

ÂNGELA APARECIDA BARRA

ESTUDO DAS VILOSIDADES EM  
SEGMENTOS DO INTESTINO DE RATOS  
APÓS A CONFECÇÃO DE ESFÍNCTERES

Belo Horizonte  
Universidade Federal de Minas Gerais

2007

ÂNGELA APARECIDA BARRA

ESTUDO DAS VILOSIDADES EM SEGMENTOS DO  
INTESTINO DE RATOS APÓS A CONFECÇÃO DE  
ESFÍNCTERES

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Cirurgia, da Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Minas Gerais, como requisito parcial à obtenção do grau de Mestre em Medicina. Área de Concentração: Etiofisiopatologia Cirúrgica

Orientador: Prof. Dr. Alcino Lázaro da Silva

Belo Horizonte

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS  
(2007)

Barra, Ângela Aparecida

Estudo das vilosidades em segmentos do intestino de ratos após a confecção de esfínteres / Ângela Aparecida Barra ; orientador: professor Alcino Lázaro da Silva. -- 2007.

xiv, 61 f.

Dissertação (Mestre em Medicina) – Faculdade de Medicina, Universidade Federal de Minas Gerais.

1. Mucosa intestinal. 2. Ratos. I. Silva, Alcino Lázaro da, orientador. II Título.

CDU 591.434-018.7

## **UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS**

### **REITORIA**

Reitor: Prof. Ronaldo Tadeu Pena

Vice-Reitora: Prof<sup>a</sup>. Heloisa Maria Murgel Starling

Pró-Reitor de Pós-Graduação: Prof. Jaime Arturo Ramirez

Pró-Reitor de Pesquisa: Prof. Carlos Alberto Pereira Tavares

### **FACULDADE DE MEDICINA**

Diretor: Prof. Francisco José Penna

Vice-Diretor: Prof. Tarcizo Afonso Nunes

### **CENTRO DE PÓS-GRADUAÇÃO**

Coordenador: Prof. Carlos Faria Santos Amaral

Sub-coordenador: Prof. João Lúcio dos Santos Jr.

### **DEPARTAMENTO DE CIRURGIA**

Chefe: Prof. Walter Antônio Pereira

### **COLEGIADO DO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIRURGIA**

Prof. Edson Samesima Tatsuo (Coordenador)

Prof. Alcino Lázaro da Silva

Prof. Andy Petroianu

Prof. Marcelo Dias Sanches (Sub-coordenador)

Prof. Marco Antônio Gonçalves Rodrigues

Prof. Tarcizo Afonso Nunes

Mestrando Juliano Alves Figueiredo (representante discente)

Ângela Aparecida Barra (mestranda)

ESTUDO DAS VILOSIDADES EM SEGMENTOS DO INTESTINO DE  
RATOS APÓS A CONFECÇÃO CIRÚRGICA DE ESFÍNCTERES

Dissertação apresentada para a defesa perante a Banca examinadora,  
constituída por:

---

Prof. Murched Omar Taha (UNIFESP)

---

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

---

Prof. Dr. Alcino Lázaro da Silva. UFMG (Orientador)

## **DEDICATÓRIA**

Para Maria Antônia...

## AGRADECIMENTOS

Ao Professor Dr. Alcino Lázaro da Silva, um exemplo a ser seguido, pelo apoio e orientação durante a elaboração desse trabalho

A todos os Professores que contribuíram para a minha formação profissional

Aos meus colegas de equipe, Dra. Maria Cristina Vasconcelos Furtado e Dr. Cícero de Lima Rena, pelo empenho, dedicação e estímulo na elaboração e execução deste trabalho

Aos Professores e funcionários do Biotério do Centro de Biologia da Reprodução da Universidade Federal de Juiz de Fora

A Professora Vera Maria Peters, Bióloga, Doutora em Embriologia Animal, Mestre em Histologia e Embriologia

A Professora Martha de Oliveira Guerra, Médica, Doutora em Morfologia

A Professora Ângela Maria Gonçalves Felga, Médica, Mestre em Patologia

A Professora Floripes Maria Cardoso Rosman da Disciplina de Histologia

A Bióloga Velise Rocha de Souza Almeida, especialista em fármacos e medicamentos, técnica em laboratório

Ao Paulo Sérgio do Carmo, bioterista

A Rosimar Rodrigues de Azevedo, técnica em laboratório

Ao Guilherme Duim Riane, técnico em laboratório de anatomia patológica

Ao acadêmico de medicina, bolsista do CBR, Rafael Moraes Pinto que colaborou na realização das medidas morfométricas

A Professora Jane Azevedo da Silva, mestre em Bioestatística e Adjunta do Departamento de Estatística da Escola de Engenharia da UFJF

À minha família



“Quando nada é certo, tudo é possível”

Margareth Drabble

# INDICE

1 - INTRODUÇÃO	1
2 - REVISÃO DA LITERATURA	4
3 - OBJETIVOS	12
4 - MÉTODOS	14
4.1 - Animais	15
4.1.1 - Grupos de Estudo	15
4.2- Procedimento	18
4.2.1 - Pré-operatório e anestesia	18
4.2.2 - Procedimento cirúrgico	18
4.2.3 - Cuidados pós-operatórios	22
4.2.4 - Eutanásia	22
4.3 - COLHEITA E PROCESSAMENTO DO MATERIAL	23
4.4 - ANÁLISE ESTATÍSTICA	27
5 - RESULTADOS	29
5.1 - Análise do parâmetro peso	30
5.2 - Análise do parâmetro diâmetro	30
5.3 - Estudo das vilosidades	32
6 - DISCUSSÃO	35
7 - CONCLUSÃO	40
8 - SUMMARY	42
9 - REFERÊNCIAS	44
10 - APÊNDICE	52
11 - ANEXOS	58

## **LISTA DE ABREVIATURAS**

ANOVA - Análise de variância

DII - Doença inflamatória intestinal

GL - Gay Lussac

LSD - Menor diferença significativa

NPT - Nutrição parenteral total

SIC - Síndrome do intestino curto

SPSS - *Statistical package for social sciences*

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1	Desenho esquemático de segmento de intestino humano com representação das sermiotomias (B e C). A régua representa a distância em cm entre a anastomose (A) e as sermiotomias	16
Figura 2	Representação esquemática do fio de sutura (setas azuis) entre a borda proximal da sermiotomia proximal e a borda distal da sermiotomia distal (E1 e E). Anel seromuscular X	16
Figura 3	Sutura parcial das sermiotomias (seta) A: Linha da anastomose X:- Anel intermediário das sermiotomias parcialmente sepultado	17
Figura 4	Sutura das bordas das sermiotomias com anel seromuscular sepultado. (setas)	17
Figura 5	Sermiotomias (Setas) para confecção de esfíncter proximal em animal do grupo B	20
Figura 6	Sutura das bordas cruentas das sermiotomias para confecção de esfíncter proximal em animal do grupo B	20
Figura 7	Aspecto final da confecção dos esfíncteres proximal (A) e distal (B) em animal do grupo B	21
Figura 8	Aspecto final da confecção do esfíncter (A) em animal do grupo C	21
Figura 9	Segmento intestinal contendo o esfíncter proximal (A) e a distal (B) do grupo B no dia da eutanásia	24
Figura 10	Apresentação dos esfíncteres proximal (A) e distal (B) em animal do grupo B na face mucosa	24

- Figura 11 Apresentação do esfíncter na face mucosa de peça do animal do grupo C (seta) 25
- Figura 12 Fotomicrografia das cinco vilosidades do segmento intermediário em animal do grupo B 27

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1	Tempo para a morte, em dias, dos animais dos grupos B e C	23
Tabela 2	Comparação do peso dos ratos, em gramas, no pré e pós-operatório dos grupos B e C	29
Tabela 3	Medidas de diâmetro das alças, em milímetros, entre o pré e pós-operatório dos grupos B e C.	30
Tabela 4	Média da altura das vilosidades dos segmentos, em milimicra, dos Grupos A, B e C	31
Tabela 5	Comparação das médias, em milimicra, da altura das vilosidades entre os segmentos dos Grupos A, B e C	32
Tabela 6	Média das medidas, em milimicra, da altura das vilosidades dos três grupos estudados	53
Tabela 7	Peso dos animais, em gramas, do grupo B pré-operatório e pós-operatório.	54
Tabela 8	Medida, em milímetros, do diâmetro de alças dos animais do grupo B	55
Tabela 9	Pesos, em gramas, dos animais do grupo C	56
Tabela 10	Medida, em milímetros, dos diâmetros de alças dos animais do grupo C	57

## RESUMO

As alterações da camada mucosa ocorrem quando as alças do intestino delgado são submetidas a trauma cirúrgico com ressecção de um segmento. Esta pesquisa buscou identificar a resposta das vilosidades em segmentos de intestino de ratos submetidos à confecção de esfíncteres. Foram utilizados 30 ratos, Wistar adultos, machos e distribuídos em três grupos de 10 animais. Do grupo controle (A) foi retirado um segmento do intestino distal para comparação com os grupos operados. Em outro grupo (B) foram confeccionados dois esfíncteres localizados a 100 milímetros e 150 milímetros da junção ileocecal. No terceiro grupo (C) foi realizada a confecção de apenas um esfíncter distante 100 milímetros da junção ileocecal. Entre o 10<sup>o</sup> e o 14<sup>o</sup> dia os animais foram, novamente, operados para retirada de segmento intestinal envolvendo os locais dos esfíncteres. Os animais foram pesados antes da realização das duas operações. Medidas dos diâmetros das alças foram tomadas nos atos operatórios antes e após o procedimento. O exame histopatológico permitiu a observação da altura das vilosidades medidas com auxílio de morfometria dos segmentos pré-esfíncter proximal, intermediário e pós-esfíncter distal do grupo B; pré-esfíncter pós-esfíncter do grupo C e com o segmento do grupo controle. Os resultados mostraram um aumento da média de altura das vilosidades para os segmentos pré e pós-esfíncter dos grupos B e C quando comparados com o grupo A. O segmento intermediário do grupo B não mostrou significância em relação ao controle, mostrando, no entanto em relação aos segmentos pré e pós-esfíncter dos grupos operados. Os animais de ambos os grupos apresentaram ganho ponderal e aumento do diâmetro da alças.



