

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS

LUIZ HENRIQUE SILVA BORSATO

**ESTUDO DOS EFEITOS DO CAMPO ELETROMAGNÉTICO  
NA CICATRIZAÇÃO DE ANASTOMOSES INTESTINAIS-  
MODELO EXPERIMENTAL EM RATOS**

**Belo Horizonte - MG**

**2009**

LUIZ HENRIQUE SILVA BORSATO

**ESTUDO DOS EFEITOS DO CAMPO ELETROMAGNÉTICO  
NA CICATRIZAÇÃO DE ANASTOMOSES INTESTINAIS -  
MODELO EXPERIMENTAL EM RATOS**

Dissertação 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 Mestre.

Área de concentração: Cicatrização

Linha de pesquisa: Fatores adjuvantes na cicatrização tecidual.

Orientador: Professor Doutor Cláudio de Souza

Co-orientador: Professor Doutor João Baptista de Resende Neto

**Universidade Federal de Minas Gerais**

**Belo Horizonte**

**2009**

Borsato, Luiz Henrique Silva

Estudo dos efeitos do campo eletromagnético na cicatrização de anastomoses intestinais – modelo experimental em ratos./ Luiz Henrique Silva Borsato - 2009-03-07

74 f.:il.

Dissertação (Mestrado em Ciências Aplicadas à Cirurgia e à Oftalmologia)-Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2009.

1.Cicatrização de feridas. 2. Eletromagnetismo. I. Título

CDU 616 - 003.9



FACULDADE DE MEDICINA  
CENTRO DE PÓS-GRADUAÇÃO

Av. Prof. Alfredo Balena 190 - sala 7009  
Belo Horizonte - MG - CEP 30.130-100  
Fone: (031) 3248.9641 FAX: (31) 3248.9939



UFMG

ATA DA CENTÉSIMA QUINQUAGÉSSIMA TERCEIRA DEFESA DE DISSERTAÇÃO DE MESTRADO DO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS APLICADAS À CIRURGIA E À OFTALMOLOGIA, do aluno **LUIZ HENRIQUE SILVA BORSATO**, nº de registro 2006200881. Às quatorze horas do dia seis de abril de dois mil e nove, reuniu-se na Faculdade de Medicina da UFMG a Comissão Examinadora de tese, indicada pelo Colegiado do Curso em 11/03/09, para julgar, em exame final, o trabalho final intitulado: "**ESTUDO DOS EFEITOS DO CAMPO ELETROMAGNÉTICO NA CICATRIZAÇÃO DE ANASTOMOSES INTESTINAIS – MODELO EXPERIMENTAL EM RATOS**" requisito final para a obtenção do Grau de Mestre em Cirurgia. Abrindo a sessão, o Presidente da Comissão, Prof. Cláudio 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. Cláudio de Souza/ Orientador	Instituição: UFMG	Indicação <u>APLICADA</u>
Prof. Mauro Toledo Sirimarco	Instituição: UFJF	Indicação <u>---</u>
Prof. Edson Samesima Tatsuo	Instituição: UFMG	Indicação <u>APLICADA</u>

Pelas indicações, o candidato foi considerado PROCURADO.

O resultado final foi comunicado publicamente ao candidato pelo Presidente da Comissão. Nada mais havendo a tratar, o Presidente encerrou a reunião e lavrou a presente ata, que será assinada por todos os membros participantes da Comissão Examinadora. Belo Horizonte, seis de abril de dois mil e nove.

Prof. Cláudio de Souza \_\_\_\_\_

Prof. Mauro Toledo Sirimarco \_\_\_\_\_

Prof. Edson Samesima Tatsuo \_\_\_\_\_

Prof. Edson Samesima Tatsuo /Coordenador \_\_\_\_\_

CONFERE COMO ORIGINAL  
Centro de Pós-Graduação

PROF. EDSON SAMESIMA TATSUO  
Coordenador do Programa de Pós-Graduação em Ciências Aplicadas  
À Cirurgia e à Oftalmologia  
Faculdade de Medicina/UFMG

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



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

Av. Prof. Alfredo Balena 190 / sala 7009  
Belo Horizonte - MG - CEP 30.130-100  
Fone: (031) 3248.9641 FAX: (31) 3248.9939



### DECLARAÇÃO

A comissão examinadora abaixo assinada, composta pelos professores doutores: Cláudio de Souza, Mauro Toledo Sirimarco e Edson Siamesima Tatsuo, aprovou a defesa da dissertação intitulada: **“ESTUDO DOS EFEITOS DO CAMPO ELETROMAGNÉTICO NA CICATRIZAÇÃO DE ANASTOMOSES INTESTINAIS – MODELO EXPERIMENTAL EM RATOS”**, apresentada pelo mestrando **LUIZ HENRIQUE SILVA BORSATO** para obtenção do título de mestre em Cirurgia, 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 seis de abril de dois mil e nove.

Prof. Cláudio de Souza  
(orientador)

Prof. Mauro Toledo Sirimarco

Prof. Edson Samesima Tatsuo

LUIZ HENRIQUE SILVA BORSATO

**ESTUDO DOS EFEITOS DE UM CAMPO  
ELETROMAGNÉTICO NA CICATRIZAÇÃO DE  
ANASTOMOSES INTESTINAIS. MODELO EXPERIMENTAL  
EM RATOS**

Dissertação de Mestrado apresentada e defendida perante Comissão  
Examinadora constituída pelos professores:

---

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

---

Prof. Dr. Edson Samesima Tatsuo (UFMG)

---

Prof. Dr. Mauro Toledo Sirimarco (UFJF)

---

Prof. Dr. Tarcizo Afonso Nunes (UFMG)

Belo Horizonte, 06 de abril de 2009.

# **UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS**

## **Reitoria**

Reitor: Prof.Dr. Ronaldo Tadêu Pena

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

## **Pró-Reitor de Pós-Graduação**

Prof<sup>a</sup>.Dra. Elizabeth Ribeiro da Silva

## **Pró-Reitor de Pesquisa**

Prof. Dr. Carlos Alberto Pereira Tavares

## **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. Carlos Faria Santos Amaral

## **Programa de Pós-Graduação em Ciências Aplicadas à Cirurgia e à Oftalmologia**

Coordenador: Prof. Dr.Edson Samesima Tatsuo

Subcoordenador:Prof.Dr. Marcelo Dias Sanches

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

Prof. Dr. Edson Samesima Tatsuo

Prof. Dr. Marcelo Dias Sanches

Prof. Dr. Alcino Lázaro da Silva

Prof. Dr. Márcio Bittar Nehemy

Prof.Dr. Marco Aurélio Lana Peixoto

Prof. Dr. Tarcizo Afonso Nunes

**Representante discente:** Denny Fabrício Magalhães Veloso

## **AGRADECIMENTOS**



Ao Professor Cláudio de Souza, pela orientação, incentivo, compreensão e acolhimento de um jovem cirurgião e pesquisador no início de sua caminhada.

Ao engenheiro eletricitista, primo e grande amigo Vitor Silva Duarte pela elaboração da bobina geradora do campo eletromagnético usado neste trabalho.

Dr. Emílio Augusto Campos Pereira de Assis, médico patologista e amigo dos tempos de faculdade e residência médica, pelo apoio no estudo histopatológico.

Dr. Cícero de Lima Rena e Dra. Maria Cristina Vasconcelos Furtado, por terem acreditado no meu potencial e pelo apoio durante este trabalho.

Minha mãe, irmãos e familiares pela segurança de tê-los ao meu lado.

A meu pai, grande amigo, incentivador, exemplo maior da minha vida. Que continue a olhar sempre por nós. Saudades...

Minha esposa Diana e nossas lindas filhas Bianca e Isabela, meus amores.

# RESUMO

A cicatrização de anastomoses intestinais é tema de vários estudos. Pesquisadores buscam seu aprimoramento visando prevenir a ocorrência de deiscências, fístulas e peritonite, que representam graves complicações cirúrgicas, com elevadas taxas de morbidade e mortalidade. As propriedades do eletromagnetismo foram descritas como fator adjuvante na regeneração e cicatrização de tecidos. O presente trabalho visou estudar os efeitos do eletromagnetismo na cicatrização intestinal e o melhor momento de sua aplicação em animais submetidos a anastomoses de cólon. Trinta ratos Wistar, machos adultos, com peso entre 200 g e 300 g, divididos em três grupos com 10 animais cada, foram submetidos à secção transversa do cólon a 4 cm distais ao ceco, seguida de anastomose término-terminal com pontos separados. A re operação, em todos os grupos, ocorreu 72 horas após essa intervenção, sendo ressecado o segmento intestinal que continha a anastomose. Os animais do Grupo I não foram expostos ao campo eletromagnético, sendo considerados controles. Os animais do Grupo II foram expostos ao campo eletromagnético no pós-operatório (três ciclos de duas horas de duração, com intervalos de vinte e quatro horas entre os ciclos). Os animais do Grupo III foram expostos ao campo eletromagnético no pré-operatório (três ciclos de duas horas com intervalo de vinte e quatro horas entre os ciclos, nos dois dias que antecederam a intervenção). Os segmentos intestinais ressecados tinham margem cirúrgica de dois centímetros oral e aboral à anastomose. Esses segmentos foram submetidos a teste 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 do Grupo II em relação aos demais ( $p < 0,05$ ). A análise histológica de fragmentos da anastomose corados pela hematoxilina-eosina mostrou exacerbação do processo de cicatrização nos animais do Grupo II em relação aos demais, baseado na Escala de Ehrlich e Hunt modificada, ( $p < 0,05$ ). Também foi encontrado aumento da concentração de colágeno neo-formado nos animais do Grupo II ( $p < 0,05$ ). Concluiu-se que a exposição ao campo eletromagnético até 72 horas após anastomose de cólon em ratos interfere positivamente no processo de cicatrização com base em parâmetros físico e histológicos.

