. *Acta Cir Bras.* 2004; 19(1): 37-42.
23. Imai A, Suzuki N. Topical non-barrier agents for postoperative adhesion prevention in animal models. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 2010 Apr; 149(2):131-5.
24. Reece TB, Maxey TS, Kron IL. A prospectus on tissue adhesives. *Am J Surg.* 2001; 182(2):40S-44S.
25. Ballantyne G. The experimental basis of intestinal suturing. *Dis. Colon Rectum.*1984; 27: 61-71.
26. Thomas DW, O Neill ID, Harding KG, Shepherd JP. Cutaneous wound healing: a current perspective. *J Oral Maxillofac Surg.* 1995; 53: 442-447.
27. Araújo ID, Barbuto RC. Bases e distúrbios da cicatrização. In: Rodrigues MAG, Correia, MITD, Savassi-Rocha PR. *Fundamentos em Clínica Cirúrgica.* Belo Horizonte: Coopmed, 2005, p. 93-103.
28. Kanto R, Fagundes DJ. Estudo Morfológico Comparativo de Anastomoses Colônicas por Invaginação Versus em Plano Único Extra-Mucoso, cães. *Rev. Bras. Coloproct.* 2005; 25(1): 51-59.
29. Thornton FJ, Barbul A. Healing in the gastrointestinal tract. *Surg Clin North.* 1997; 77: 549-573.

30. Ishimura K, Tsubouchi T, Okano K, Maeba T, Maeta H. Wound healing of intestinal anastomosis after digestive under septic conditions: participation of local interleukin 6 expression. *World J Surg.* 1998; 22: 1069-1075.
31. Jonsson K, Jiborn H, Zederfeldt B. Mechanical and biochemical alterations in the intestinal wall adjacent to anastomosis. *Am J Surg.* 1986; 151: 387-190.
32. Koruda MJ, Rolandelli R. Current research review: experimental studies on the rearing of colonic anastomosis. *J Surg Res.* 1990; 48: 504-515.
33. Ferreira, M. Radioterapia pré e pós-operatória na cicatrização de anastomoses colônicas em ratos avaliada mediante estudo tensiométrico, histológico e da morfometria do colágeno. Curitiba. Dissertação (Mestrado em Clínica Cirúrgica) Setor de Ciências da Saúde, Universidade Federal do Paraná, 2004.
34. Yamamoto K, Shigekito CT, Fuke LF. Os Alicerces da Física 3 – Eletricidade. São Paulo. Saraiva. 2006.
35. Calçada CS. Física Clássica – Eletricidade. Rio de Janeiro. Atual. 2007.
36. Cridland NA, Sabour NR, Saunders RD. Effects of 50 Hz magnetic field exposure on the rate of DNA synthesis by normal human fibroblasts. *Int J Radiat Biol* 1996; 69: 503-511.
37. Basset AL, Valdest MG, Hernandez E. Modification of fracture repair with selected pulsing eletromagnetic fields. *J Bone Joint Surg.* 1982; 64: 888-894.
38. Ito H, Basset AL. Effect of weak, pulsing eletromagnetic fields on neural regeneration in the rat. *Clin Orthop.* 1983; 181: 283-289.
39. Ottani V, Monti MG, Marocutti M. Influence of pulsed eletromagnetic fields on regenerating rat liver after partial hepatectomy. *J Anat.* 1984; 139: 253-263.
40. Dindar H, Renda N, Barlas M, A A, YAKinay A, Yazegan E, Tincer T, Cakmak M, Konkan R, Gokcora IH, Yucesan S. The effects of electromagnetic Field