# 1-INTRODUÇÃO

A pesquisa pioneira do professor Di Dio nos meados do século passado serviu de estímulo para inúmeras outras pesquisas relativas ao estudo do “píloro ileocecal”. O conhecimento do mecanismo de fechamento e abertura da papila foi dissecado em laboratórios e em experimentos na busca de encontrar substituto para a sua função, tal sua importância na transição do intestino delgado para o intestino grosso. O interesse aumentou quando se iniciou a aplicação dos conhecimentos resultantes desses estudos em pacientes que apresentavam “pressa abdominal” após ressecções extensas de intestino que limitavam as atividades habituais.<sup>1</sup>

Ressecções maciças do intestino delgado são, por vezes, necessárias em pacientes acometidos por processos isquêmicos extensos com grandes áreas de gangrena e outras causas.<sup>2</sup> A resultante Síndrome do Intestino Curto (SIC) não é uma entidade clínica precisamente definida pelo comprimento residual de intestino delgado, mas por um somatório de sinais e sintomas caracterizado primariamente por diarreia intratável, desidratação, perda de peso e má-absorção de nutrientes. Embora haja uma considerável variação individual, em geral a ressecção de até 75% pode ser tolerada se forem preservados o íleo terminal e a válvula íleo-cecal.<sup>3,4</sup>

Após a ressecção intestinal, o segmento remanescente passa por processo de adaptação que envolve hiperplasia e hipertrofia compensatórias da mucosa a fim de aumentar a capacidade da superfície absorptiva. Medidas clínicas como controle hidroeletrolítico e início de terapia nutricional, apresentam resposta satisfatória para a fase inicial da enfermidade.<sup>5</sup>

A abordagem terapêutica dos portadores da SIC implica em atuação multidisciplinar. Frequentemente, os cirurgiões são chamados para contribuir

no tratamento de pacientes que requerem novas intervenções com finalidade de viabilizar o trato intestinal e o retorno da ingestão oral de alimentos.<sup>3, 4</sup>

Procedimentos cirúrgicos aliados ao suporte nutricional foram propostos e não existem ainda resultados definitivos e satisfatórios. A estratégia cirúrgica deve ser empregada para situações específicas. Interposição de colo, reversão de segmento intestinal, enteroplastia, bipartição de segmento dilatado e enteroplastia transversa seriada e transplante intestinal são algumas das opções técnicas que podem ser empregadas. A confecção de válvulas e esfíncteres tem indicação principalmente quando a área remanescente é suficiente, mas a velocidade do trânsito é acelerada dificultando o processo de absorção.<sup>5</sup>

Dentre as propostas de confecção de esfíncteres, Rena *et al* propuseram a realização de sermiotomias duplas com sepultamento de anel muscular entre as sermiotomias objetivando o controle da velocidade do trânsito e o impedimento de refluxo colo-entérico por mecanismo de contração e relaxamento do anel muscular. Os resultados obtidos em pacientes portadores de SIC foram animadores e nos pacientes nos quais o procedimento teve por finalidade substituir a válvula ileocecal não apresentaram complicações ou intercorrências.<sup>6</sup> O presente estudo propõe analisar a morfometria das vilosidades intestinais após o emprego da técnica descrita por Rena *et al*.

## 2-REVISÃO DA LITERATURA

A SIC é caracterizada por um conjunto de distúrbios metabólicos decorrentes da perda de área de absorção do trato gastrointestinal devido a ressecções anatômicas extensas ou por incapacidade funcional como na Doença Inflamatória Intestinal (DII) ou enterite actínica. Estudos com 61 pacientes adultos com diagnóstico de SIC mostraram que as causas mais freqüentes da ressecção foram: trombose ou infarto mesentérico, 17 casos (28%); Doença de Crohn, 16 casos (26%); trauma, 12 casos (20%); aderências levando a obstrução oito casos (13%); anomalias congênitas cinco pacientes (8%) e outras causas três pacientes (5%)<sup>2</sup>. Em crianças, as causas da SIC foram enterite necrótica, em 13 pacientes (43%) e 17 recém-nascidos tinham má-formação intestinal (57%).<sup>7</sup>

A incidência de acometimento da SIC é desconhecida. Um percentual identificado está relacionado ao número de pacientes em uso de terapia nutricional domiciliar. Nos EUA, estão cadastrados, em programas de terapia nutricional domiciliar, 120 por milhão e estima-se que 25% desses são portadores de SIC. Entretanto existe um percentual não estimado o que não permite estabelecer, com segurança, sua prevalência.<sup>8</sup>

As manifestações clínicas da SIC já estão bem estabelecidas e culminam com desnutrição protéico-calórica grave. A doença primária que levou a perda do segmento ressecado; a extensão da ressecção; a permanência da válvula ileocecal e a capacidade individual de reabilitação do segmento remanescente são fatores que interferem na instalação do quadro de desnutrição.<sup>3</sup>

Pacientes submetidos a grandes ressecções que necessitam receber NPT por período superior a três meses podem ser caracterizados como

portadores de SIC. Outro critério que caracteriza a síndrome está baseado no percentual da perda intestinal. Ressecção superiores a 75% da extensão do intestino delgado caracterizam os portadores da SIC.<sup>5</sup>

Com o advento da NPT, a sobrevivência dos pacientes submetidos a grandes ressecções do trato gastrointestinal aumentou, permitindo o acompanhamento da evolução desses.<sup>3, 4</sup> Assim, foi possível iniciar estudos sobre o restabelecimento do segmento remanescente do intestino. Desde o início, investigadores observaram tanto no homem como em animais, ocorria uma atenuação dos sintomas da SIC com o passar do tempo. Essa atenuação foi atribuída ao aumento da capacidade de absorção do intestino remanescente, dita adaptação intestinal. A adaptação intestinal começa 24 horas a 48 horas após a ressecção e continua por um período de um ano a dois anos. É caracterizada pelo alongamento e dilatação do intestino remanescente, aumento dos vilos, depressão das criptas, proliferação celular e atividade enzimática.<sup>9,10</sup> Acredita-se que a exposição da mucosa remanescente a nutrientes luminares, efeitos de alguns aminoácidos e hormônios, por via parenteral, influenciam no mecanismo de adaptação intestinal.<sup>8, 11</sup> Uma forte evidência da ação do alimento em contato com a superfície absorptiva deve-se a pesquisa desenvolvida com animais com uso de NPT exclusiva quando foi observada ausência da adaptação intestinal e atrofia da mucosa nos animais sem a dieta oral.<sup>5, 12</sup>

A adaptação intestinal têm sido monitorada com a dosagem de marcadores específicos para segmentos ileais ou jejunais, além de marcadores de sítios específicos como vilos, criptas e enterócitos com utilização de técnicas de imunohistoquímica em estudos experimentais. Em humanos a

resposta adaptativa ainda não está caracterizada. A absorção aumentada de nutrientes foi documentada, porém o papel das modificações morfológicas não foi mostrado de maneira conclusiva.<sup>12-14</sup>

O controle dos sintomas da SIC e o suporte nutricional, principalmente enteral permitem a introdução de fatores que estimulam a adaptação intestinal. Existem fatores reguladores e aminoácidos específicos que contribuem para a readaptação do intestino. Destaque tem sido dado à glutamina, aminoácido não essencial considerado o combustível do enterócito, no entanto, alguns trabalhos apresentam controvérsias quanto ao uso de glutamina na SIC por não apresentar resultados conclusivos em relação aos benefícios de sua administração.<sup>9, 11, 12, 15</sup>

O uso prolongado da NPT pode causar alterações hepáticas, infecções graves por translocação bacteriana, além de dificuldades de acesso venoso que comprometem a sobrevida dos pacientes, sobretudo em crianças. Deve-se considerar também o alto custo dessa terapia, com menor grau de importância. Procedimentos cirúrgicos fazem parte de linhas de pesquisa que visam restabelecer a autonomia intestinal e a suspensão da terapia nutricional prolongada.<sup>7, 10, 11</sup>

O transplante intestinal tornou-se a melhor opção para a substituição da área absorptiva perdida, porém encontra-se longe sua aplicabilidade clínica rotineira. Nas fases iniciais de sua realização estava associado a um alto índice de mortalidade. Atualmente, os resultados são promissores com taxas de 76,9% de sobrevida no primeiro ano pós enxerto e 66,5% em cinco anos.<sup>9,10,12,16</sup>

Os procedimentos cirúrgicos auxiliares podem ser distribuídos conforme a meta desejada. Existem opções que procuram recuperar a função intestinal, aumentando a superfície absorptiva do intestino remanescente ou controlando o tempo do trânsito intestinal. A escolha do procedimento cirúrgico é também influenciada pelo comprimento, calibre e função do remanescente intestinal. Nos casos de remanescente com comprimento adequado e dilatação intestinal acentuada com redução da peristalse, permitindo colonização de segmento intestinal com eventual super crescimento bacteriano, pode ser realizada a enteroplicatura ou retirada em extensão de uma faixa da parede da alça na face anti-mesentérica, promovendo seu afinamento, conhecida com enteroplastia. Quando se têm um segmento de intestino remanescente curto e dilatado pode-se utilizar técnicas de alongamento. Para as situações de remanescente intestinal curto em pacientes que apresentam complicações inerentes a NPT prolongada o transplante de intestino é a solução. Quando o intestino remanescente possui comprimento moderado, porém o trânsito dos alimentos está acelerado têm-se as opções de confecção de válvulas, esfíncteres, reversão de segmentos intestinais e interposição do colo<sup>17,18</sup>.

O alongamento intestinal, descrito por Bianchi, tem sido empregado, sobretudo em crianças. Necessita de uma dilatação do intestino remanescente maior que 4cm, para que a bipartição longitudinal do intestino na face antimesentérica e a tubulização dos segmentos bipartidos possa ser realizada com posterior anastomose dos mesmos.<sup>16, 19</sup>

Outra técnica para realizar o aumento do comprimento do intestino remanescente foi descrita por Kim. Consiste na clipagem em ziguezague,



perpendicular ao maior eixo da alça, conhecida como enteroplastia segmentar transversa.<sup>20, 21</sup>

Para o remanescente intestinal que possui uma extensão moderada, maior que 100cm, porém o trânsito se faz de forma acelerada ou houve perda do papila íleo cecal, existem propostas cirúrgicas que têm por finalidade aumentar o tempo do trânsito intestinal. Com o aumento do tempo de exposição dos alimentos à superfície absorptiva há a possibilidade de maior absorção dos nutrientes.<sup>17</sup> As principais técnicas descritas para controle da velocidade do trânsito são:

### **Interposição de segmento do intestino grosso**

Essa técnica procura transpor um segmento distal do colo de 8cm a 24cm para a alça do intestino delgado com intenção de reduzir o trânsito naquele segmento, pois os movimentos peristálticos do colo são mais lentos. A interposição deve ser posicionada no sentido isoperistáltico reduzindo o risco de obstrução.<sup>9</sup> O resultado tardio desta técnica revela uma delgatização do segmento de intestino grosso interposto.<sup>22</sup>

### **Reversão de segmento do intestino delgado**

Técnica que busca o retardo do trânsito utilizando um segmento de intestino delgado revertido no sentido antiperistáltico. A extensão deste deve ser de até 10cm aproximadamente, reduzindo os riscos de obstrução intestinal. A localização do segmento a ser revertido deverá ser o mais distalmente possível no intestino remanescente.<sup>9</sup> O procedimento revelou ser adjuvante para a suspensão parcial ou total do uso de NPT a médio e longo prazo.<sup>23</sup>

## **Válvulas e esfíncteres do intestino**

Existem inúmeras técnicas descritas para a criação de um mecanismo semelhante, morfológica ou funcionalmente, ao esfíncter ileocecal. Dessa forma criar-se-ia um controle do tempo de trânsito intestinal e impedir o refluxo do conteúdo colônico para o segmento de intestino delgado, evitando a contaminação da flora bacteriana do colo para o segmento distal do intestino delgado.<sup>24</sup> As primeiras publicações datam de 1942, quando Glassman descreveu a ressecção circular da camada seromuscular do intestino delgado do cão e mostrou a capacidade de impedir o refluxo colônico.<sup>25</sup> Pode-se conseguir tal efeito por constrição externa com o uso de sutura ou prótese envolvendo a alça, desnervação química ou cirúrgica de um segmento, tunelização da submucosa, miectomia circular ou longitudinal, seromiectomia ou seromiotomia.<sup>26</sup>

Schiller, Di Dio e Anderson, em 1967, comprovaram a redução da velocidade do trânsito intestinal em cães ressecados, ao realizar a remoção de 1cm das camadas serosa e muscular longitudinal, circunferencialmente, a 10cm da sutura da anastomose término-terminal.<sup>27</sup>