# ABSTRACT

The healing of intestinal anastomosis is the subject of several studies. Researchers seek its improvement designed to prevent the occurrence of peritonitis, which represent serious surgical complications, with high rates of morbidity and mortality. The properties of electromagnetism have been described as an adjuvant factor in the regeneration and healing of tissues. This search aimed to study the effects of electromagnetism on intestinal healing and the best time of their application in animals undergoing colonic anastomosis. Thirty Wistar rats, adult male, weighing 200 g and 300 g were divided into three groups with 10 animals each, were subjected to cross-section of the colon 4 cm distal to the cecum, followed by end to end anastomosis with sutures. The re-operation in all groups, occurred 72 hours after the intervention, and the resected intestinal segment containing the anastomosis. Animals in Group I were not exposed to the electromagnetic field were considered controls. Animals in Group II were exposed to the electromagnetic field in the postoperative period (three cycles of two hours, with intervals of twenty-four hours between cycles). Animals in Group III were exposed to the electromagnetic field in the preoperative period (three cycles of two hours with an interval of twenty-four hours between cycles in the two days prior to the intervention). The intestinal segments were resected including 2 cm of bowel on either side. These segments were submitted to test burst pressure and histological examinations to assess healing. The statistical analysis showed that the values of burst pressure were significantly higher in Group II compared to the other ( $p < 0.05$ ). Histological analysis of fragments of the anastomosis stained with hematoxylin-eosin showed exacerbation of the healing process in Group II compared to the other, based on the range last Ehrlich and Hunt, ( $p < 0.05$ ). Was also found increased levels of newly formed collagen in Group II ( $p < 0.05$ ). It was concluded that exposure to electromagnetic field within 72 hours after colonic anastomoses in rats interferes positively in the healing process based on physical parameters and histological findings.

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

FIGURA 1	Bobina geradora do campo eletromagnético.....	29
FIGURA 2	a) Solenóide percorrido por uma corrente elétrica gerada por uma bateria; b) Linhas de força do campo eletromagnético.....	29
FIGURA 3	Multímetro (M) ligado à bobina (B).....	30
FIGURA 4	Bobina (B) no interior da gaiola.....	31
FIGURA 5	Instalações do CBR onde os animais foram mantidos durante o experimento.....	32
FIGURA 6	Animal posicionado para intervenção cirúrgica. Tosquia e antisepsia realizadas. Linha tracejada: marcação da celiotomia.....	35
FIGURA 7	Local da colotomia e anastomose (seta). C: ceco.....	35
FIGURA 8	Anastomose concluída (seta). I:Íleo. C: ceco. ....	36
FIGURA 9	Segmento intestinal contendo anastomose .....	37
FIGURA 10	Dispositivo para medida da pressão de ruptura. Compressor (C). Esfignomanômetro digital (E). Cateter de Nelaton (N). Segmento intestinal (I).....	38
FIGURA 11	Dispositivo para medida da pressão de ruptura. Esfignomanômetro digital (E). Cateter de Nelaton (N). Recipiente com água (R).....	39
FIGURA 12	Fotomicrografia mostrando neoformação vascular em animal do Grupo II. HE .....	44
FIGURA 13	Fotomicrografia de corte histológico da zona da anastomose mostrando depósito moderado de colágeno. À esquerda: Picrosirius. À direita : HE.....	45

GRÁFICO 1	Média das pressões de ruptura nos grupos.....	43
GRÁFICO 2	Média dos escores da análise histopatológica nos três grupos.....	45
GRÁFICO 3	Relação colágeno novo / antigo nos grupos.....	46
GRÁFICO 4	Correlação entre os valores da pressão de ruptura e os valores das médias do escore histológico.....	47
GRÁFICO 5	Correlação entre os valores de pressão de ruptura e razão entre colágenos I e III.....	48
QUADRO 1	Fórmula para cálculo da intensidade do campo magnético.....	30
QUADRO 2	Distribuição dos animais em relação ao período de exposição ao campo eletromagnético.....	33
QUADRO 3	Escala de Ehrlich e Hunt modificada.....	40

## LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

B: Densidade de Fluxo Magnético

T: Tesla

mT: mili Tesla

mg: miligrama

Kg: Quilograma

%: Porcentagem

UFJF: Universidade Federal de Juiz de Fora

CBR: Centro de Biologia da Reprodução

CETEA: Comitê de Ética e Pesquisa em Experimentação Animal

COBEA: Colégio Brasileiro de Experimentação Animal

UFMG: Universidade Federal de Minas Gerais

mm: milímetros

PVC: Cloreto de polivinil

cm: centímetros

V: Volts

Hz: Hertz

W: Watts

g: gramas

nm: nanômetros

$\mu$ T : microTesla

HE: Hematoxilina – eosina

mmHg: milímetros de mercúrio



## ÍNDICE

1	INTRODUÇÃO.....	13
2	OBJETIVOS.....	16
3	REVISÃO DA LITERATURA.....	18
3.1	Princípios da cicatrização intestinal.....	19
3.2	Princípios do eletromagnetismo.....	21
3.3	Bioefeitos do eletromagnetismo.....	22
3.4	Métodos de avaliação de anastomoses intestinais.....	24
3.4.1	Métodos Físicos.....	24
3.4.2	Método Histológico – Hematoxilina-eosina.....	24
3.4.3	Método Histológico - Densitometria do colágeno.....	25
4	MATERIAIS E MÉTODOS.....	27
4.1	Campo Eletromagnético.....	28
4.2	Manutenção e manejo dos animais.....	31
4.3	Grupos do experimento.....	32
4.4	Anestesia.....	34
4.5	Procedimento cirúrgico.....	34
4.6	Analgesia pós-operatória.....	36
4.7	Re operação.....	36
4.8	Pressão de Ruptura.....	37
4.9	Análise histológica / Hematoxilina-eosina.....	39
4.10	Análise histológica / Densitometria do colágeno.....	41
4.11	Análise estatística dos dados.....	41
5	RESULTADOS.....	42

5.1	Pressão de ruptura.....	43
5.2	Análise histológica / hematoxilina-eosina.....	44
5.3	Análise histológica / Densitometria do colágeno.....	45
5.4	Comparação entre as médias de pressão de ruptura e as médias das análises histológicas.....	46
5.4.1	Pressão de ruptura x Escore histológico / HE.....	47
5.4.2	Pressão de ruptura x Densitometria do colágeno.....	48
6	DISCUSSÃO.....	49
6.1	Modelo experimental.....	50
6.2	Características do campo eletromagnético.....	51
6.3	Número de animais por grupo.....	53
6.4	Métodos de avaliação da cicatrização.....	53
6.4.1	Pressão de ruptura.....	53
6.4.2	Análise histológica / hematoxilina-eosina.....	54
6.4.3	Análise histológica / densitometria de colágeno.....	55
6.5	Correlação entre campo eletromagnético e cicatrização.....	55
7	CONCLUSÕES.....	57
8	PERSPECTIVAS FUTURAS.....	59
9	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	61
10	APÊNDICES.....	67
11	ANEXO .....	73

# INTRODUÇÃO

A otimização da cicatrização de anastomoses intestinais é objetivo de muitos estudos da literatura médica, visando a prevenção de deiscência, fístula e peritonite fecal. Tais complicações aumentam a morbidade e a mortalidade de intervenções cirúrgicas sobre o cólon, devido ao grande número de bactérias contido no lúmen intestinal, com incidência de até 35% (HENDRIKS e MASTBOOM, 1990). As deiscências ocorrem mais comumente entre o terceiro e o quinto dia de pós-operatório, na transição entre a primeira e a segunda fases da cicatrização, período crítico onde predominam a inflamação e o edema (KANTO e FAGUNDES 2005). Nesta fase ocorre diminuição acentuada do conteúdo de colágeno, causando baixa resistência da anastomose. Estudos foram empreendidos no intuito de estabelecer os melhores tipos de fio de sutura e o uso de agentes farmacológicos, todos almejando aprimorar o processo de cicatrização (SOUZA, 1993).

É reconhecida a importância da camada submucosa na cicatrização intestinal, 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. (KORUDA e ROLANDELLI, 1990).

A relação entre o eletromagnetismo e o processo de reparo celular vem sendo estudada com maior ênfase nos últimos decênios do século XX. Estudos experimentais demonstraram efeitos positivos do eletromagnetismo na regeneração óssea após fraturas, no aumento do impulso nervoso após secção cirúrgica de nervos periféricos de ratos e na regeneração hepática após hepatectomias (AARON e CIOMBOR, 1993; BASSET *et al.*, 1982; ITO e BASSET, 1983; OTTANI *et al.*, 1984).

Outros autores, também em estudos experimentais, observaram efeitos do eletromagnetismo sobre a síntese de DNA (aumento do número de mitoses) e sobre a troca iônica (GOODMAN e HENDERSON, 1986; GUSELSO *et al.*, 1994).

A eficácia da exposição ao campo eletromagnético na cicatrização de anastomoses de íleo e de cólon foi comprovada em estudos experimentais (MENTES *et al.*, 1996; NAYCI *et al.*, 2001; NAYCI *et al.*, 2003). Foram avaliadas variações na intensidade do campo, assim como o tempo de exposição, mas não foram estabelecidos a intensidade do campo eletromagnético ideal nem o número de horas de exposição. Também não foi avaliada a exposição de animais ao campo

eletromagnético no pré operatório ou a comparação entre a exposição no pré e pós operatório.

Esta pesquisa objetivou estudar os efeitos do eletromagnetismo na cicatrização de anastomoses do cólon de ratos.

# **OBJETIVO**

- Estudar os efeitos do campo eletromagnético na cicatrização de anastomoses de cólon em ratos, por meio de parâmetros físico e histológicos, visando comprovar sua eficácia como fator adjuvante na cicatrização quando aplicado no pré e pós operatório.

# 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 freqüentemente se deparavam com feridas drenando secreções e com graves complicações relacionadas às cirurgias do sistema digestório. Com o estudo e o conseqüente conhecimento dos mecanismos básicos da cicatrização, o índice de complicações cirúrgicas diminuiu de maneira significativa ao longo do século XX (BALLANTYNE, 1984).