- stimulation on corticosteroids inhibited intestinal wound healing. *Tokay J Exp Clin Med.* 1993; 18(1-2):49-55.
41. Tepper OM, Callaghan MJ, Chang EI, Galiano RD, Bhatt KA, Baharestani S. et al. Electromagnetic fields increase in vitro and in vivo angiogenesis through endothelial release of PGF-2. *FASEB J.* 2004; 18: 1231-1233.
  42. Ahmandians S, Zarchi SR, Bolouri B. Effects of extremely-low-frequency pulsed electromagnetic fields on collagen synthesis in rat skin. *Biotechnol Appl Biochem.* 2006; 43: 71-75.
  43. Borsato LHS. Estudo dos efeitos do campo eletromagnético na cicatrização de anastomoses intestinais-Modelo experimental em ratos. Dissertação de Mestrado- Faculdade de Medicina, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 1993.
  44. Lee MG, Jones D. Applications of fibrin sealant in surgery. *Surg Innov.* 2005; 12(3):203-13.
  45. Demirel AH, Basar OT, Ongoren AU, Bayram E, Kiskurek M. Effects of primary suture and fibrin sealant on hemostasis and liver regeneration in an experimental liver injury. *World J Gastroenterol.* 2008; 14(1):81-4.
  46. Stumpf M, Junge K, Rosch R, Krones C, Klinge U, Schumpelick V. Suture-free small bowel anastomoses using collagen fleece covered with fibrin glue in pigs. *J Invest Surg.* 2009; 22(2):138-47.
  47. Casella G, Soricelli E, Rizzelo M, Trentino P, Fiocco F, Fantini A, et al. Nonsurgical treatment of staple line leaks after laparoscopic sleeve gastrectomy. *Obes Surg.* 2009; 19(7):821-6.
  48. Kanellos I, Mantzoros I, Demetriades H, Kalfadis S, Sakkas L, Kelpis T, Betsis D. Sutureless colonic anastomosis in the rat: a randomized controlled study. *Tech coloproctol.* 2002; 6:143-146.

49. Cheragwandi A, Nieuwenhuis DH, Gagner M, Consten EC. An update of available innovative staple line reinforcement materials in colorectal surgery. *Surg Technol Int.* 2008; 17:131-7.
50. Hjortrup A, Nordkild P, Christensen T, Sjøtoft E, Kjaegaard J. Rectal anastomosis with application of luminal fibrin adhesive in the rectum of dog. *Dis Col Rect.* 1989; 32:422-25.
51. Saclarides TJ, Woodard DO, Bapna M, Economou SG. Fibrin glue improves the healing of irradiated bowel anastomosis. *Dis Col Rect.* 1992; 35:249-52.
52. Shinohara K, Kobayashi E, Yoshida T, Toyama N, Kiyozaki H, Fujimura A, Miyata M. Effect of fibrin glue on small and large bowel anastomoses in the rat. *Eur Surg Res.* 1998; 30:8-12.
53. Zilling TL, Jansson O, Walther BS, Ottosson A. Sutureless small bowel anastomoses: experimental study in pigs. *Eur J Surg.* 1999; 165:61-8.
54. Akgün A, Kuru S, Uraldi C, Tekin O, Karip B, Tug T, Ongören AU. Early effects of fibrin sealant on colonic anastomosis in rats: an experimental and case-control study. *Tech Coloproctol.* 2006. Oct; 10(3): 208-14.
55. Vitor Rocha EA; Souza C. Avaliação hemodinâmica de anastomoses arteriais reforçadas com selante de fibrina. Estudo experimental em suínos. *Rev Bras Cir Cardiovasc.* 2007; 22 (1): 81-87.
56. Trubian PS. Influência do octreotide na cicatrização de sutura gástrica em ratos: estudo tensiométrico e da morfologia do colágeno [dissertação]. Curitiba (PR): Universidade Federal do Paraná; 2004.
57. Heibel M, Dietz UA, Malafaia O, Czezko NG, Araujo UR, Inacio CM. Influência do Alprostadiol na cicatrização da anastomose de esôfago cervical – estudo em cães. *Arq Bras Cir Dig.* 2006; 19(4): 123-32.
58. Biondo-Simões MLP, Greca FC, Bryk Jr A, Komatsu A, Gomes MC, Bittencourt FO, et al. Influência da peritonite sobre a síntese de colágeno em anastomoses