Lázaro da Silva, em 1974, realizou uma seromiectomia para controle de síndrome de “dumping” com sucesso em pacientes gastrectomizados<sup>28</sup>. Em 1991, o mesmo autor confeccionou válvulas mucosas continentes em pacientes submetidos à amputação abdominoperineal do reto. O resultado apresentado mostrou ser eficaz no controle do efluxo intestinal.<sup>29</sup>

Kapritchkoff, Stachini e Cruz, em 1977, propuseram técnica modificada de Shiller, Di Dio e Anderson ao realizarem um pregueamento da camada muscular circular e aproximação da área cruenta confeccionando um piloro

para tratamento da síndrome de “dumping”.<sup>30</sup> Em 1982 e 1986, Stachini e cols. publicaram resultado de controle de trânsito intestinal de cães submetidos a ressecção de 85% do intestino delgado e confecção de esfíncter com a extirpação perimetral de 1cm das camadas muscular longitudinal e circular em um local e em dois locais do intestino remanescente.<sup>31, 32</sup>

Em trabalho publicado, em 1996, Rena *et al.* apresentaram a criação de piloro em substituição a perda da válvula ileocecal nas ressecções do colo direito e íleo terminal em 20 pacientes. Na publicação, em quatro casos a técnica foi usada para tratamento de SIC. Em um dos pacientes, portador de DII foram realizados dois piloros há 2cm e 12cm do orifício da ileostomia terminal. Os resultados satisfatórios no controle da SIC dos 4 pacientes e a ausência de complicações ou intercorrências nos pacientes onde o esfíncter substituiu a ressecção da válvula íleo-cecal incentivaram a necessidade de avaliar as alterações decorrentes da execução deste procedimento, motivo da elaboração dessa pesquisa.<sup>6</sup>

## 3-OBJETIVOS

Analisar as alterações da camada mucosa do intestino de ratos submetidos à confecção cirúrgica de “esfíncteres artificiais”.

## 4-MÉTODOS

## **4.1-ANIMAIS**

Foram utilizados 30 ratos da raça *Rattus norvegicus albinus*, linhagem Wistar, adultos, machos e com peso médio de 261,47g, obtidos na colônia do Biotério do Centro de Biologia da Reprodução da Universidade Federal de Juiz de Fora.

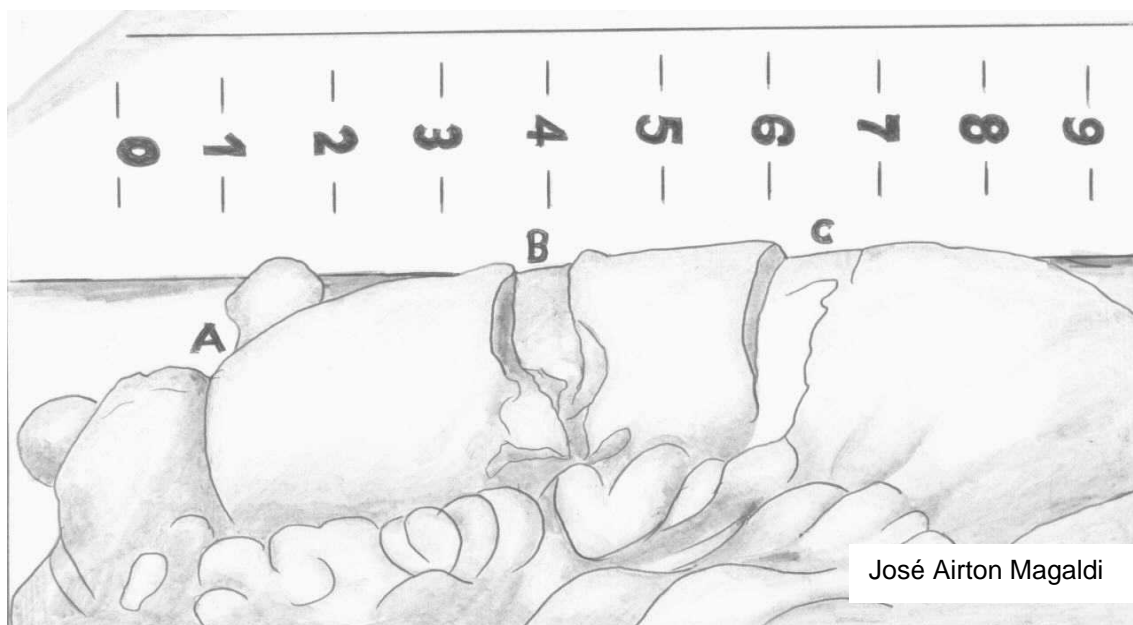
O Biotério de Experimentação do Centro de Biologia da Reprodução possui cadastro no Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA), Para desenvolver projetos em suas dependências é necessária a aprovação do Comitê de Ética e Experimentação Animal da UFJF, recebendo todo o acompanhamento técnico de profissionais com formação específica na área de bioterismo.

### **4.1.1-Grupos do estudo**

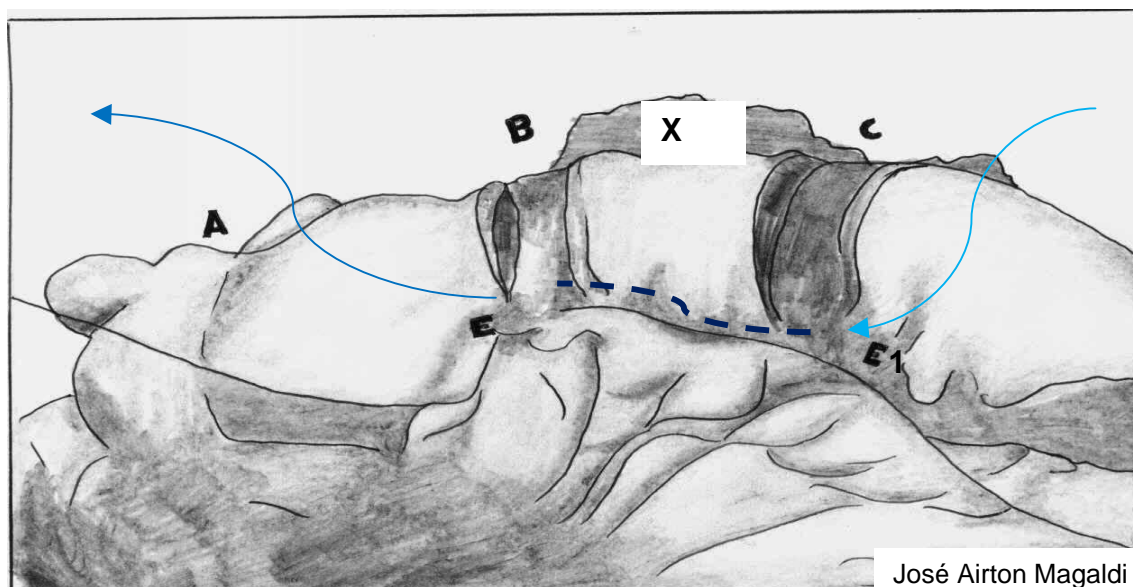
Os animais foram divididos em três grupos de 10 animais cada. Um grupo controle denominado grupo A foi realizada apenas ressecção de segmento distal do intestino delgado de 20 milímetros de comprimento para gabarito das medidas da altura das vilosidades do intestino.

Em outro grupo, grupo B, foram realizados a confecção de dois esfíncteres em pontos previamente determinados do jejuno, descrito abaixo conforme a técnica realizada e publicada por Rena *et al* (FIG 1, 2, 3 e 4).

No grupo C confeccionou-se um único esfíncter a 100 milímetros da junção íleo-cecal.

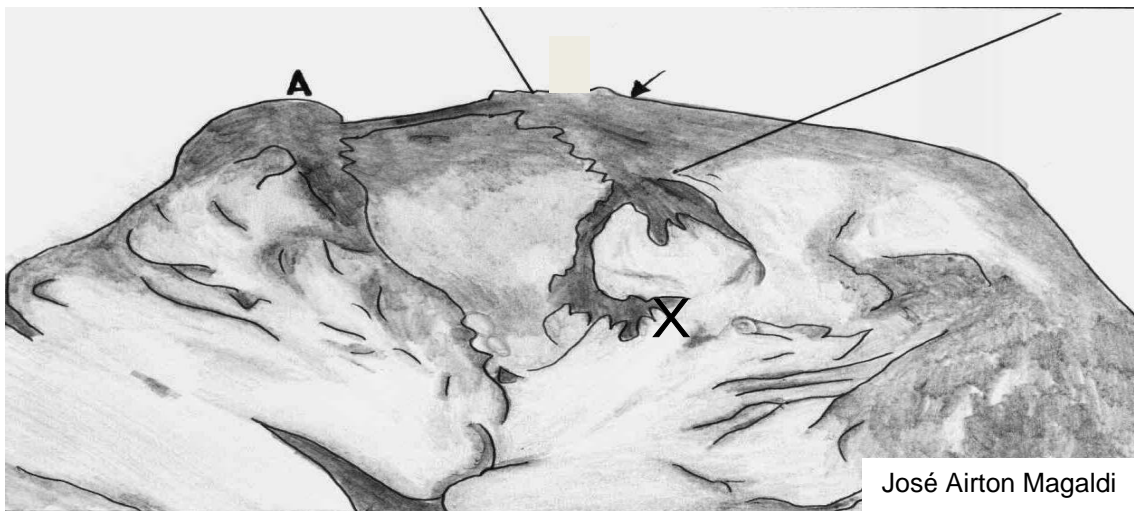


**Figura 1** – Desenho esquemático do segmento de intestino humano com representação de sermiotomias (B e C). A régua representa a distância em centímetros entre a anastomose (A) e as sermiotomias

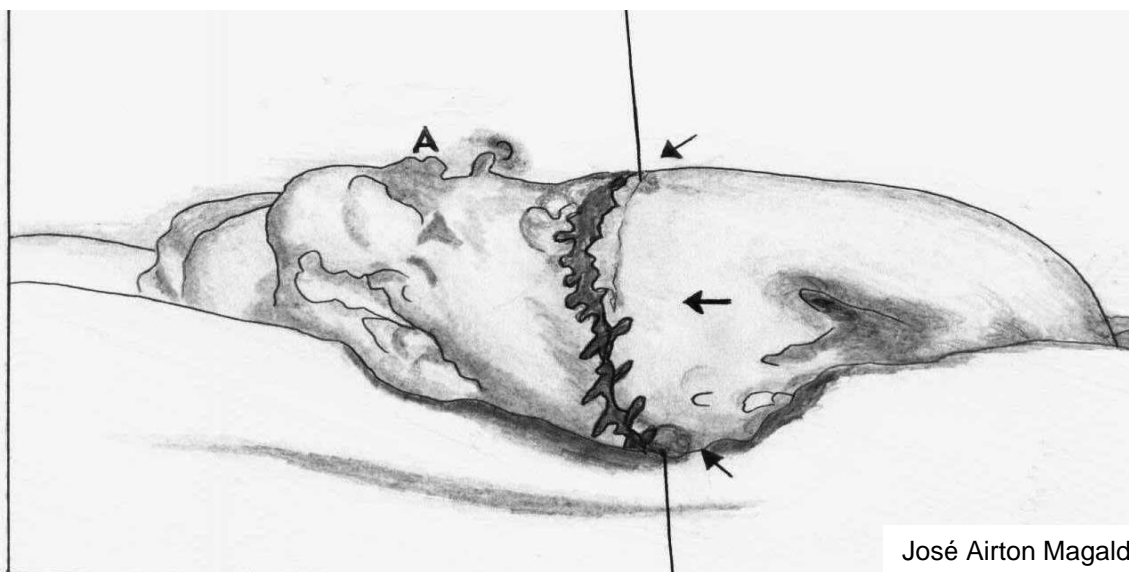


**Figura 2** - Representação esquemática do fio de sutura (setas azuis) entre a borda proximal da sermiotomia proximal e a borda distal da sermiotomia distal (E1 e E). Anel seromuscular (X)





**Figura 3** - Sutura parcial das seromiotomias (seta)  
A: Linha da anastomose íleo-cólica.  
X:- Anel intermediário da seromiotomias parcialmente sepultado.