O mecanismo da cicatrização dá-se por meio de uma 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 (THOMAS *et al.*, 1995).

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 concentração do colágeno, com aumento da degradação do colágeno existente, tanto nas bordas da ferida quanto nas suas adjacências, e deposição ainda pequena do colágeno neoformado (ARAÚJO e BARBUTO, 2005). O final da primeira fase é o período de maior risco para a anastomose, quando são mais freqüentes as ocorrências de deiscência e de fístula (KANTO e FAGUNDES, 2005).

A segunda fase estende-se do terceiro ao 14<sup>o</sup> dias, predominando 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, 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 a uma boa cicatrização. Há grande aumento na resistência da anastomose nesta fase (ARAÚJO e BARBUTO, 2005).

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

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 (THORNTON e BARBUL, 1997). A velocidade de reparo intestinal parece estar relacionada com a vascularização de cada segmento. Assim, anastomoses de cólon seriam mais propensas a apresentarem fístulas do que as anastomoses de intestino delgado. A ruptura do segmento ocorre habitualmente ao redor da linha de sutura, pela perda do colágeno na região circunvizinha (ISHIMURA *et al.*, 1998; JONSSON *et al.*, 1986).

A relação entre a cicatrização de anastomoses intestinais e os materiais e técnicas empregados na sua confecção vem sendo estudada, visando a redução de suas complicações.

Os fios de sutura perdem a função de sustentação nas anastomoses intestinais entre sete e dez dias. A resistência a partir da segunda semana deve-se basicamente à camada submucosa, rica em colágeno. (JONSSON *et al.*, 1983)

Souza (1993), com base em pesquisa sobre anastomoses intestinais, ressaltou que 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, contudo apresenta maior resistência tênsil quando comparada à sutura em plano único, aumentando a incidência de estenoses.

Halsted, em 1887, realizou estudo experimental em cães no qual 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. (*apud* FERREIRA, 2004)

Com relação à aproximação das bordas, os melhores resultados são obtidos quando se realiza a sutura com inversão destas. Isso impede que a mucosa fique na linha de sutura, o que aumenta 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. (SOUZA, 1993)

### 3.2 Princípios do eletromagnetismo

O magnetismo é a propriedade de determinado material atrair ou repelir objetos. A primeira referência conhecida sobre uma substância capaz de atrair outras é a de Tales de Mileto. Segundo ele, os habitantes de Magnésia, uma região da Grécia, conheciam material com tal propriedade, mas esse fenômeno nunca despertou grande interesse até o século XIII, quando a bússola passou a ser usada. Alguns pesquisadores tentaram explicar o magnetismo durante essa época, mas só no século XIX, quando Oersted e Maxwell formularam as leis que descreviam esses fenômenos, que um estudo mais completo se iniciou. James Maxwell descreveu a relação entre o magnetismo e a eletricidade. O movimento dos elétrons é capaz de gerar um campo eletromagnético ao seu redor. O número e a maneira como os elétrons estão organizados nos átomos constituintes dos diversos materiais é que explicarão o comportamento das substâncias quando estão sobre influência de um campo eletromagnético (YAMAMOTO *et al.*, 2006).

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) (CALCADA, 2007).

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. Em estudos experimentais usados para testar os bioefeitos do magnetismo, as densidades dos campos magnéticos variam entre 0,2 microTesla e 20 miliTesla (CRIDLAND *et al.*, 1996).

### 3.3 Bioefeitos do eletromagnetismo

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

Basset *et al.* (1982) 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.

Em estudos experimentais, Ito e Basset (1983) comprovaram os efeitos positivos do eletromagnetismo na regeneração de nervos de ratos, seccionados cirurgicamente. Houve aumento do estímulo sensitivo nos animais expostos a um campo eletromagnético.

Ottani *et al.* (1984) realizaram um estudo experimental no qual ratos foram submetidos a hepatectomias parciais. Os animais expostos a pulsos eletromagnéticos no pós-operatório apresentaram maior na regeneração hepática que os demais.

Hendriks e Mastboom (1990) e Koruda e Rolandelli (1990) encontraram aumento significativo no número de mitoses de fibroblastos expostos a um campo eletromagnético em meio de cultura.

Dindar *et al.* (1993) 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 um campo eletromagnético no pós-operatório, inclusive naqueles que receberam o corticóide.

Guzelso *et al.* (1994) observaram aumento na proliferação de fibroblastos em tendões de animais lesados cirurgicamente, após aplicação de um campo eletromagnético no pós-operatório.

Mentes *et al.* (1996) 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 a cirurgia 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.

Nayci *et al.* (2001) concluíram que o eletromagnetismo interferiu 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 na linha de sutura mais freqüentemente. Os autores observaram aumento na concentração de hidroxiprolina nos segmentos de intestino dos animais que foram expostos ao campo magnético.

Em trabalho posterior, Nayci *et al.* (2003) expuseram animais a um campo eletromagnético com as mesmas características do estudo anterior. Os animais operados (ressecção 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 nos segmentos intestinais anastomosados.

Tepper *et al.* (2004) estudaram os efeitos de um campo eletromagnético sobre a angiogênese. Submeteram uma 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).

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

### 3.4 Métodos de avaliação de anastomoses intestinais

#### 3.4.1 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) (TRUBIAN, 2004).

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 na outra é conectado um 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 (*apud* FERREIRA, 2004).

Rezende Neto (1998) utilizou o método na avaliação da resistência de suturas duodenais com ou sem omentoplastia pediculada.

Cavalcanti *et al.* (2005) utilizaram o método para medir a pressão de ruptura de anastomoses de cólon de ratos na vigência de colite induzida por ácido acético a 10% tratados com extrato de Aroeira do Sertão a 10%.

Greca *et al.* (2000a) utilizaram a força de pressão de ruptura como método físico para avaliação da cicatrização de anastomoses de cólon esquerdo de ratos na vigência de doença inflamatória induzida.

Biondo-Simões *et al.* (2000a) utilizaram o método para avaliar a influência da peritonite na síntese de colágeno em anastomoses intestinais de ratos.

#### 3.4.2 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.* (2000a e 2000b)

modificaram a escala de Ehrlich & Hunt, onde são atribuídos pontos para avaliação histológica.

Greca *et al.* (2000b) 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.

Greca *et al.* (2000a) utilizaram o mesmo escore adaptado na avaliação histopatológica da cicatrização de anastomoses de cólon esquerdo de ratos na vigência de doença inflamatória induzida.

Biondo Simões *et al.* (2000b) utilizaram o método na avaliação entre o tempo transcorrido entre a lesão do cólon e a síntese no processo de cicatrização.

### **3.4.3 Método Histológico - Densitometria do colágeno**

Trata-se de outro método histológico usado especificamente para a avaliação e diferenciação de tipos de colágeno. Por meio de um corante específico e com o auxílio de luz polarizada, diferenciam-se os tipos de colágeno maduro e imaturo e estabelece-se relação entre eles.

O método utiliza a coloração de Van Gieson (picrofuccina), empregada pela primeira vez em técnicas histológicas em 1889. O corante *Sirius Red F3AB*, 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 porcentagem de fibras maduras e imaturas permite a avaliação quantitativa da cicatrização (JUNQUEIRA *et al.*, 1978).

Biondo - Simões *et al.* (2000a e 2000b) 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 de peritonite induzida. Posteriormente estudaram a influência do tempo

transcorrido entre uma lesão de cólon induzida cirurgicamente em ratos e a 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.

Greca *et al.* (2000a) utilizaram o método na avaliação da cicatrização de anastomoses de cólon esquerdo de ratos na vigência de doença inflamatória induzida.

Ferreira (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).



# **MATERIAIS E MÉTODOS**

Foram utilizados 30 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. O CBR é cadastrado pelo Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA). O projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa e Experimentação Animal da Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG) (ANEXO 1).

#### 4.1 Campo Eletromagnético

O campo eletromagnético foi desenvolvido 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 0,57 mm de diâmetro no formato de cilindro homogêneo ao redor de um tubo de PVC de 39,5 cm de comprimento e 15,5 cm 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 uma corrente elétrica que atravessava da bobina. As linhas de força do campo estão demonstradas 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 128 Volts e a frequência da corrente, 60 Hertz (dados da empresa fornecedora). Utilizando um multímetro, verificou-se que o valor da corrente através da bobina foi 0,78 *Ampères*, a resistência, 165 *Ohms* e a corrente possuía uma potência de 100 *Watts* (FIG. 3).