- de cólon distal. Estudo experimental em ratos. *Acta Cir Bras.* 2000; 15(3): 69-75.
59. Greca FH, Biondo-Simões MLP, Ioshi S, Santos EAA, Chin EWK, El Tawel IZ, et al. Cicatrização de anastomoses do cólon esquerdo com doença inflamatória. Estudo experimental em ratos. *Acta Cir Bras.* 2000; 15(3): 41-46.
60. Greca FH, Biondo-Simões MLP, de Paula JB, Noronha C, Ferreira da Cunha LS, Baggio PU, et al. Correlação entre o fluxo sanguíneo intestinal e a cicatrização de anastomoses colônicas: estudo experimental em cães. *Acta Cir Bras.* 2000; 15(3): 88-94.
61. Biondo-Simoes MLP, Greca FH, Ioshi S, Menini CM; El Tawil II, Chin EWK, et al. Influência do tempo transcorrido entre a lesão do colon e a síntese, no processo de cicatrização. *Acta Cir Bras.* 2000; 15(3): 24-29.
62. Junqueira LCU, Cosserwell W, Brentani RR. Differential staining of collagen type I, II and III by sirius red and polarization microscopy. *Arch Histol Jpn.* 1978; 41:267-274.
63. Kanellos I, Christoforidis E, Kanellos D, Pramateftakis MG, Sakkas L, Betsis D. The healing of colon anastomosis covered with fibrin glue after early postoperative intraperitoneal chemotherapy. *Tech Coloproctol* 2006; 10(2):115-20.
64. Kanellos D, Blouhos K, Pramateftakis MG, Kanellos I, Demetriades H, Sakkas L, Betsis D. Effect of 5- fluorouracil plus interferon on the integrity of colonic anastomoses covering fibrine glue. *World J Surg.* 2007; 31(1):186-91.
65. Karagoz AVCI, Yüceyar S, Aytaç E, Bayraktar O, Erenler I, Ustün H, Uzun H, Ertürk S. Comparison of classical surgery and sutureless repair with DuraSeal or fibrin glue for duodenal perforation in rats. *Ulus Travma Acil Cerrahi Derg.* 2011; 17(1):9-13.
66. Goodman R, Henderson AS. Some biological effects of electromagnetic fields. *Bioelectrochem Bioenergetics.* 1986; 15:39-55.

67. Nursal TZ, Bal N, Anarat R, Colakoglu T, Noyan T, Moray G, Haberal M. Effects of a static magnetic field on wound healing: results in experimental rat colonic anastomosis. *Am J Surg.* 2006; 192: 76-81.
68. Soares Jr. C, Souza C. Uso de 2-octil cianoacrilato em anastomose colonicas: estudo experimental em ratos wistar. *Rev Col Bras Cir.* [Periódico na Internet] 2010; 37(2). Disponível em URL: <http://www.scielo.br/rcbc>
69. Fagundes DJ, Hata MO, Souza EFM. Conduatas em cirurgia: adesivos em cirurgia 2001; 2: 669-674.
70. Fagundes DJ, Hata MO, Rivoire HC. Adesivos cirúrgicos: revisão e atualização. *Jornal Brasileiro de Medicina.* 2002; 82(3): 101-103.

**ANEXOS**



FACULDADE DE MEDICINA  
CENTRO DE PÓS-GRADUAÇÃO

Av. Prof. Alfredo Balena 190 / sala 533  
Belo Horizonte – MG - CEP 30.130-100  
Fone: (031) 3409.9641 FAX: (31) 3409.9640



UFMG

ATA DA DEFESA DE TESE DE DOUTORADO DE LUIZ HENRIQUE SILVA BORSATO, nº de registro 2010654158.

Às nove horas do dia 17 de dezembro de dois mil e doze, reuniu-se na Faculdade de Medicina Universidade Federal de Minas Gerais, a Comissão Examinadora de tese indicada pelo Colegiado do Programa, para julgar, em exame final, o trabalho intitulado: **“EFEITOS DO CAMPO ELETROMAGNÉTICO DINÂMICO E DO ADESIVO DE FIBRINA, USADOS SEPARADAMENTE OU EM ASSOCIAÇÃO, SOBRE A CICATRIZAÇÃO DE ANASTOMOSES COLÔNIAS DE RATOS.”**, requisito final para a obtenção do grau de Doutor em Ciências Aplicadas à Cirurgia e à Oftalmologia, pelo Programa de Pós-Graduação, em Ciências Aplicadas à Cirurgia e à Oftalmologia. Abrindo a sessão, o Presidente da Comissão, Prof. Claudio de Souza, após dar a conhecer aos presentes o teor das normas regulamentares do trabalho final passou a palavra ao candidato para apresentação de seu trabalho. Seguiu-se a arguição pelos examinadores, com a respectiva defesa do candidato. Logo após, a Comissão se reuniu sem a presença do candidato e do público para julgamento e expedição do resultado final. Foram atribuídas as seguintes indicações:

Prof. Claudio de Souza/Orientador	Instituição: UFMG	Indicação: <u>aprovado</u>
Prof. Tarcizo Afonso Nunes	Instituição: UFMG	Indicação: <u>aprovado</u>
Prof. João Baptista de Rezende Neto	Instituição: UFMG	Indicação: <u>aprovado</u>
Prof. Cícero de Lima Rena	Instituição: UFJF	Indicação: <u>aprovado</u>
Profa. Maria Cristina Vasconcelos Furtado	Instituição: UFJF	Indicação: <u>aprovado</u>

Pelas indicações, o candidato foi considerado aprovado.