**Figura 4** - Sutura das bordas das seromiotomias com anel seromuscular sepultado.(setas)

## **4.2-PROCEDIMENTO**

### **4.2.1-Pré-operatório e anestesia**

Os animais foram submetidos a jejum absoluto de 12h noturnas para o procedimento cirúrgico realizado sempre pela manhã. Antes da cirurgia, foram feitas a pesagem e raspagem dos pêlos da região ventral, com utilização de aparelho elétrico específico para este fim. A área a ser operada foi limpa e desinfetada com álcool a 70<sup>o</sup> GL. A técnica anestésica usada foi a de dose única de injeção intraperitoneal de 10mg/kg de xilazina e 90mg/kg de ketamina. Após a constatação do estado de anestesia, os animais foram submetidos ao procedimento<sup>33</sup>.

### **4.2.2-Procedimento cirúrgico**

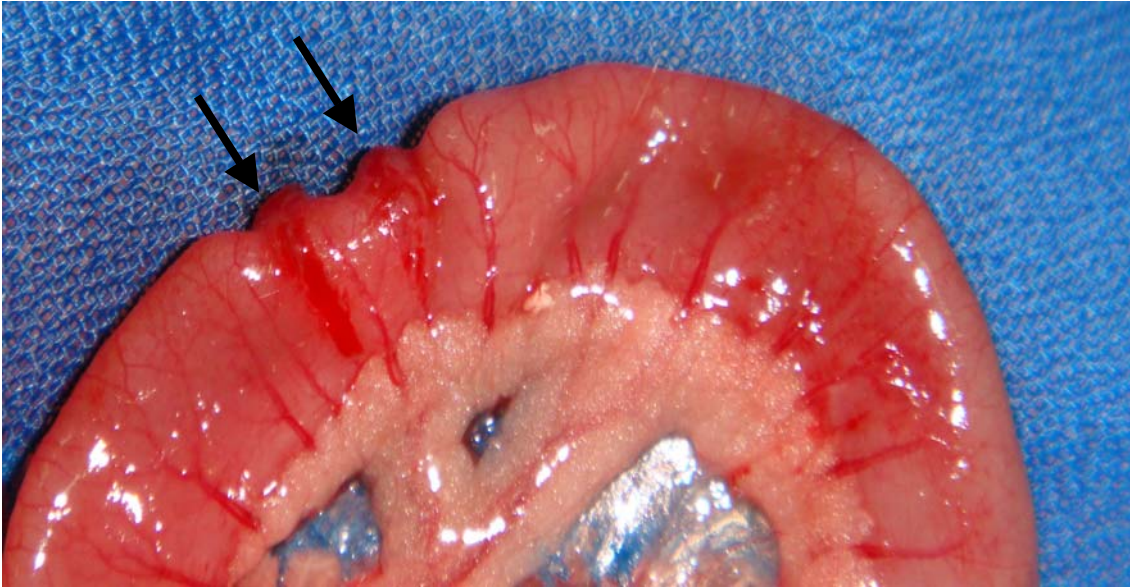
Constatado o plano anestésico, o rato era posicionado na mesa cirúrgica, em decúbito dorsal. Realizada incisão abdominal mediana longitudinal, de 2cm de extensão, abrangendo pele e tela subcutâneo. Os músculos foram afastados na linha mediana utilizando-se tesoura e a cavidade peritoneal foi atingida. Identificados o ceco e o íleo terminal, procedeu-se a medida do diâmetro da alça intestinal nos locais marcados para a confecção dos esfíncteres usando régua milimetrada posicionada perpendicular a alça projetada pela polpa digital do cirurgião. Uma lupa de aumento de quatro vezes foi empregada par auxiliar a realização do procedimento.

Nos animais do grupo A, em uma única intervenção, a partir de 100 milímetros da junção íleo-ceco-cólica, foi retirado de cada animal um segmento do intestino de 20 milímetros de comprimento para medida da altura das vilosidades.

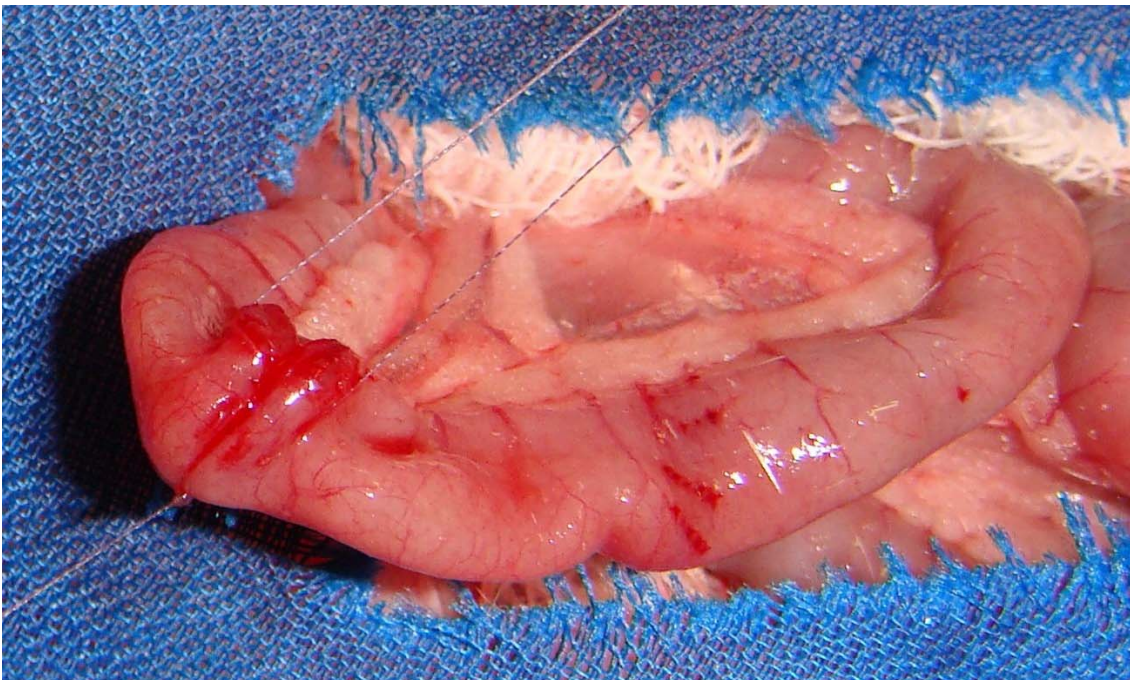
Nos animais do grupo B, a 100 milímetros da junção íleo-ceco cólica, foram realizadas duas seromiotomias circunferenciais, interessando as camadas serosa e muscular separada, por dois milímetros de parede seromuscular intestinal íntegra, com uso de bisturi oftalmológico (FIG. 5). A borda cruenta proximal da seromiotomia proximal foi suturada à borda cruenta distal da seromiotomia distal com pontos separados de ácido poliglicólico 5.0 (FIG. 6), confeccionado-se um primeiro esfíncter. Um segundo esfíncter foi confeccionado a 150 milímetros da junção íleo-ceco-cólica, com a técnica descrita anteriormente. (FIG. 7)

Nos animais do grupo C, aplicando a mesma técnica do grupo anterior foi confeccionado um esfíncter localizado a 100 milímetros da junção íleo-ceco-cólica (FIG.8).

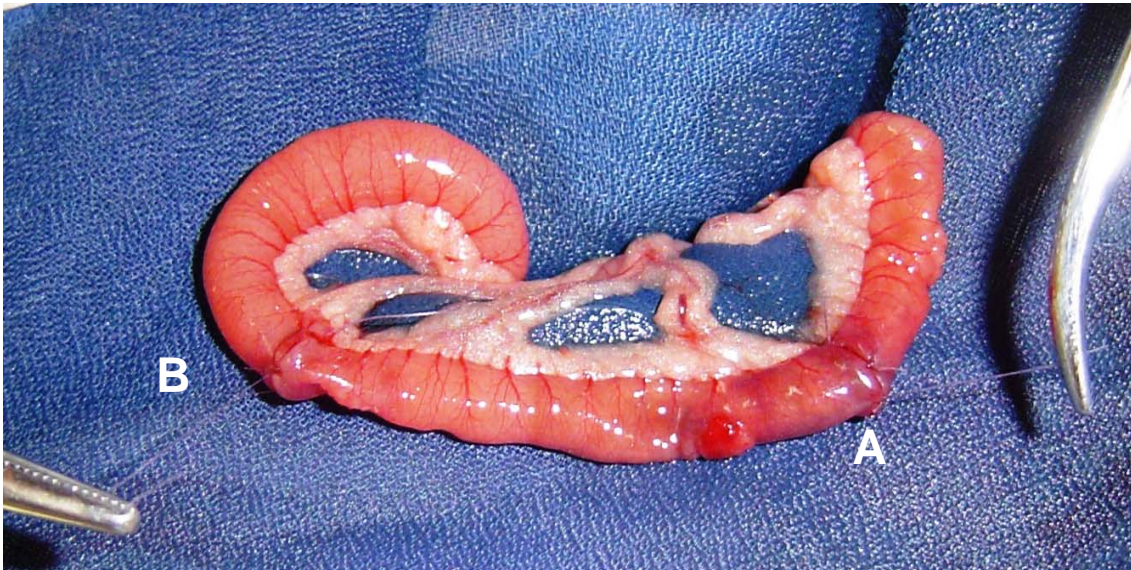
Após inventário da cavidade abdominal, a parede foi suturada em dois planos, por suturas contínuas, com fio de seda 3.0.