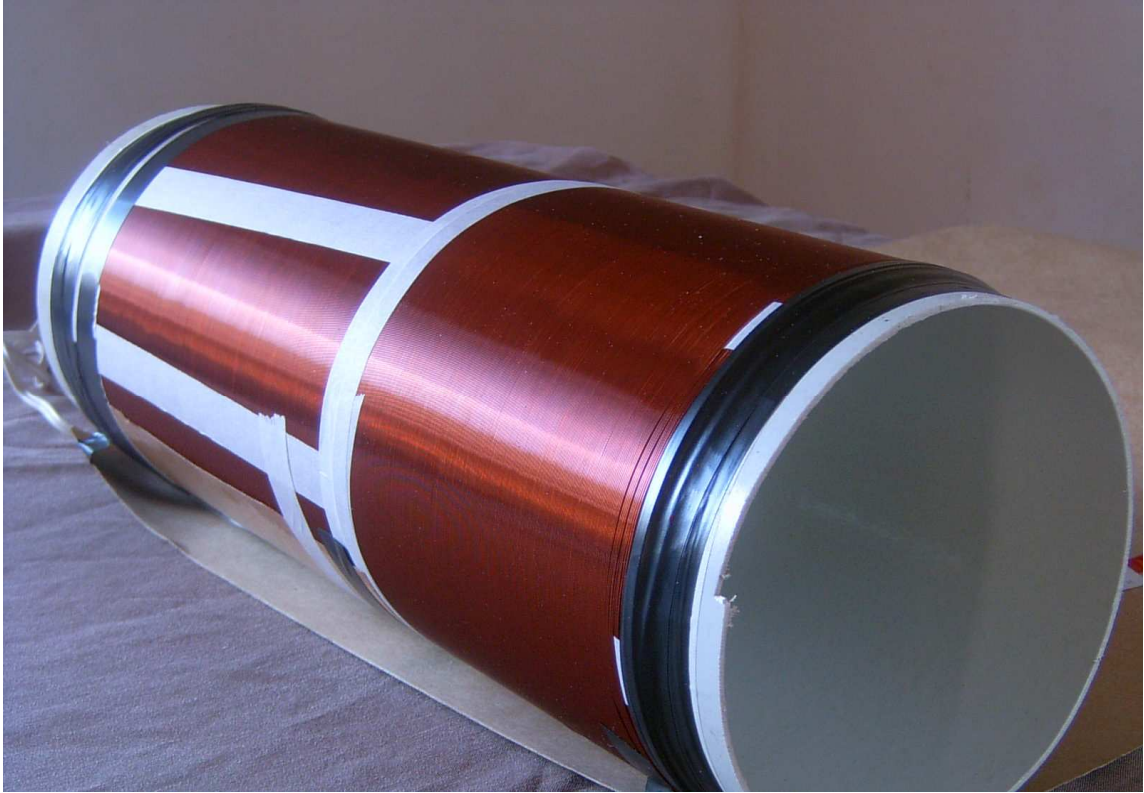


FIGURA 1- Bobina geradora do campo eletromagnético

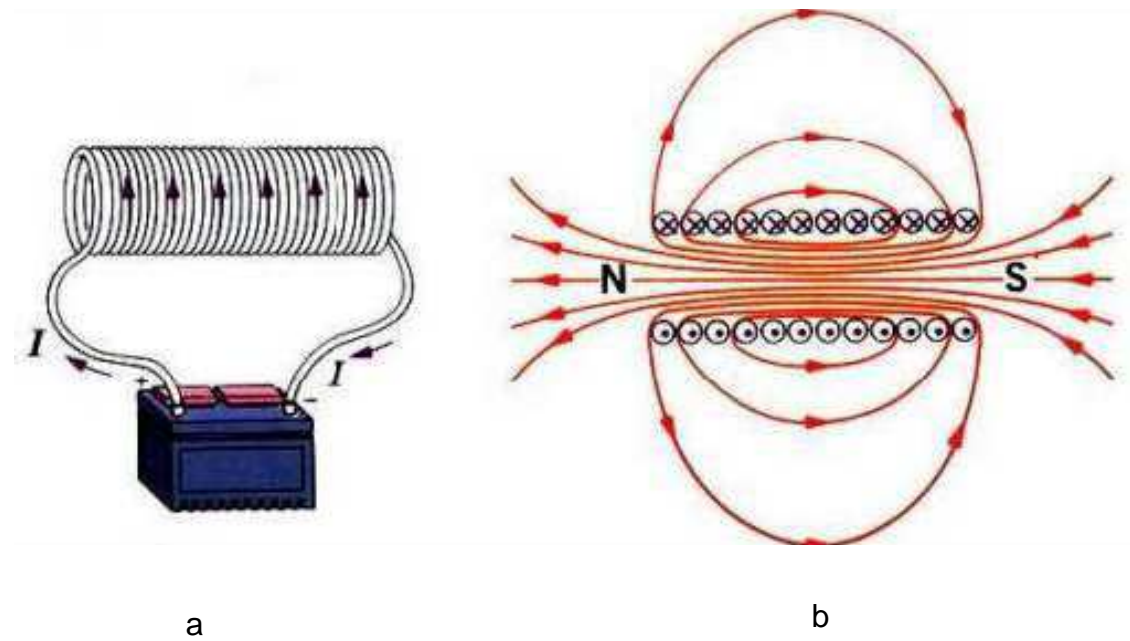


FIGURA 2- a) Solenóide percorrido por uma corrente elétrica gerada por uma bateria;  
b) Linhas de força do campo eletromagnético.

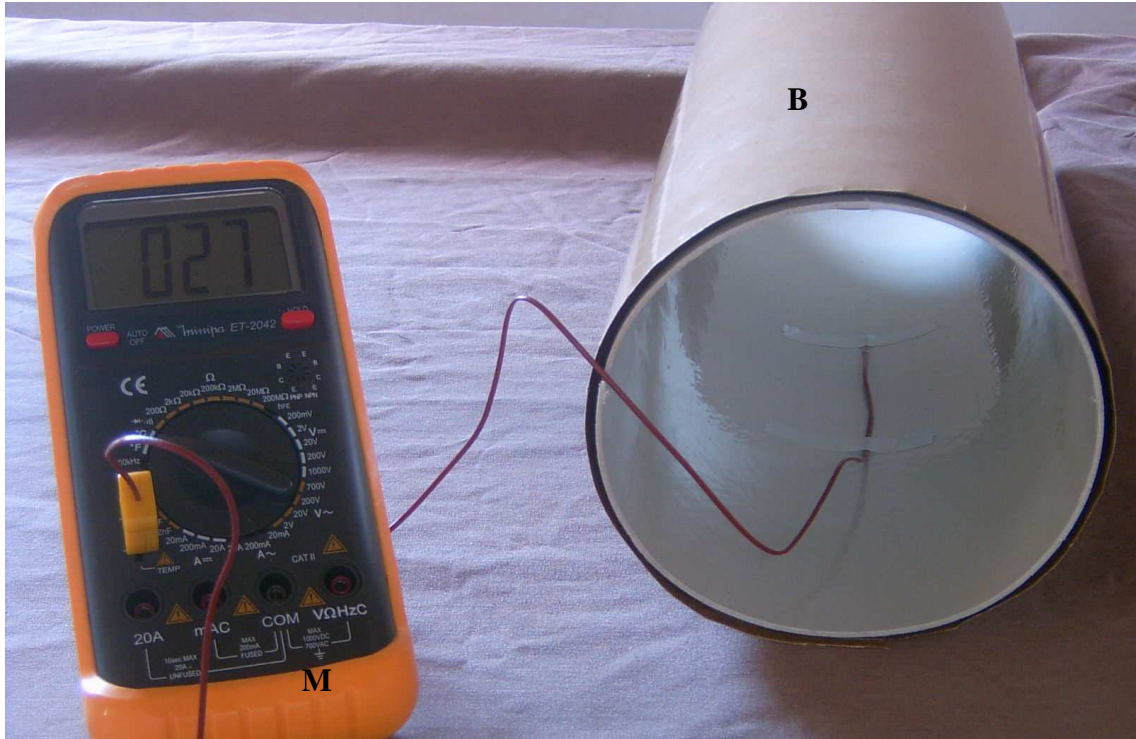


FIGURA 3 – Multímetro (M) ligado à bobina (B).

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

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

$\mu_0$ : 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 uma gaiola de madeira de modo que a bobina ficasse em seu interior (FIG. 4). Os animais foram expostos ao campo colocando-os no interior da bobina com o circuito elétrico ligado.

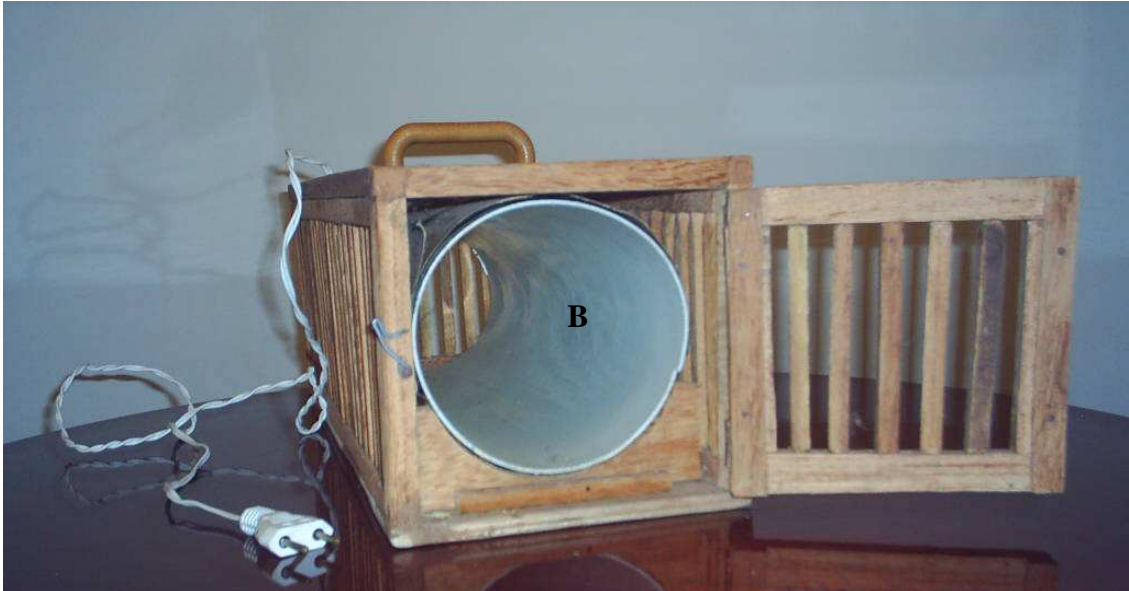


FIGURA 4 – Bobina (B) no interior da gaiola.

#### 4.2 Manutenção e manejo dos animais

Os ratos foram alojados, em grupos de cinco, em gaiolas de polipropileno, com maravalhas selecionadas, 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 (FIG. 5).

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 um período de jejum pré-operatório de 4 horas. Não houve nenhum tipo de preparo de cólon.



FIGURA 5- Instalações do CBR onde os animais foram mantidos durante o experimento.

### 4.3 Grupos do experimento

Os animais foram divididos aleatoriamente em três grupos com dez animais cada. Todos foram submetidos ao mesmo procedimento cirúrgico. A distribuição de animais por grupo e o período de exposição ao campo eletromagnético estão demonstrados no QUADRO 2.