O resultado final foi comunicado publicamente ao candidato pelo Presidente da Comissão. Nada mais havendo a tratar, o Presidente encerrou a sessão e lavrou a presente ATA, que será assinada por todos os membros participantes da Comissão Examinadora. Belo Horizonte, 17 de dezembro de 2012.

Prof. Claudio de Souza/Orientador Claudio de Souza

Prof. Tarcizo Afonso Nunes Tarcizo Afonso Nunes

Prof. João Baptista de Rezende Neto João Baptista de Rezende Neto

Prof. Cícero de Lima Rena Cícero de Lima Rena

Profa. Maria Cristina Vasconcelos Furtado Maria Cristina Vasconcelos Furtado

Prof. Marcelo Dias Sanches/Coordenador Marcelo Dias Sanches

Obs.: Este documento não terá validade sem a assinatura e carimbo do Coordenador.

Prof. Marcelo Dias Sanches  
Coordenador do Programa de Pós-Graduação em  
Ciências Aplicadas à Cirurgia e à Oftalmologia  
Faculdade de Medicina/UFMG



**FACULDADE DE MEDICINA  
CENTRO DE PÓS-GRADUAÇÃO**

Av. Prof. Alfredo Balena 190 / sala 533  
Belo Horizonte - MG - CEP 30.130-100  
Fone: (031) 3409.9641 FAX: (31) 3409.9640



## DECLARAÇÃO

A Comissão Examinadora abaixo assinada, composta pelos Professores Doutores, Claudio de Souza /Orientador, Tarcizo Afonso Nunes, João Baptista de Rezende Neto, Cícero de Lima Rena, Maria Cristina Vasconcelos Furtado aprovou a defesa da Tese intitulada: **“EFEITOS DO CAMPO ELETROMAGNÉTICO DINÂMICO E DO ADESIVO DE FIBRINA, USADOS SEPARADAMENTE OU EM ASSOCIAÇÃO, SOBRE A CICATRIZAÇÃO DE ANASTOMOSES COLÔNIAS DE RATOS.”**, apresentada pelo Doutorando **LUIZ HENRIQUE SILVA BORSATO**, para obtenção do título de Doutor em Ciências Aplicadas à Cirurgia e à Oftalmologia, pelo Programa de Pós-Graduação em Ciências Aplicadas à Cirurgia e à Oftalmologia da Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Minas Gerais, realizada em 17 de dezembro de 2012.

Prof. Claudio de Souza

Orientador

Prof. Tarcizo Afonso Nunes

Prof. João Baptista de Rezende Neto

Prof. Cícero de Lima Rena

Prof. Maria Cristina Vasconcelos Furtado



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE JUIZ DE FORA**  
**PRO-REITORIA DE PESQUISA**  
 Comissão de Ética na Experimentação Animal

### **CERTIFICADO**

Certificamos que o Protocolo nº 041/2010 - CEEA sobre "ESTUDO DOS EFEITOS DO CAMPO ELETROMAGNÉTICO DINÂMICO E DO ADESIVO DE FIBRINA, USADOS SEPARADAMENTE OU EM ASSOCIAÇÃO, SOBRE A CICATRIZAÇÃO DE ANASTOMOSES INTESITINAIS. MODELO EXPERIMENTAL EM RATOS.", projeto de pesquisa sob a responsabilidade de CLÁUDIO DE SOUSA, está de acordo com os Princípios Éticos na Experimentação Animal, adotados pelo Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA), e foi aprovado pela COMISSÃO de ÉTICA NA EXPERIMENTAÇÃO ANIMAL (CEEA) da PRÓ-REITORIA DE PESQUISA/UFJF, em-reunião realizada em 19/11/2010.

### **CERTIFICATE**

We certify that the protocol nº 041/2010 - CEEA about "ESTUDO DOS EFEITOS DO CAMPO ELETROMAGNÉTICO DINÂMICO E DO ADESIVO DE FIBRINA, USADOS SEPARADAMENTE OU EM ASSOCIAÇÃO, SOBRE A CICATRIZAÇÃO DE ANASTOMOSES INTESITINAIS. MODELO EXPERIMENTAL EM RATOS" - CLÁUDIO DE SOUSA - is in agrêement with the Ethical Principles in Animal Research adopted by Brazilian College of Animal Experimentation (COBEA) and was approved by the PRÓ-REITORIA DE PESQUISA/UFJF - ETHICAL COMMITTEE FOR ANIMAL RESEARCH (CEEA) in 19/11/2010.

Juiz de Fora, 19 de novembro de 2010.

Presidente/CEEA

Secretário/CEE A