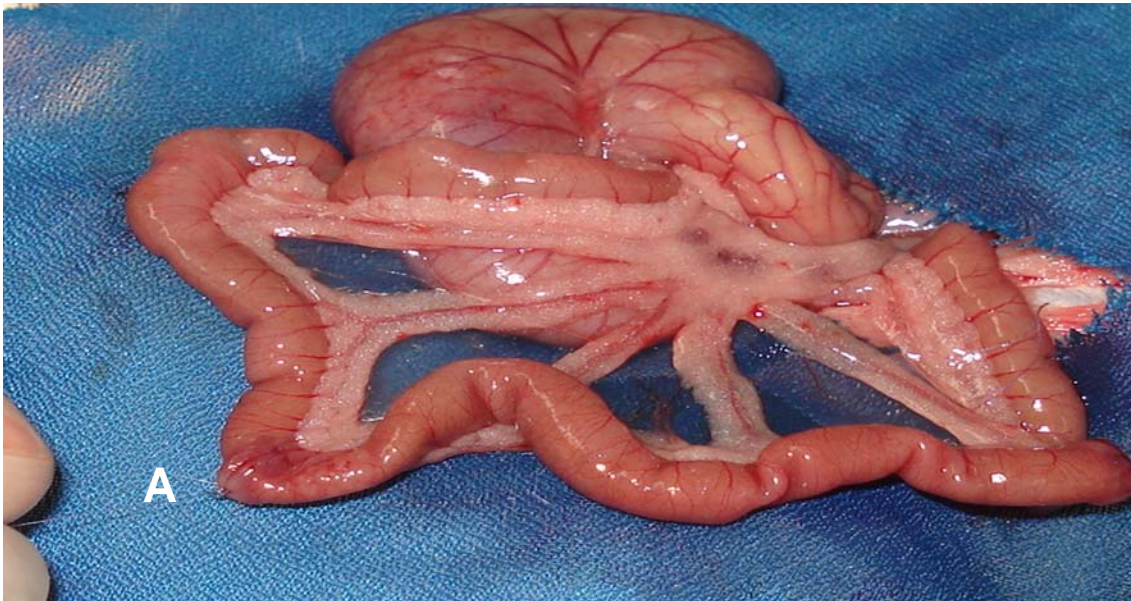
**Figura 5** - Seromiotomias (Setas) para confecção de esfíncter proximal em animal do grupo B



**Figura 6** - Sutura das bordas cruentas das seromiotomias para confecção de esfíncter proximal em animal do grupo B



**Figura 7** - Aspecto final da confecção dos esfíncteres proximal (A) e distal (B) em animal do grupo B



**Figura 8** - Aspecto final da confecção do esfíncter (A) em animal do grupo C

### **4.2.3-Cuidados pós-operatórios**

Após a operação, os animais eram mantidos em gaiolas apropriadas, evitando-se a hipotermia e aspiração de pó proveniente de maravalhas.

A alimentação oferecida foi composta de água “*ad libitum*”, alimentação pastosa (ração umedecida e triturada) nos dois primeiros dias, e ração seca a partir do terceiro dia. Os animais foram observados quanto ao ritmo intestinal apresentado. O volume diário das fezes não foi pesado.

O analgésico para os animais foi dissolvido na água disponível no bebedouro, conforme preconizado pelo “Canadian Council on Animal Care” (CCAC).<sup>32</sup>

### **4.2.4- Eutanásia**

Entre o 10<sup>o</sup> e o 14<sup>o</sup> dia os animais foram levados à nova intervenção seguida de óbito (TAB 1). Foi realizada nova pesagem desses animais.

Após a raspagem dos pêlos da parede do abdome, quando necessária, os animais foram anestesiados da mesma forma que para a cirurgia.

Em seguida, os animais foram submetidos à laparotomia para colheita das peças para os estudos. Identificava-se na extensão da alça e os esfíncteres. Procedia-se a medida dos diâmetros tomadas a 5 milímetros da linha de sutura com o emprego da técnica para a medida na primeira intervenção. Após a retirada do material (peças cirúrgica) foi realizada punção cardíaca levando ao óbito por exanguinação.

**TABELA 1** - Tempo para a morte, em dias, dos animais dos grupos B e C.

Animal	Grupo B	Grupo C
1	12	12
2	11	12
3	13	12
4	13	12
5	13	12
6	11	12
7	11	12
8	14	12
9	13	12
10	13	10
Mínimo	11	10
Máximo	14	12
M $\pm$ DPM	12,4 $\pm$ 1,07	11,8 $\pm$ 0,63

Grupo B: animais submetidos à seromiotomia dupla em dois locais

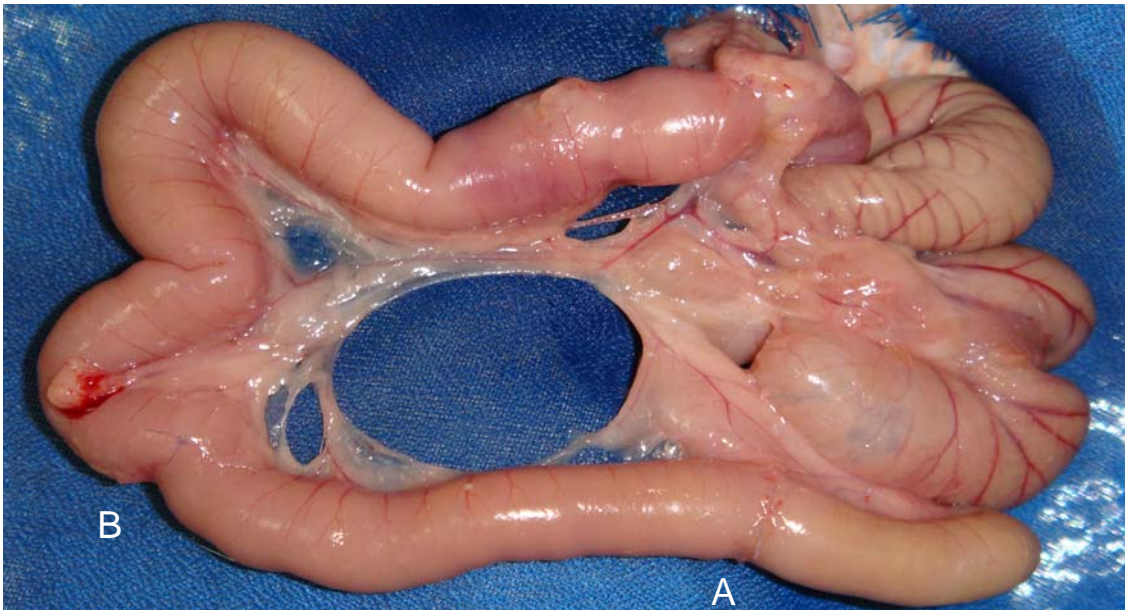
Grupo C: animais submetidos à seromiotomia dupla em um local

M  $\pm$  DPM: média e desvio padrão da média.

### 4.3-COLHEITA E PROCESSAMENTO DO MATERIAL

Foram ressecados os esfíncteres e segmentos intestinais de, aproximadamente, 10 milímetros proximal e distalmente aos esfíncteres (FIG. 9).

Os segmentos intestinais eram abertos na face antimesentérica (FIG. 10 e 11), fixados com grampo a um suporte de isopor e acondicionados em recipientes com formol a 10%.



**Figura 9** - Segmento intestinal contendo o esfíncter proximal (A) e o esfíncter distal (B) do grupo B no dia da eutanásia



**Figura 10** - Apresentação dos esfíncteres proximal (A) e distal (B) em animal do grupo B na face mucosa





**Figura 11** - Apresentação do esfíncter na face mucosa de peça do animal do grupo C (seta).

A obtenção do material para estudo à microscopia óptica de luz seguiu as etapas da técnica histológica convencional. A desidratação em álcool etílico, em concentrações crescentes, iniciando com álcool a 70° GL e finalizando com álcool absoluto, foi realizada em 12 horas (seis séries de duas horas). Seguiram-se a diafanização com xilol por três horas e a impregnação pela parafina, fundida em estufa a 60°C, em dois banhos de duas horas, perfazendo quatro horas.

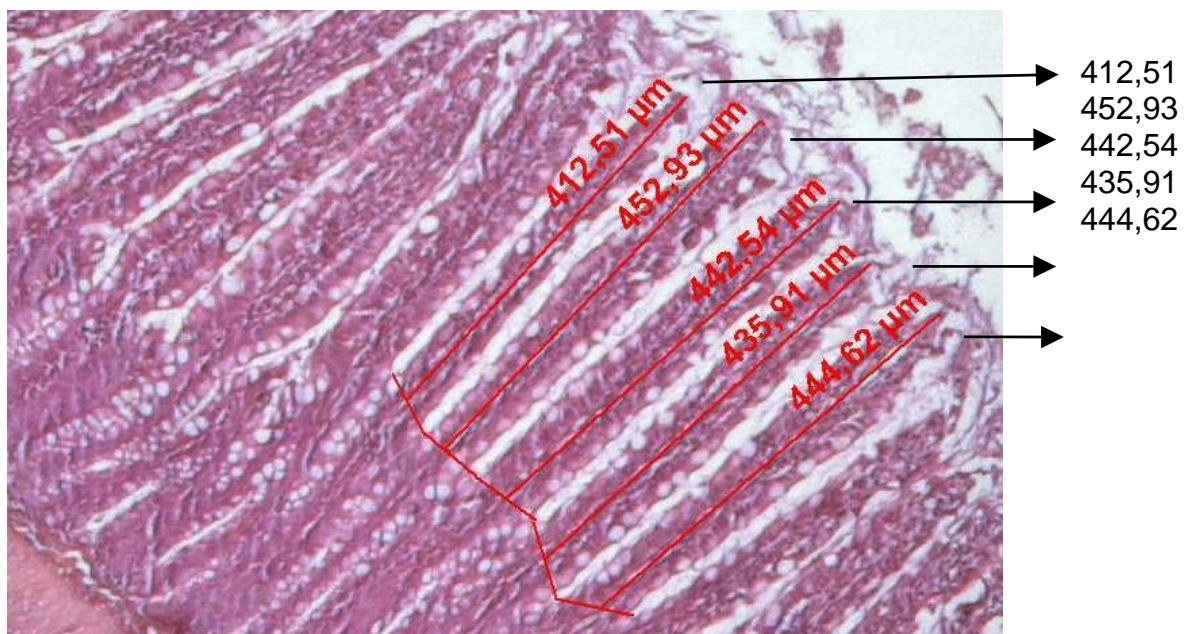
Para obtenção de um bloco regular de parafina, o material foi imerso em um molde retangular que continha parafina fundida (inclusão). Os blocos com tecidos incluídos foram seccionados em micrótomo, obtendo-se cortes de seis micra. Os cortes foram estirados em água aquecida e dispostos em lâminas.<sup>34</sup>

Para visibilização dos componentes teciduais realizou-se coloração pela hematoxilina-eosina. A montagem foi feita em lâminas em bálsamo do Canadá. Para o estudo histológico, foi utilizado o microscópio óptico de luz da marca

Olimpus com óptica de X10 e X40. O segmento analisado compreendeu, aproximadamente, 10 milímetros proximais ao esfíncter e 10 milímetros distais ao mesmo

Para o estudo morfométrico, foi utilizado microscópico Zeiss modelo “AxioStar Plus” conectado à câmera “Carl Zeiss Axioncam Version 5.05.10” com objetiva X5 / 0,12 no programa “AxioVision 3.1.2.1” nos laboratórios do Centro de Biologia da Reprodução da Universidade Federal de Juiz de Fora . As lâminas eram posicionadas na objetiva em busca de melhor campo para realizar a medida da altura as vilosidades. A partir de uma linha traçada na base das criptas, foram medidas as cinco vilosidades íntegras, desde a base até a extremidade livre.<sup>35</sup> (FIG. 12)

Foram realizadas as medidas das alturas das vilosidades nos segmentos pré-esfíncter proximal, intermediário e pós-esfíncter distal dos animais grupo B, pré-esfíncter proximal e pós-esfíncter distal dos animais do grupo C e medidas da altura de vilosidades em segmento de intestino do grupo A.



**Figura 12** - Fotomicrofotografia das cinco vilosidades do segmento intermediário em animal do grupo B

#### 4.4-ANÁLISE ESTATÍSTICA

Todos os dados colhidos foram transportados para o programa SPSS para estudo estatístico<sup>37</sup>.

Foram realizados os testes de normalidade (Shapiro-Wilk) e de correlação (Pearson). Os resultados sugerem que as variáveis estudadas são independentes para  $p=0,01$  e seguem uma distribuição normal para  $p=0,01$ . Os resultados encontrados para  $p$ , nos testes de correlação e normalidade, foram, no mínimo,  $p < 0,011$  e  $p < 0,048$ , respectivamente.