## QUADRO 2

Distribuição dos animais em relação ao período de exposição ao campo eletromagnético.

<b>Grupo</b>	<b>Intensidade de campo</b>	<b>Pré-operatório</b>	<b>Pós-operatório</b>	<b>Número de animais</b>
I	-----	-----	-----	10
II	10,04 mT	-----	sim	10
III	10,04 mT	sim	-----	10

Grupo I: animais que não foram expostos ao campo eletromagnético.

Grupo II: animais expostos ao campo eletromagnético no período de pós-operatório

Grupo III: animais expostos ao campo eletromagnético no pré-operatório

MT: mili Tesla

### **Grupo I**

O Grupo I (controle) foi composto por animais que não foram expostos ao campo eletromagnético. Foram identificados individualmente de A1 a A10.

Foram submetidos ao procedimento cirúrgico descrito e re operados 72 horas após.

### **Grupo II**

O Grupo II foi composto por animais expostos 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 24 horas de intervalo entre eles. Foram re operados 72 horas após a intervenção. Os animais foram identificados individualmente de B1 a B10.

### **Grupo III**

O Grupo III foi composto por animais expostos ao campo eletromagnético no pré-operatório. Os animais receberam três ciclos de exposição, de duas horas de duração, com intervalo de 24 horas entre eles, sendo que o terceiro ciclo terminou imediatamente antes do início da operação. Os animais foram re operados 72 horas após. Foram identificados de C1 a C10.

#### 4.4 Anestesia

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

#### 4.5 Procedimento cirúrgico

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

Após identificação do ceco, foi realizada secção transversal completa do cólon a 4 cm distais ao mesmo (FIG. 7).

A seguir foi realizada anastomose término-terminal, com pontos separados, sutura invaginante em plano total, 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.



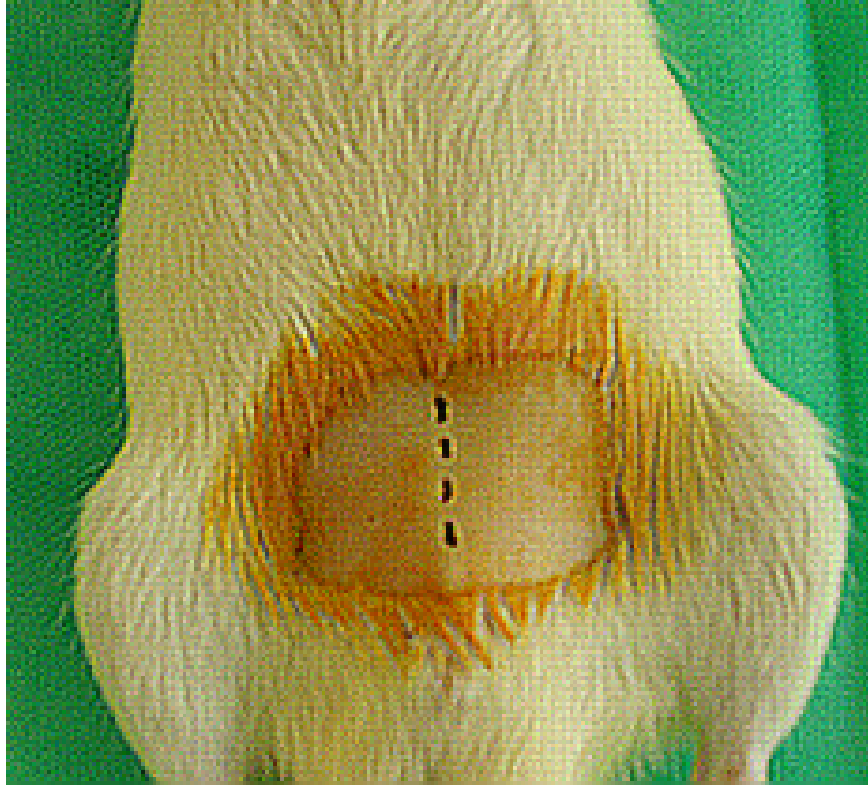


FIGURA 6 – Animal posicionado para intervenção cirúrgica.  
Tosquia e antissepsia realizadas. Linha tracejada: marcação  
do local da celiotomia.

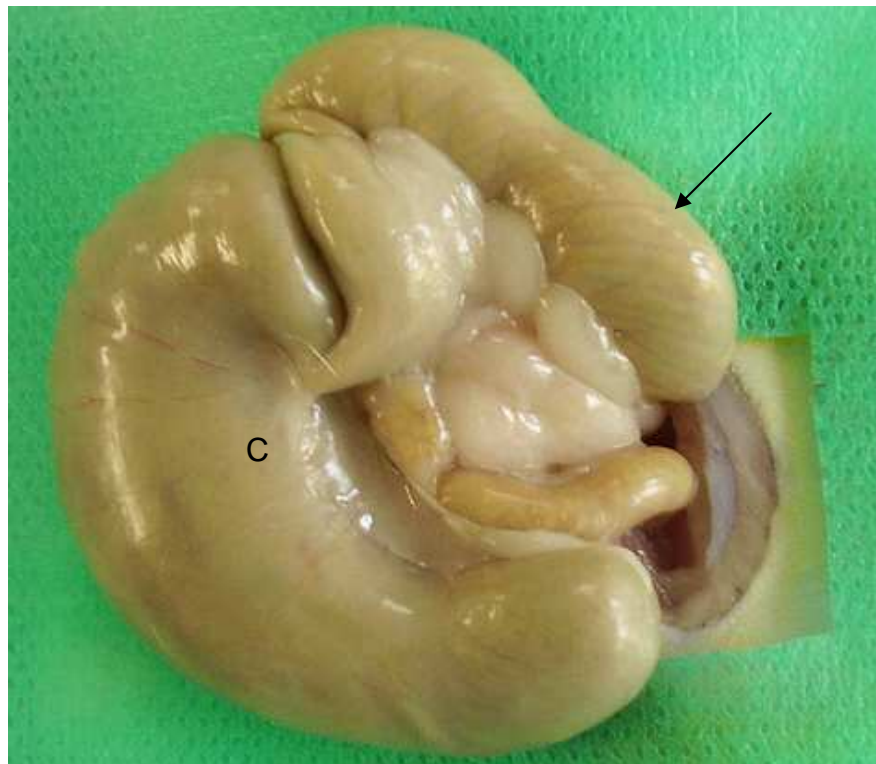


FIGURA 7 - Local da colotomia e para a realização da anastomose (seta).  
C: ceco.



FIGURA 8 - Anastomose concluída (seta). I: Íleo. C: ceco.

#### 4.6 Analgesia pós-operatória

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

#### 4.7 Re operação

Setenta e duas horas após a intervenção cirúrgica, todos os animais foram submetidos à nova celiotomia, anestesiados com a mesma técnica anterior. Os segmentos intestinais anastomosados foram identificados, as aderências foram delicadamente desfeitas e os segmentos intestinais foram ressecados com margem de aproximadamente 2 cm de distância da anastomose (FIG 9).



FIGURA 9: Segmento intestinal contendo anastomose

O procedimento para eutanásia consistiu em aspirar cerca de 2 ml de sangue da veia cava dos animais, o que foi seguido de 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 análises histológicas para avaliação da cicatrização.

#### 4.8 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 ligada a um compressor de ar, que insuflou o segmento do intestino, e a outra conectada a um medidor digital de pressão (FIG. 10).

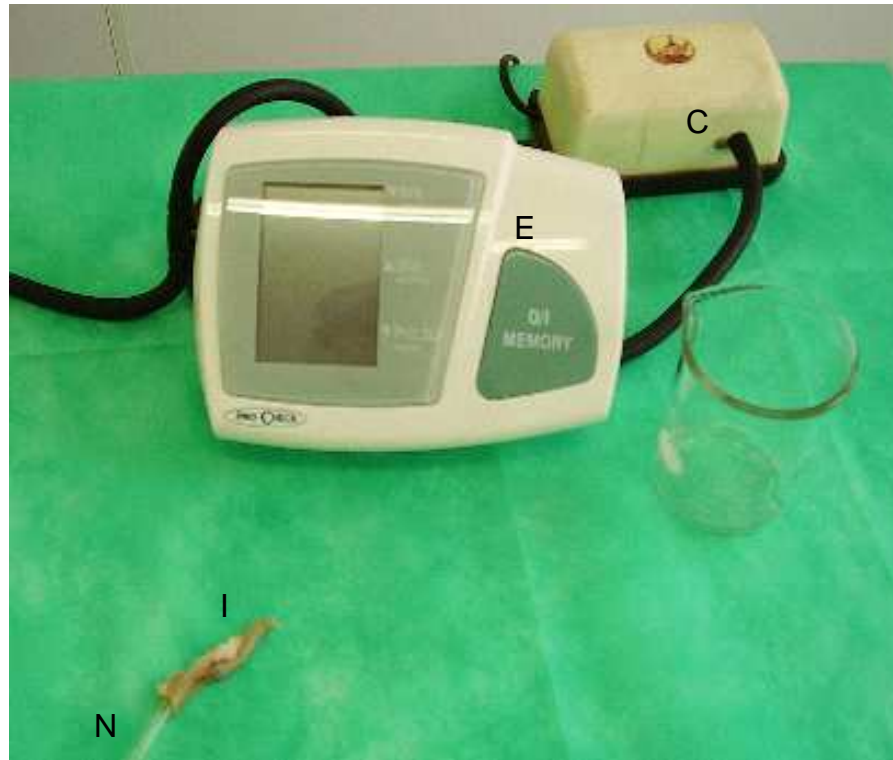


FIGURA 10 - Dispositivo para medida da pressão de ruptura. Compressor (C). Esfigmomanômetro digital (E). Cateter de Nelaton (N). Segmento intestinal (I).

Os segmentos intestinais eram imersos dentro de um recipiente contendo água, de modo que ficassem completamente submersos. 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 (FIG 11).



FIGURA 11 - Dispositivo para medida da pressão de ruptura. Esfigmomanômetro digital (E). Cateter de Nelaton (N). Recipiente com água (R).