Foi realizada a análise de variância - ANOVA após verificar a homocedasticidade das populações para nível de significância de 5%.

## 5-RESULTADOS

## 5.1-ANÁLISE DO PARÂMETRO PESO

Os grupos apresentaram um ganho ponderal, no entanto houve significância apenas para os animais do grupo B com  $p=0,002$ . (TAB. 2).

**TABELA 2** - Comparação do peso de ratos, em grama, no pré e pós-operatório dos grupos B e C.

Média do peso em grama		
	Pré	Pós
Grupo B	280,95 ± 7,89	293,64 ± 8,53 ( $p=0,002$ )
Grupo C	242 ± 7,41	247 ± 7,46 ( $p=0,132$ )

Grupo B: animais com esfíncteres em dois locais

Grupo C: animais com esfíncter em um local

M ± DPM: média e desvio padrão da média

Pré: peso pré-operatório

Pós: peso pós-operatório

## 5.2 - ANÁLISE DO PARÂMETRO DIÂMETRO

Em relação à medida dos diâmetros entre o pré-operatório e a medida dos diâmetros de todos os segmentos dos dois grupos no pós-operatório foi encontrado um aumento significativo. A medida do pré-operatório apresentou um valor constante de quatro milímetros. (TAB. 3).

**TABELA 3** - Medidas de diâmetro dos segmentos, em milímetros, no pós-operatório dos grupos B e C

	Pré- esfíncter proximal	Intermediário	Pós- esfíncter distal	Pré-esfíncter	Pós-esfíncter
Grupo B	7,10 ± 0,69	6,4 ± 0,73	5,6 ± 0,8		
Grupo C				7,7 ± 0,86	5,20 ± 0,59
<i>p</i>	0,00	0,003	0,002	0,00	0,003

Grupo B: animais com esfíncter em dois locais

Grupo C: animais com esfíncter em um local

M ± DPM: média e desvio padrão da média

A medida do diâmetro do pós-operatório em relação ao pré-operatório revelou um aumento de 3,5 vezes para o segmento do esfíncter proximal, 3,2 vezes para o segmento intermediário e 2,8 vezes para o segmento pós-esfíncter distal do grupo B. No grupo C o aumento foi de 3,85 vezes para o segmento pré-esfíncter e 2,6 vezes para o segmento pós-esfíncter.

A variância das medidas de diâmetro entre os vários segmentos dos dois grupos apresentou diferença significativa quando foram comparadas:

-pré-esfíncter proximal do grupo B X pós-esfíncter do grupo C ( $p=0,05$ );

-intermediário do grupo B X pré- esfíncter do grupo C ( $p=0,031$ );

-pós- esfíncter do Grupo C X pré- esfíncter do grupo C ( $p=0,011$ ).

As demais comparações não apresentaram diferenças significativas.

### 5.3 - ESTUDO DAS VILOSIDADES

As medidas da altura das vilosidades dos vários segmentos do intestino analisados estão descritos a seguir (TAB. 4)

**TABELA 4** – Média da altura das vilosidades dos segmentos, em milimicra, dos grupos A, B e C

Segmentos	Grupo A	Grupo B	Grupo C
	278,96 ± 22,57		
Pré-esfíncter proximal		394,07 ± 67,99	
Intermediário		285 ± 109,74	
Pós-esfíncter distal		393,51 ± 103,55	
Pré-esfíncter			467,24 ± 92,56
Pós-esfíncter			340,1 ± 50,60

Grupo A: Animais controle

Grupo B: animais com esfíncter em dois locais

Grupo C: animais com esfíncter em um local

M ± DPM: média e desvio padrão da média

A análise de variância entre os grupos operados e o controle apresentou  $p < 0,0001$ . Foi realizado teste “post-hoc” (LSD), para identificação de quais médias apresentaram diferenças significativa, para um intervalo de confiança de 95%. Os resultados foram os seguintes (TAB. 5)

**TABELA 5** - Comparação das médias, em milimicra, da altura das vilosidades entre os segmentos dos Grupos A B C

Grupos	Segmentos	<i>p</i>
Controle (A)	Grupo B - Pré-esfíncter proximal	.002
	Intermediário	.980
	Pós-esfíncter	.003
	Grupo C - Pré-esfíncter	.000
	Pós-esfíncter	.096
	Grupo B - Pré-esfíncter proximal	Grupo B - Intermediário
Grupo B - Pré-esfíncter proximal	Pós-esfíncter distal	.942
	Grupo C - Pré-esfíncter	.047
	Pós-esfíncter	.140
	Grupo B - Intermediário	Grupo B - Pós-esfíncter distal
Grupo B - Intermediário	Grupo C - Pré-esfíncter	.000
	Pós-esfíncter	.101
Grupo B - Pós-esfíncter distal	Grupo C - Pré-esfíncter	.040
	Pós-esfíncter	.160

Grupo A: animais controle

Grupo B: animais submetidos à seromiectomia dupla em dois locais

Grupo C: animais submetidos à seromiectomia dupla em um local



## 6-DISCUSSÃO

O sistema digestório sofre influências de fatores para o desempenho da função de absorção de nutrientes e a manutenção das condições de homeostase. O tempo de trânsito dos alimentos pelo canal alimentar, a extensão da superfície absorptiva e a integridade desta superfície são objetos de estudo em modelos animais e humanos.<sup>38, 39</sup> Para a extrapolação de dados entre as espécies é importante fazer comparações entre parâmetros anatômicos e fisiológicos do sistema digestório de roedores e humanos.<sup>13, 40</sup>

O comprimento, em centímetros, do intestino delgado de ratos Wistar, do gênero masculino, adultos (120 dias) é em média de  $100,3 \pm 4,4$ cm e o de humanos, sete metros.<sup>39, 41</sup> Apesar do peso corporal maior, 70Kg em média, o trato intestinal do humano é somente 6 vezes maior que o do rato (0,25Kg). As subdivisões do trato intestinal também diferem. Em ratos, o intestino delgado compreende 83% do comprimento total do trato intestinal, sendo que 90% deste segmento correspondem ao jejuno. O intestino delgado de humanos abrange 81% do trato intestinal, mas somente 38% dele é de jejuno. Apesar do fato de ser o intestino delgado de humanos apenas seis vezes mais longo que o do rato, sua área de superfície é 200 vezes maior. Das modificações anatômicas relacionadas com o aumento da área de superfície, o intestino delgado de humanos e ratos exibem vilosidades na membrana mucosa e microvilos na superfície dos enterócitos. As vilosidades aumentam a área de superfície em um fator cinco vezes em ratos e 10 vezes em humanos. As microvilosidades correspondem a um fator 20 nas duas espécies. Entretanto, as pregas circulares, presentes no intestino humano, relacionadas a um fator de multiplicação de três vezes, inexistem em ratos. Em ambas as espécies, o jejuno é o maior sítio de absorção. Na espécie humana isso se deve à

presença das pregas circulares e em ratos, ao maior comprimento relativo deste segmento.<sup>40</sup>

A escolha do modelo animal do presente estudo recaiu sobre o rato Wistar em função das facilidades de criação e manejo, bem como do conhecimento das correlações anátomo-funcionais descritas anteriormente.<sup>42</sup> Linhas de pesquisas mostraram que o rato foi o animal mais viável em experimentos com ressecções com finalidade de produzir a SIC.<sup>43</sup>

Experimentos envolvendo ressecções do intestino e uso de fatores específicos e hormônios tróficos do intestino revelaram a restauração do segmento intestinal remanescente por meio de aferições como medida de altura de vilosidades, profundidade das criptas, avaliações ponderais e análise metabólica de concentração da D-Xilose.<sup>44-46</sup> Os dados referentes à média das alturas das vilosidades mostraram hipertrofia dos vilos no segmento pré-esfíncter e pós-esfíncter do grupo C e dos segmentos proximal e distal do Grupo B em relação às medidas do grupo controle, mesmo não realizando ressecções do intestino delgado dos animais operados, no entanto, o segmento intermediário do grupo B não apresentou diferença significativa em comparação com o controle.

A ressecção programada de segmentos do intestino delgado de animais de experimento revelou que na adaptação do segmento remanescente ocorrem mudanças na morfologia da parede para compensar a perda. Uma das observações feitas é em relação à profundidade das criptas que demonstra uma resposta diretamente proporcional a extensão da ressecção. No entanto, a compensação ocorre pelo aumento do tamanho das estruturas já existentes (hipertrofia) sem alterar o seu número (hiperplasia). Essas alterações são mais

evidentes nos segmentos proximais do trato gastrointestinal que nos segmentos distais. A fase de restauração, quando as alterações morfométricas estão mais evidentes, é no período do oitavo dia ao décimo segundo dia pós-intervenção.<sup>45, 46</sup> Dessa forma, ficou estabelecido, para o estudo em questão, que a colheita do material para estudo compreendia o intervalo acima.

Outros estudos mostraram alterações do comprimento dos vilos e do diâmetro da alça maiores no íleo em relação ao jejuno quando se realizou colectomia com confecção de bolsa ileal para a anastomose íleo-anal. Houve aumento do diâmetro, do comprimento intestinal e ganho de peso em animais submetidos à ressecção de 67% do jejuno e íleo em comparação com animais submetidos apenas a secção e anastomose de segmento ileal. As modificações descritas foram mais proeminentes no íleo. Resultados semelhantes foram encontrados em camundongos, após ressecção de 60% de intestino proximal em um grupo, 60% do intestino distal em outro grupo e um terceiro grupo submetido apenas à secção e anastomose, com morte dos animais em sete dias.<sup>47-49</sup> O presente estudo apresentou um aumento do diâmetro ao longo de toda a extensão tanto no grupo B quanto no grupo C.

Uma das alternativas cirúrgicas usadas na SIC para controle do trânsito é a reversão de segmento ileal com resultados controversos. Para avaliar as alterações decorrentes desse procedimento, foram comparados dois grupos de animais (ratos). Ambos os grupos foram submetidos à ressecção de 80% do intestino. Realizou a reversão de segmento de 2 cm de íleo em 180° em um grupo e, noutro, apenas 2cm do mesmo segmento foram retirados. Os resultados desse estudo mostraram que no grupo com reversão do segmento houve um aumento do diâmetro das alças sem apresentar sintomas de

obstrução por um período de dois meses de observação e um aumento significativo da altura dos vilos em relação ao grupo controle. A conclusão foi que a reversão de segmento ileal aumenta o tempo do trânsito do intestino, e possivelmente interfere, de forma favorável, na adaptação intestinal.<sup>50</sup> Embora o tempo de observação dos animais no estudo proposto tenha sido menor, não foram notados sinais de obstrução intestinal.

Técnica de enteromiotomia helicoidal para alcançar alongamento intestinal e aumentar o diâmetro de intestino sem ressecção do intestino mostrou aumento significativo do comprimento intestinal. Os animais utilizados estavam em fase de crescimento, porém apresentaram ganho de peso e alongamento do intestino sem dilatação das alças. O autor salienta o fato da realização do procedimento ocorrer sem a abertura da luz intestinal, reduzindo os riscos de deiscências e fístulas, além de não excluir segmento do intestino.<sup>51</sup> A técnica empregada para a confecção do piloro implica na manutenção da integridade da camada mucosa, com aproximação das bordas cruentas para sepultamento do anel muscular, dessa forma reduzindo o risco de fístulas. As outras técnicas descritas para a confecção de esfíncteres artificiais envolvem ressecção de camada muscular do trato gastrointestinal e mostram-se eficazes para redução da velocidade do trânsito intestinal em SIC e síndrome de “dumping”.<sup>25, 27-32</sup> Autores em revisão discutem os resultados dessa opção citando o risco de obstrução por funcionarem como processo estenótico.<sup>5, 9 11,12</sup>

Outra opção com finalidade de promover a diminuição de trânsito intestinal e dilatação de alça foi a confecção de esfíncteres artificiais no íleo de ratos sem secção de camada seromuscular. O trabalho resultou em dilatação do segmento de intestino proximal aos esfíncteres. Os autores concluíram que

não é necessário seccionar a musculatura e o plexo nervoso para promover a dilatação e redução do trânsito.<sup>52</sup>

A secção interessando apenas as camadas seromusculares, além de não promover exclusão de nenhum segmento do trânsito, permite a integridade parcial de plexos nervosos da parede do intestino, mostrado em estudo radiográfico e endoscópico por meio de mecanismo de contração e relaxamento do anel seromuscular invaginado funcionando de modo semelhante a um esfíncter verdadeiro.<sup>6</sup> De acordo com descrição da distribuição e das particularidades do plexo mioentérico acredita-se que a técnica empregada mantém a atividade de fibras de plexos nervosos mioentéricos no segmento.<sup>53, 54</sup>

De acordo com publicações, quando se realiza desnervação química (cloreto de benzalcônio) intrínseca do jejuno de ratos promove-se hiperplasia da camada mucosa com conseqüente aumento da superfície absorptiva e ganho de peso.<sup>55, 56</sup>

Os dados obtidos no experimento indicam que a técnica testada altera as medidas do diâmetro, do peso e da altura dos vilos com valores semelhantes aos publicados de literatura com emprego de outras opções de tratamento da SIC.<sup>46, 47, 50, 51</sup> Não foram encontradas publicações utilizando técnica de confecção de válvulas com estudo de morfometria da mucosa, mas existem estudos envolvendo as camadas musculares com aumento significativo da musculatura longitudinal e circular em experimento com criação de piloros.<sup>57</sup>

A confecção de esfíncteres pela técnica empregada induzindo a dilatação, sem sinais de obstrução, sem exclusão de segmentos do trato intestinal e apresentando hipertrofia dos vilos pode ser aplicada e utilizada como procedimento prévio a outras intervenções de alongamento do intestino como as descritas por Bianchi e Kim que necessitam de dilatação do segmento intestinal.

## 7-CONCLUSÃO



Houve hipertrofia das vilosidades na camada mucosa dos segmentos pré-esfíncter proximal e pós-esfíncter distal dos grupos B e C em relação ao controle. As médias das alturas das vilosidades do segmento intermediário e do controle não apresentaram diferença significativa.

## 8-SUMMARY

When the handles of the small bowel are submitted to surgical traumas with resection of a segment significant changes occur in the mucous layer. This research tried to identify the reactions of the villus in intestinal segments of rats underwent the confection of sphincters. Male Wistar's adult rats, had been distributed among three groups of 10 animals. In control group (A) had been removed a segment of the distal intestine for comparison with the operated groups. In group (B) at 100 millimeters and 150 millimeters from the ileocecal junction had been performed two located sphincters. In group (C) had been performed only one sphincter 100 millimeters from the ileocecal junction. Between 10<sup>th</sup> and 14<sup>th</sup> days the animals had been reoperated for withdrawal of intestinal segment involving the sphincters. The animals had been weighted before the two operations. The intestinal caliber had been measured during both the surgical procedures. Villus height had been achieved during histological examination through morfometry of the several segments. In group B that had been carried out before the proximal sphincter, after the distal sphincter and at the intermediate segment. In group C had been carried out at pre and postsphincter segments, meanwhile in group A villus height were considered the normal parameter. The results had shown an increase of the villus height in the segments before proximal sphincter and after distal sphincter in group B as well as in the pre and postsphincter segments in group C, when compared with the control group. No histologic changes had been observed at the intermediate segment in group B. The animals of both the groups had presented body weight and an increase of the handles' diameter.

## 9-REFERÊNCIAS

\* Referências- Norma Vancouver

- 1 Di Dio LJA. Dados anatômicos sobre o “piloro” íleoceco cólico (com observação direta in vivo de “papila” íleo-ceco-cólica). São Paulo,1952. 241p. Tese de Docência Livre, Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo;.
- 2 Byrne TA, Cox S, Karimbakas M, Veglia LM, Bennet HM, Lautz DB, Wilmore DW. Bowel rehabilitation: An alternative to long-term parenteral nutrition and intestinal transplantation for some patients with short bowel syndrome. *Transplantation Proc* 2002; 34:887-90.
- 3 Dudrick SJ, Latifi R, Fosnocht DE. Management of the short-bowel syndrome. *Surg Clin North Am* 1991;71 (3): 62-9.
- 4 Wilmore DW, Byrne TA, Persinger RL. Short bowel syndrome: new therapeutic approaches. *Curr Probl Surg* 1997; 34:391-444.
- 5 Wales PW. Surgical therapy for short bowel syndrome. *Pediatr Surg Int* 2004; 20:647-57.
- 6 Rena CL, Lázaro da Silva A, Barra AA, Melo GE, Paula WT. Seromiotomia dupla no intestino delgado: tentativa de criação de um piloro artificial. *Rev. Col. Bras. Cir.* 1996; 23(3): 143-7.
- 7 Andorsky DJ, Lund DP, Lillebei CW, Jacksic T, DiCanzio J, Richardson D, Collier SB, Lo C, Duggan C. Nutritional and other postoperative management of neonates with short bowel syndrome correlates with clinical outcomes. *J Pediatr* 2001; 139: 27-33.
- 8 DiBaise JK, Young RJ, Wanderhoof JA Clinical Review- Intestinal rehabilitation and short bowel syndrome Part 1 *Am J Gastroenterol* 2004; 99:1386-95.

- 9 Misiakos EP, Macheras A, Kapetanakis T Liakakos T. Short bowel syndrome: current medical and surgical trends. *J Clin Gastroenterol* 2007;41(1): 5-18.
- 10 Sukhotnik I, Coran AG, Kramer A Shiloni E Mogilner JC. Advances in short bowel syndrome: an update review. *Pediatr Surg Int* 2005; 21: 947-53.
- 11 DiBaise JK, Young RJ, Wanderhoof JA Clinical Review- Intestinal rehabilitation and short bowel syndrome Part 2. *Am J Gastroenterol* 2004; 99: 1823-32
- 12 Platell CFE, Coster J, McCauley RD, Hall JC. The management of patients with the short bowel syndrome. *World J Gastroenterol* 2002; 8(1): 13-20
- 13 Drozdowski L, Thomson ABR. Intestinal mucosal adaptation. *World J Gastroenterol*. 2006; 12(29):4614-27.
- 14 Welters CFM, Dejong CHC, Deutz NEP, Heineman E. Intestinal function and metabolism in the early adaptive phase after massive small bowel resection in the rat. *J Pediatr Surg* 2001; 36(12): 1746-51.
- 15 Sundaram A, Koutkia P, Apovian CM. Nutritional management of short bowel in adults. *J Clin Gastroenterol* 2002; 34(3):207-20.
- 16 Bianchi A. From the cradle to enteral autonomy: the role of autologous gastrointestinal reconstruction. *Gastroenterology* 2006; 130: s138-46.
- 17 Thompson JS. Surgical aspects of the short-bowel syndrome. *Am J Surg*. 1995; 170(6): 532-6.
- 18 Weber TR, Vane DW, Grosfeld JL. Tapering enteroplasty in infants with bowel atresia and short gut. *Arch Surg*. 1982; 117:684-8.

- 19 Walker SR, Nucci A, Yaworski JN, Barksdale Jr EM. The Bianchi procedure: a 20-year single institution experience. *J Pediatr Surg* 2006; 41: 113-9.
- 20 Kim HB, Fauza D, Garza J, Duggan CP, Jaksic T. Serial transverse enteroplasty (STEP): a novel bowel lengthening procedure. *J Pediatr Surg* 2003; 38(3): 425-9.
- 21 Javid PJ, Kim HB, Duggan CP, Jaksic T. Serial transverse enteroplasty is associated with successful short-term outcomes in infants with short bowel syndrome. *J Pediatr Surg* 2005; 40: 1019-24
- 22 Shapiro M, Faria Netto AJ, Saad FA, Goldenberg S. Interposição de um segmento de colo distal entre cotos remanescentes de intestino delgado após ressecção de 90% do jejunoíleo. *Rev Ass Med Brasil* 1977; 23(10): 350-4.
- 23 Panis Y, Messing B, Rivet P, Coffin B, Hautefeuille P, Matuchansk C, Rambaud JC, Valleur P. Segmental reversal of the small bowel as an alternative to intestinal transplantation in patients with short bowel syndrome. *Ann Surg* 1997; 225(4): 401-7.
- 24 Richardson JD, Griffen WO. Ileocecal valve substitutes as bacteriologic barriers. *Am J Surg* 1972; 123: 149-53
- 25 Glassman JA. An artificial ileocecal valve. *Surg Gyn Obst* 1942; 74: 92-8.
- 26 Carlsson E, Bosaeus I, Nordgren S. Quality of life and concerns in patients with short bowel syndrome. *Clin Nutr* 2003; 22(5): 445-52.
- 27 Schiller WR, Di Dio LJA, Anderson MC. Production of artificial sphincters: ablation of the longitudinal layer of the intestine. *Arch Surg*. 1967; 95(3): 436-41.

- 28 Lázaro da Silva A. Tentativa de tratamento do “dumping” através de um “esfincter “ ileal. Rev. Assoc. Méd. Minas Gerais 1974; 25: 32-3
- 29 Lázaro da Silva A. Amputação abdômino-perineal com colostomia perineal. Rev Bras Colo Proct. 1991;11(3):105-8
- 30 Kapritchkoff E, Stachini A, Cruz MF. Tratamento da síndrome de “dumping’: nova técnica cirúrgica “piloro artificial”. Arq Gastroenterol.1977; 14:24-6.
- 31 Stacchini A, Di Dio LJA, Primo MLS, Borelli V, Andreto R. Artificial sphincter as surgical treatment for experimental massive resection of small intestine. Am J Surg 1982; 143: 721-6.
- 32 Stacchini A, Di Dio LJA, Christoforidis AJ, Borelli V. Intestinal transit time is delayed by artificial sphincters after massive enterectomy in dogs. Am J Surg 1986; 151: 480-3
- 33 Wolfensohn S, Lloyd M. Handbook of laboratory animal management and welfare . Reino Unido 3rd-ed. Blackwell publishing 2003.416p
- 34 Behmer, AO, Tolora, EMC. Manual de técnicas para histologia normal e patologia. Edart: São Paulo Livraria e Editora. São Paulo: 1974. 241p.
- 35 Woo ZF, Nygaard K. Small-bowel adaptation after colectomy in rats. Scand. J. Gastroent. 1978;13: 903-10.
- 36 Montgomery DC. Design and analysis of experiments. Wiley-New York:1997. 283p.
- 37 Massad E, Menezes RX, Silveira PSP, Ortega NRS. Métodos quantitativos em medicina. São Paulo: Manole;2004.312p.
- 38 Péntzes L, Skala I. Changes in the mucosal surface of the small gut of rats of diferent ages. J. Anat .1977;124(1): 217-222.