#### 4.9 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, e corados 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 as presenças e as características da 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 quanto à hialinização vascular.

Estabeleceu-se um 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

<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	neutrofílico
<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		

#### **4.10 Análise histológica / Densitometria do colágeno**

Os cortes histológicos foram corados com o corante *Sirius Red F3AB* e a seguir avaliados com luz polarizada para diferenciação das fibras colágenas.

Calculou-se a porcentagem de fibras de colágeno Tipo I e III, a seguir foi estabelecida a razão entre as porcentagens. Com isso pode-se comparar a concentração de colágeno neoformado nos diferentes grupos.

#### **4.11 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 um valor de  $p < 0,05$  como estatisticamente significativo.

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

# RESULTADOS



## 5.1 Pressão de ruptura

No Grupo I (controle) observou-se uma variação de pressão de ruptura de 38 mmHg a 54 mmHg, com média de 47 mmHg. O Grupo II (campo pós-operatório) apresentou uma variação de 50 mmHg a 95 mmHg com média de 72,8 mmHg. Já o Grupo III (campo pré-operatório) a variação foi de 39 mmHg a 58 mmHg, com média de 47,4 mmHg.

O Grupo II apresentou um aumento na média de pressão de ruptura em relação ao Grupo I de  $25,8 \pm 3,8$  mmHg ( $p < 0,001$ ). Comparando-o com o Grupo III, o aumento foi de  $25,4 \pm 3,8$  mmHg ( $p < 0,001$ ).

Comparando os grupos I e III, o aumento de pressão do Grupo III foi de  $0,4 \pm 3,8$  mmHg ( $p = 0,9$ ).

Os resultados mostraram que a média do Grupo II foi maior ( $p < 0,001$ ) do que as médias dos outros dois grupos e que entre os grupos I e III não houve diferença significativa ( $P > 0,05$ ).

Os resultados com as médias entre os três grupos estão demonstrados no GRAF.1.

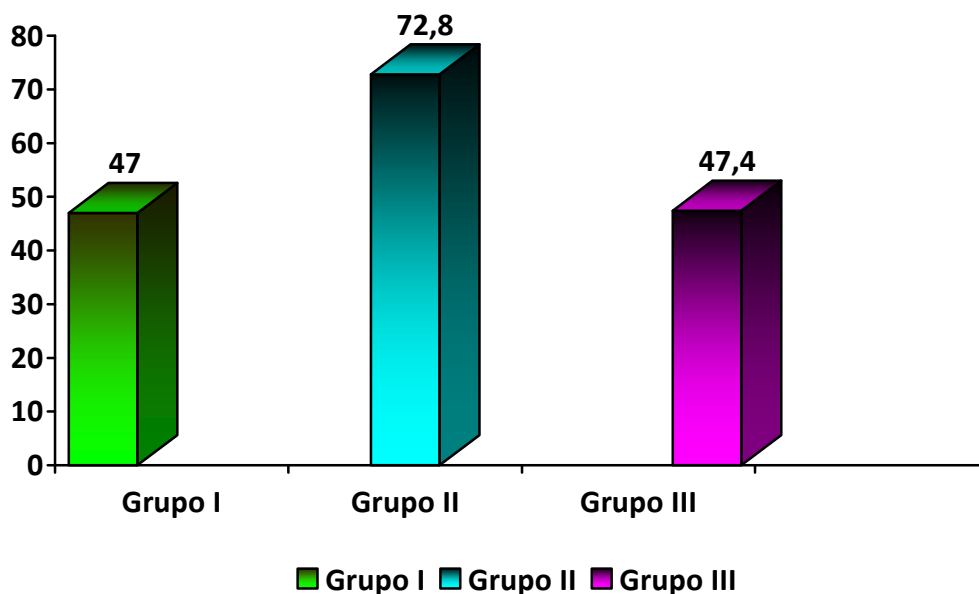


Gráfico 1 - Média das pressões de ruptura nos grupos em mmHg.

## 5.2 Análise histológica / hematoxilina-eosina

As pontuações do Grupo I variaram de 5 a 7, com média de 5,9 (de acordo com a escala) .No Grupo II a variação foi de 8 a 12, com média de 10,2 e no Grupo III de 5 a 8, com média de 6,5. O teste de Kruskal-Wallis aplicado para análise do escore entre os grupos revelou um aumento significativo do Grupo II em relação aos demais ( $p < 0,01$ ).

Com relação às análises isoladas de cada camada da parede intestinal, observou-se, com maior relevância no Grupo II, 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, houve maior tendência à neoformação vascular e conjuntiva (FIG. 12). Sobre essas análises, não foram aplicados testes estatísticos.

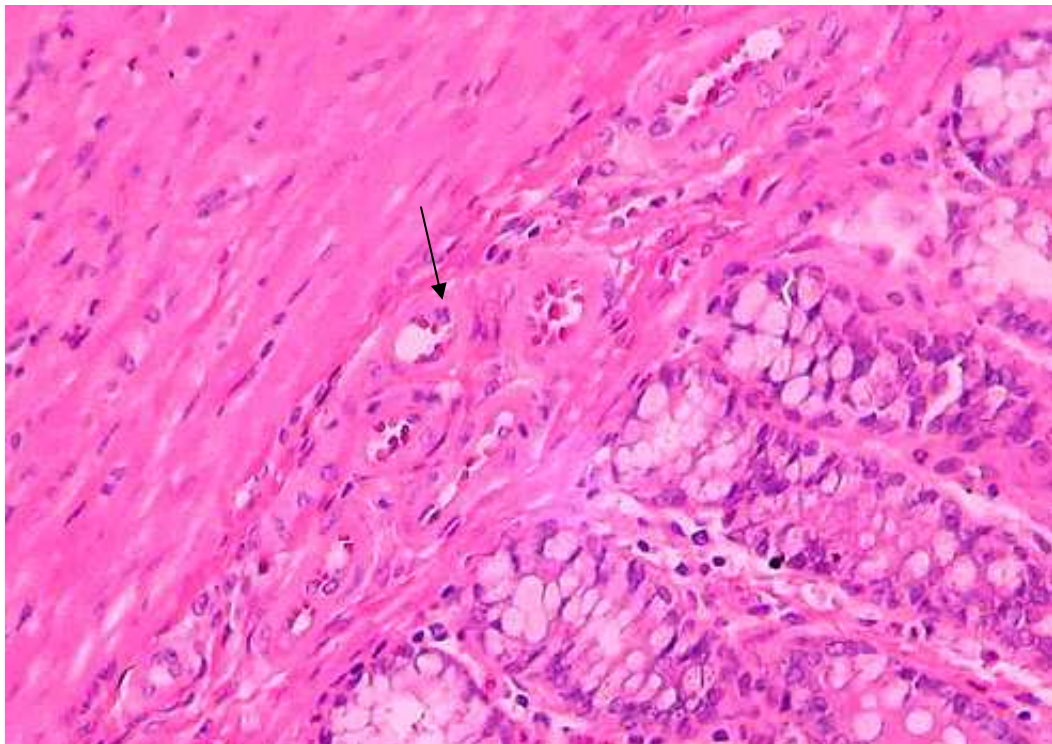


Figura 12 - Fotomicrografia mostrando neoformação vascular em animal do Grupo II. HE

O resultado do escore de pontos dos três grupos está demonstrado no GRAF. 2.

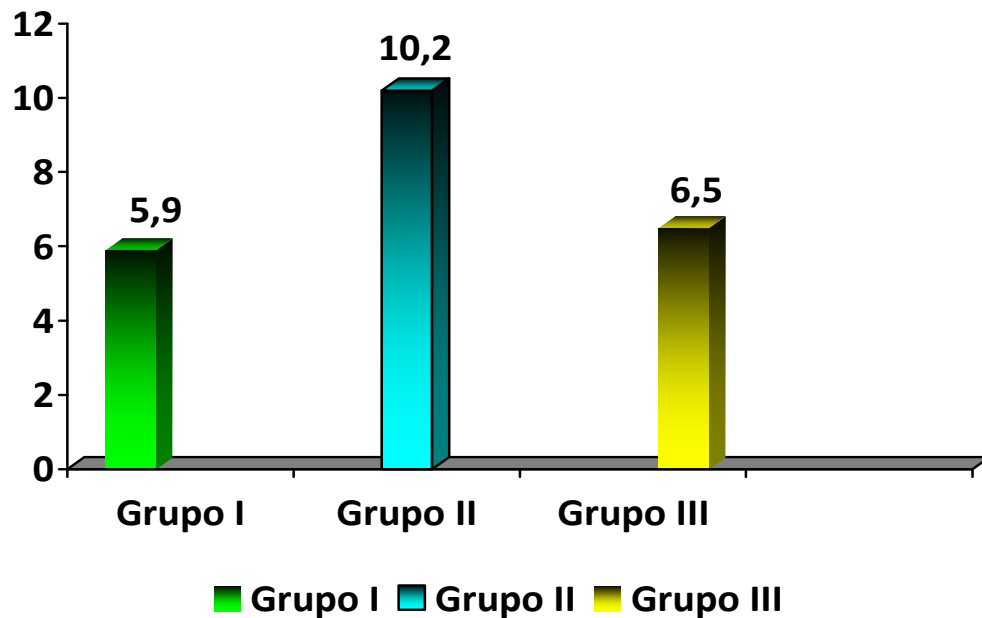


Gráfico 2 - Média dos escores da análise histológica nos três grupos.