- 39 Gray, H. Anatomia. Editora Guanabara Koogan. Rio de Janeiro: 1977. 1001-2
- 40 DeSesso JM, Jacobson CF. Anatomical and physiological parameters affecting gastrointestinal absorption in humans and rats. Food chem. Toxicol 2001; 39: 209-228.
- 41 Guerra, MG, Peters, VM. Comprimento do intestino delgado e trânsito intestinal em ratas Wistar. Boletim do Centro de Biologia da Reprodução.1995; 14: 47-50.
- 42 Schanaider A, Silva PC. Uso de animais em cirurgia experimental. Acta Cir Bras [serial online] 2004 Jul-Ag;19(4): 441-7
- 43 Fagundes DJ, Taha MO. Animal disease model: choice's criteria and current animals specimens. Acta Cir Bras [serial on line] 2004jan-Feb; 19(1):59-65
- 44 Glesson MH, Cullen J, Dowling RH. Intestinal structure and function after small bowel by-pass in the rat. Clin. Sci. 1972;43: 731-42
- 45 Hanson WR, Osborne JW, Sharp JG. Compensation by the residual intestine after intestinal resection in the rat. Gastroenterology 1977; 72: 701-5.
- 46 Spadoni JM, Aguilar Nascimento JE, Gomes da Silva MHG, Spadoni Neto B, Batista da Costa PATF, Aléssio DMT. Efeitos do uso combinado da glutamina e hormônio do crescimento na adaptação intestinal após ressecção extensa do intestino delgado em ratos. Acta Cir Bras 2005; 20(5): 382-9.
- 47 Willis S, Kisielinski K, Klosterhalfen B, Shumpelick V. Morphological and functional adaptation of the small intestine colectomy and ileal pouch-anal anastomosis in rats. Int J colorectal Dis. 2002;17: 85-91.

- 48 Dou Y, Lu X, Zhao J, Gregersen H. Morphometric and biomechanical remodelling in the intestine after small bowel resection in the rat. *Neurogastroenterol Mot.* 2002; 14:43-53.
- 49 Haxhija E, Yang H, Spencer AU, Sun X, Teitelbaum DH. Influence of the site of small bowel resection on intestinal epithelial cell apoptosis. *Pediatr Surg Int.* 2006; 22: 37-42.
- 50 Sencan A, Akçora B, Mir E, Sencan A, Günsar C, Arslan O, Özer E. Does ileal reverse segment in rats with short bowel syndrome change intestinal morphology? *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2002;34(2) : 165-8.
- 51 Dias AIBS, Martins JL, Moriya EM, Seda Neto J. Helicoidal enterotomyotomy in rats: na experimental model of intestinal lengthening. *Transplant Proc* 2004;36: 1012-4.
- 52 Nunes SI, Caputo LRC, Lázaro da Silva A. Confecção de piloros artificiais em íleo terminal sem secção de musculatura em ratos: estudo anátomopatológico. *Rev. Col. Bras. Cir.* 2003; 30(1): 59-64.
- 53 Zanin SMT, Molinari SL, Sant'Ana DMG, Miranda Neto MH. Densidade dos neurônios NADH-diaforase positivos do jejuno de ratos (*Rattus norvegicus*). *Arq. ciências saúde UNIPAR* 2001;5(1) 03-7.
- 54 Timmermans JP, Hens J, Adriaensen D. Outer submucous plexus: an intrinsic nerv network involved in both secretory and motility processes in the intestine of large mammals and humans. *Anat Rec* 2001: 262: 71-8.
- 55 Garcia SB, Kawasaky MC, Silva JCF, Garcia-Rodrigues AC, Borelli-Bovo TJ, Iglesias ACRG, Zucoloto S. Intrinsic myoenteric denervation : a model to increase the intestinal absorptive surface in short bowel syndrome. *J Surg Res.* 1999; 85: 200-3.

- 56 Carvalho CEV, D'Angieri Basile FV, Vespúcio MVO, Iglesias ACG, Gava NF, Garcia SB. Efeitos da desnervação intrínseca do jejuno após enterectomia extensa na síndrome do intestino curto em ratos. *Acta Cir Bras* 2006; 21(1): 43-5.
- 57 Rena CL, Lázaro da Silva A Barra AA Furtado MCV, Rena RL, Rena RL. Alterações morfométricas da musculatura dos músculos longitudinal e circular de ratos submetidos à criação de piloros no intestino delgado. *Rev. Col. Bras. Cir.* 2007; 34(1): 41-7

## 9-Apêndice

**Tabela 6-** Média das medidas, em milimicra da altura das vilosidades dos três grupos estudados

Animais	Grupo A		Grupo B		Grupo C	
		Pré-piloro	Intermediário	Pós-piloro	Pré-piloro	Pós-piloro
1	255,27	346,48	140,36	191,52	472,55	343,14
2	290,04	407,38	437,72	399,22	371,64	354,37
3	288,57	479,06	182,06	510,02	345,35	294,71
4	264,58	440,58	207,87	433,52	493,36	319,07
5	295,96	357,10	270,58	501,68	514,30	394,26
6	311,02	505,68	405,85	499,8	618,35	246,01
7	233,52	395,6	353,06	357,06	352,07	246,01
8	293,85	358,6	354,35	376,72	553,44	349,38
9	278,97	274,16	293,74	335,4	418,54	377,95
10	277,87	376,14	206,32	329,62	532,8	305,61
Média	278,96	394,07	279,88	391,45	467,24	340,1
Desvio Padrão	22,57	67,99	109,74	103,55	92,56	50,60

Grupo A: animais controle

Grupo B: animais submetidos à seromiotomia dupla em dois locais

Grupo C: animais submetidos à seromiotomia dupla em um local

**Tabela 7** Peso dos animais, em grama do grupo B pré-operatório e pós-operatório

Animais	Pré-operatório	Pós-operatório	Diferença	%
1	308	321,5	13,5	4,38
2	299	293	-6	-2,01
3	273	281	8	2,93
4	279	292,6	13,6	4,87
5	264	285,6	21,6	8,18
6	313	339,5	26,5	8,47
7	243	261	18	7,61
8	281	288	7	2,49
9	246	253	7	2,85
10	303,5	320,7	17,2	5,67
Média	280,95	293,64		

**Tabela 8** - Medida em milímetros do diâmetro dos animais do grupo B

Pré-operatório	Pós-operatório			
	Piloro proximal		Piloro distal	
	Pré-piloro	Pós-piloro	Pré-piloro	Pós-piloro
4	9	9	7	7
4	6	6	5	5
4	5	5	4	3
4	9	9	5	4
4	5	7	4	3
4	8	5	6	5
4	5	4	5	5
2	8	7	7	7
2	5	5	4	5
2	11	9	15	12
MÉDIA	7,1	6,6	6,2	5,6

**Tabela 9** - Pesos em grama dos animais do grupo C

Animais	Pré-operatório	Pós-operatório	Diferença	%
1	225,0	244,0	19	8,4
2	261,0	279,0	18	6,8
3	243,0	247,0	4	1,6
4	265,0	276,0	11	4,1
5	255,0	248,0	-7	-2,7
6	225,0	231,0	6	2,6
7	210,0	213,0	3	1,4
8	282,0	278,0	-4	-1,6
9	216,0	226,0	10	4,6
10	238	229	-9	-3,7
Média	242	247		



**Tabela 10** - Medida em milímetros dos diâmetros dos animais do grupo C

Animais	Pré-operatório	Pós-operatório	
		Pré-piloro	Pós-piloro
1	4	10	4
2	4	8	6
3	4	9	6
4	4	4	4
5	4	4	8
6	4	8	4
7	4	7	5
8	4	13	8
9	4	8	5
10	4	6	4
Média	4	7,7	5,4

## 10-ANEXOS

**Universidade Federal de Juiz de Fora**  
**Centro de Biologia da Reprodução**

INFORMAÇÕES NECESSÁRIAS SOBRE O MODELO ANIMAL E  
PARA A CONFIABILIDADE DOS RESULTADOS DE UM EXPERIMENTO

O Biotério de Experimentação do Centro de Biologia da Reprodução encontra-se cadastrado no Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA), e os projetos desenvolvidos nas suas dependências são previamente analisados e aprovados pelo Comitê de Ética e Experimentação Animal da UFJF, recebendo todo o acompanhamento técnico de profissionais com formação específica na área de bioterismo.

O Biotério de Experimentação do Centro de Biologia da Reprodução encontra-se cadastrado no Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA), e os projetos desenvolvidos nas suas dependências são previamente analisados e aprovados pelo Comitê de Ética e Experimentação Animal da UFJF, recebendo todo o acompanhamento técnico de profissionais com formação específica na área de bioterismo.

Os alojamentos de ratos possuem janelas teladas e lacradas, sistema de ar refrigerado, iluminação mista - luz natural e lâmpadas incandescentes - sendo as últimas controladas para acenderem às 6horas e apagarem às 18horas, mantendo segundo, Wolfensohn & Lloyd (2003), um fotoperíodo adequado de 12horas de luminosidade e12horas de escuridão. Possuem também armários climatizados, com controle de temperatura, umidade e troca de ar programada, em que os animais são alojados em gaiolas de prolipropileno, providos de maravalha selecionada, mamadeira para água e cocho para ração do tipo peletizada.

A água é oferecida *ad libitum* e cada rato recebe, em média, 8-10g de ração/100g de peso corporal por dia.

**DADOS BIOLÓGICOS DO ANIMAL (Rato), NECESSÁRIOS AO USUÁRIO  
DO MODELO.**

Tempo de gestação: entre 21 a 23 dias

Tempo médio de vida: sob condições favoráveis podem viver até três anos, o que corresponderia a 90 anos da vida humana. Em condições de grande variabilidade climática e de umidade, poucos indivíduos vivem mais do que dois anos.

Temperatura para o conforto e bem-estar dos animais: 19-23° C

Umidade: 40-70 %

Luminosidade: 100 lux para ratos albinos Fotoperíodo de 12/12 ou 12/16 Ventilação: 12-15 trocas de ar por hora, filtrado.

Água e ração diária: 10ml de água/100g de peso corporal/dia e 5-10g de ração /100g peso corporal/dia. Os animais têm hábito noturno para ingestão alimentar.

Peso corporal: desmame (21 dias) - 40/50g.

Idade de 90 dias - fêmea com 200g a 275g e macho com 300g a 450g.

# CERTIFICADO DA COMISSÃO DE ÉTICA DA UNIVERSIDADE FEDERAL DE JUIZ DE FORA



UNIVERSIDADE FEDERAL DE JUIZ DE FORA  
CENTRO DE BIOLOGIA DA REPRODUÇÃO  
Comissão de Ética na Experimentação Animal

## CERTIFICADO

Certificamos que o Protocolo nº 008/2002 sobre “Experimento técnico de construção de válvulas no intestino delgado do rato” sob a responsabilidade dos Profs. Drs. Cícero de Lima Rena, Ângela Aparecida Barra e Maria Cristina Furtado Vasconcelos, está de acordo com os Princípios Éticos na Experimentação Animal adotado pelo Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA) e foi aprovado pela COMISSÃO DE ÉTICA NA EXPERIMENTAÇÃO ANIMAL (CEEA) DO CENTRO DE BIOLOGIA DA REPRODUÇÃO DA UFJF, em reunião realizada em de 07 de fevereiro de 2002.

Juiz de Fora, 07 de fevereiro de 2002.

Profª Drª VERA MARIA PETERS  
Presidente – CEEA

Profª .Dra. MARTHA DE OLIVEIRA GUERRA  
Secretária – CEEA