### 5.3 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)

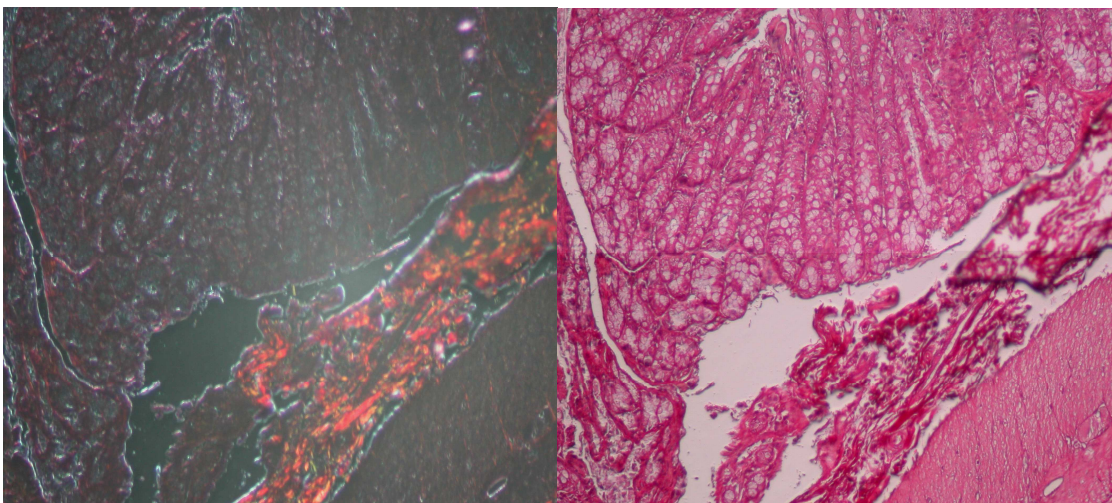


Figura 13 - Fotomicrografia de corte histológico da zona da anastomose mostrando depósito moderado de colágeno. À esquerda: Picosirius. À direita: HE.

No Grupo I as variações das relações entre colágeno novo e antigo foram de 0,11 a 0,25, com média de 0,17. No Grupo II as variações encontradas foram de 0,25 a 0,53, com média de 0,38. No Grupo III as variações foram de 0,11 a 0,25, com média de 0,17.

O Grupo II apresentou um aumento de  $0,21 \pm 0,03$  em relação aos grupos I e III, com  $p < 0,001$ . Já os grupos I e III não apresentaram diferenças entre os índices ( $p = 1$ ). Os resultados entre as diferenças das relações entre colágeno nos três grupos estão demonstrados na GRAF. 3.

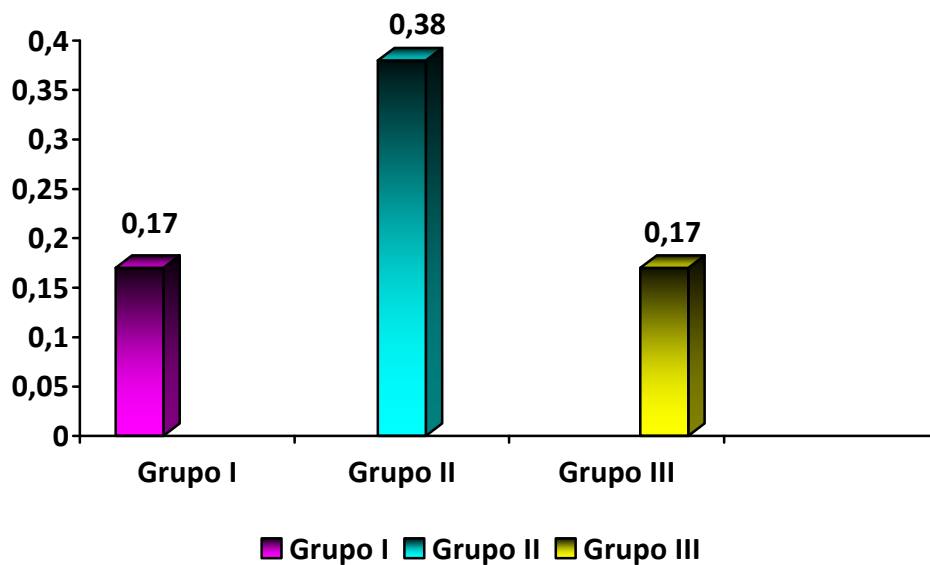


Gráfico 3 - Relação colágeno novo / antigo nos grupos.

#### 5.4 Comparação entre as médias de pressão de ruptura e as médias das análises histológicas

Estabeleceu-se uma comparação entre as medidas de pressão de ruptura com as duas análises histopatológicas realizadas no estudo.

### 5.4.1 Pressão de ruptura x Escore histológico / HE

Comparando os valores de pressão de ruptura dos 30 animais do estudo com seus valores de escore histológico por meio do teste de correlação de Pearson, observou-se forte correlação entre os resultados: quanto maior a medida da pressão de ruptura, maior a pontuação do escore histológico anotada. O índice de correlação encontrado foi de 0,94 ( $p < 0,01$ ). As correlações entre as medidas de pressão de ruptura e as médias do escore histológico dos 30 animais separados em seus três grupos são demonstradas no GRAF. 4.

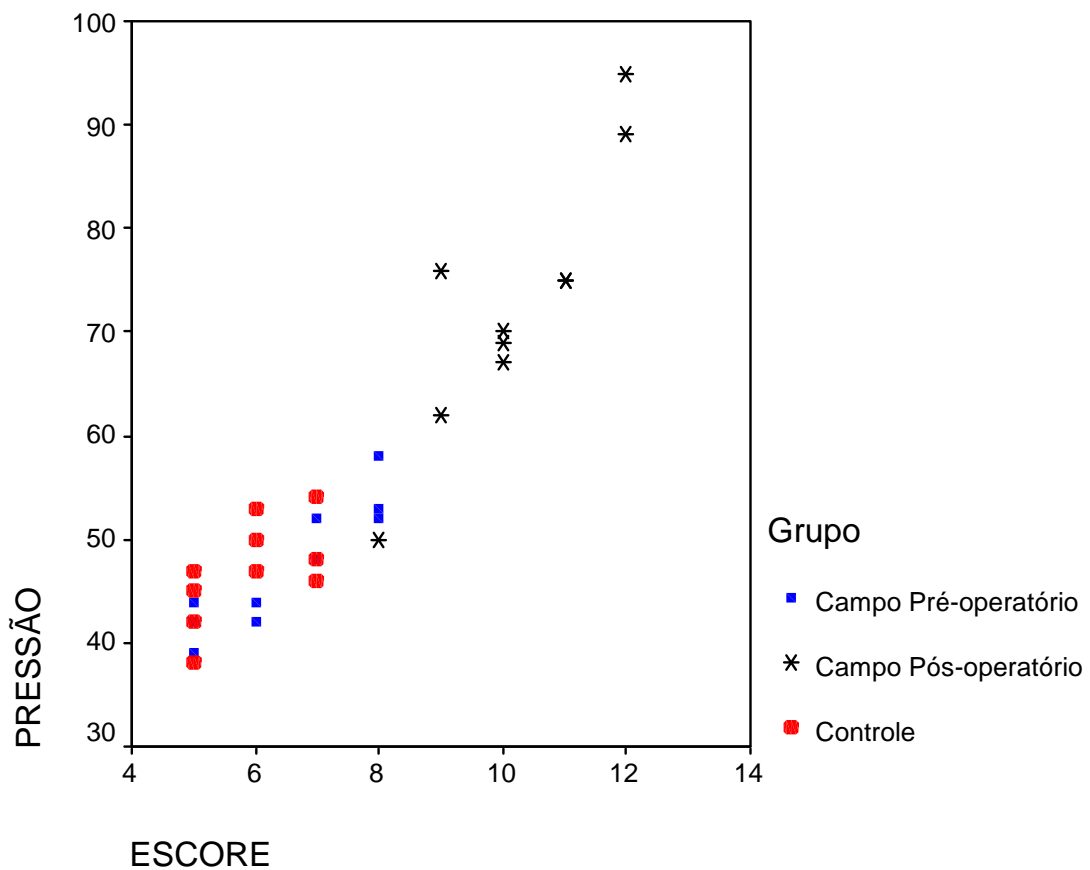


Gráfico 4 - Correlação entre os valores da pressão de ruptura e os valores das médias do escore histológico.

#### 5.4.2 Pressão de ruptura x Densitometria do colágeno

Os valores das pressões de ruptura foram comparados com os valores da relação entre os colágenos tipos I e III. Por meio do teste de correlação de Pearson observou-se elevado índice de correlação entre os valores, 0,97 ( $p < 0,001$ ). Os resultados estão demonstrados no GRAF. 5.

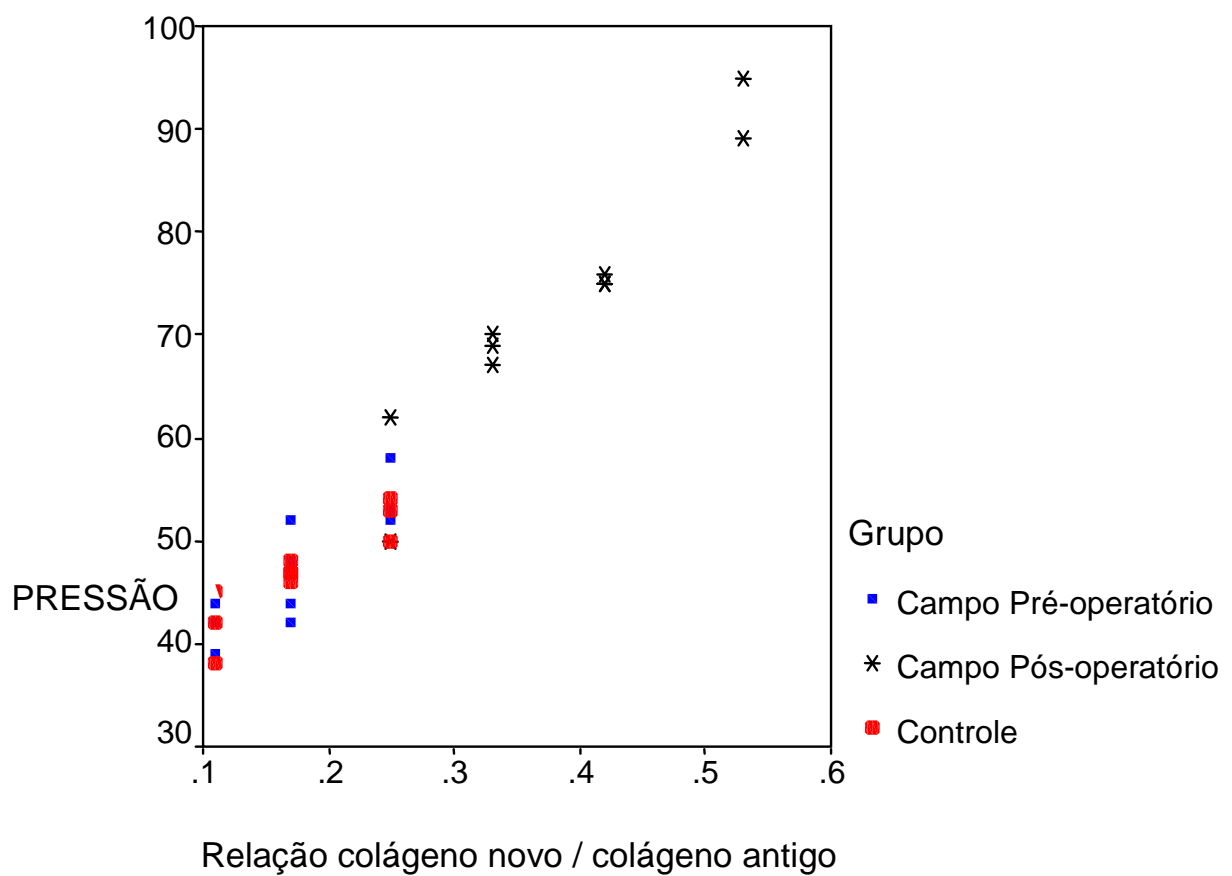


Gráfico 5 - Correlação entre os valores de pressão de ruptura e razão entre colágenos I e III

# DISCUSSÃO

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 e fístulas continua sendo temida pelos cirurgiões, o que motiva a pesquisa de fatores que possam aperfeiçoar o processo fisiológico da cicatrização.

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.

### **6.1 Modelo experimental**

A realização de um ensaio experimental em modelo animal justifica-se pelo fato de não serem conhecidas as características ideais do campo magnético e seus possíveis efeitos deletérios sobre o organismo. 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.

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 em todas as pesquisas encontradas na literatura sobre o tema (AHMANDIANS *et al.*, 2006; DINDAR *et al.*, 1993; MENTES *et al.*, 1996; NANCY *et al.*, 2001; NANCY *et al.*, 2003).

O local da anastomose (cólon, 4 cm distais ao ceco) foi escolhido por se tratar de um local de fácil acesso por meio de incisão cirúrgica pequena, facilitando a realização da anastomose. Nos estudos sobre cicatrização de anastomoses de cólon os autores têm utilizado a porção intra peritoneal do cólon, evitando o reto extra-peritoneal (local mais difícil de acessar e realizar a anastomose) (AHMANDIANS *et al.*, 2006; DINDAR *et al.*, 1993; MENTES *et al.*, 1996; NANCY *et al.*, 2001; NANCY *et al.*, 2003).

O fio de sutura (polipropileno 5.0) foi escolhido devido à facilidade de manuseio, ser monofilamentar, gerando pouca reação inflamatória tecidual, e por ser



utilizado em anastomoses em seres humanos rotineiramente. Mentis *et al.* (1996) utilizaram fio 7.0 de polidiáxonona, enquanto Nayci *et al.* (2001) utilizaram fio 7.0 de polipropileno. A técnica de sutura utilizando pontos separados, em plano único e sutura invaginante, apresenta melhores resultados que outras técnicas descritas para anastomoses de cólon. (SOUZA, 2003).

## 6.2 Características do campo eletromagnético

O campo eletromagnético desenvolvido para o presente estudo foi baseado nos campos utilizados por Mentis *et al.* (1996) e Nayci *et al.* (2001). Um solenóide percorrido por uma corrente elétrica gerou um campo eletromagnético externo aos animais que foram colocados em seu interior.

A frequência da corrente elétrica geradora do campo foi de 60 Hz. No estudo de Mentis *et al.* (1996), a frequência utilizada foi de 100 Hz, já nos estudos de Nayci *et al.* (2001) e Nayci *et al.* (2003), a frequência foi de 50 Hz. Ahmandians *et al.* (2006) utilizaram a mesma intensidade de campo com frequências variáveis de 25 Hz, 50 Hz e 100 Hz. Os autores encontraram resultados mais favoráveis à frequência de 25 Hz. De acordo com as conclusões de Marino *et al.* (1988) (*apud* MENTES *et al.*, 1996) e Blank *et al.* (1993) 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.

As intensidades dos campos eletromagnéticos nos estudos experimentais precedentes para avaliação da cicatrização foram: 1 mT e 2 mT (Mentis *et al.*, 1996), 1 mT e 4 mT (Ahmandians *et al.*, 2006) e 10,76 mT (Nayci *et al.*, 2001 e Nayci *et al.*, 2003). O presente estudo utilizou um campo magnético de 10,04 mT de intensidade. De acordo com Cridland *et al.* (1996), as intensidades de campos magnéticos em estudos experimentais variam de 0,2  $\mu$ T a 20 mT. 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 imediato (Grupo II) ou nas 72 horas de pré-operatório. Mentis *et al.* (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.

Nayci *et al.* (2001) e Nayci *et al.* (2003) 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.* (2006) 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.* (2001), 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 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. Cavalcanti *et al.* (2005) e Greca *et al.* (2000 b), 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. As análises de Menten *et al.* (1996) ocorreram após 72 horas de pós-operatório e o autor concluiu ser positiva a interação entre a exposição ao campo eletromagnético e o processo de cicatrização. Dindar *et al.* (1993), Naicy *et al.* (2001), Nayci *et al.* (2003) e Ahmandians *et al.* (2006) escolheram o sétimo dia de pós-operatório para realizarem suas análises. Hendricks *et al.* (1990), Souza (1993) e Kanto e Fagundes (2005) concluíram que a maioria das alterações do processo de cicatrização ocorrem até o sétimo dia de pós-operatório. O presente trabalho faz parte de uma linha de pesquisa que objetiva estudar possíveis alterações do processo de cicatrização induzidas por diferentes variáveis relacionadas à exposição a campos eletromagnéticos.

### 6.3 Número de animais por grupo

Existe uma preocupação ética nas pesquisas experimentais com o número de animais a ser sacrificado. Deve-se utilizar sempre o menor número possível que satisfaça as análises estatísticas, para evitar um número excessivo de animais. De acordo com o desenho da pesquisa e as análises realizadas, o número calculado de 10 animais por grupo foi considerado satisfatório e aprovado pelo CETEA.

### 6.4 Métodos de avaliação da cicatrização

#### 6.4.1 Pressão de ruptura

Existe controvérsia na literatura quanto ao método mais fidedigno para avaliar as forças que atuam sobre o intestino. Segundo Koruda e Rolandelli (1990), a pressão de ruptura representa o que naturalmente ocorre em relação ao intestino. 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. Relataram ainda que, na maioria dos estudos, os pesquisadores não removem os fios de sutura e realizam a medida de pressão após a retirada do segmento da cavidade abdominal. Mentis *et al.* (1996) mediram a pressão de ruptura intestinal com os segmentos intestinais *in situ*.

Heibel *et al.* (2006) consideram a pressão de ruptura um método melhor para avaliar a resistência em vísceras ocas.

No presente trabalho foi utilizada a pressão de ruptura como método físico para avaliar a cicatrização intestinal. Adicionalmente, foi estabelecida uma relação entre os resultados do método com os resultados dos métodos histológicos por meio da correlação de Pearson, que foi fortemente significativa.

As pressões de ruptura dos animais do Grupo II foram maiores que nos outros dois grupos. Mentis *et al.* (1996) encontraram resultados semelhantes no grupo de animais expostos ao campo magnético. Nayci *et al.* (2001), Nayci *et al.* (2003) e Ahmandians *et al.* (2006) utilizaram como método físico de avaliação da cicatrização intestinal a tensão de ruptura, encontrando valores maiores nos grupos expostos ao campo eletromagnético.

#### **6.4.2 Análise histológica / hematoxilina-eosina**

A análise histológica por meio da coloração hematoxilina-eosina é muito utilizada nos estudos de cicatrização intestinal. Muitos autores a consideram como subjetiva, uma vez que não existe um instrumento de medida preciso para o método, ficando a análise determinada pelo julgamento do patologista. O escore de pontos para avaliação histológica utilizado neste estudo foi adaptado da Escala de Ehrlich & Hunt modificada utilizada por Biondo Simões *et al.* em trabalho realizado em 2000. São atribuídos pontos aos achados histológicos relativos à cicatrização nas camadas da parede intestinal. No presente trabalho todas as lâminas foram avaliadas pelo mesmo patologista e os resultados do método foram comparados com os resultados do parâmetro físico (pressão de ruptura) como forma de validação do método. A correlação foi fortemente significativa.

Assim como encontrado nas medidas de pressão de ruptura, os resultados da análise histopatológica mostraram claramente os efeitos do campo eletromagnético sobre a cicatrização intestinal nos animais expostos ao campo no pós-operatório. Não houve diferença entre o grupo controle e o grupo exposto no pré-operatório. Nos estudos onde se relaciona campo eletromagnético e cicatrização intestinal, os autores não utilizaram o método, que foi utilizado em outros estudos sobre cicatrização intestinal (Greca *et al.*, 2000; Kanellos *et al.*, 2002; Soares Júnior, 2008; Souza, 1993).

### 6.4.3 Análise histológica / densitometria de colágeno

Outro método utilizado para avaliar a cicatrização foi por meio da coloração picrosirius-red F3BA. Com ele pode-se estabelecer a proporção entre o colágeno já existente (Tipo I) e o colágeno neoformado (Tipo III). O método vem sendo utilizado com frequência na avaliação de cicatrização em detrimento à dosagem de hidroxiprolina devido à sua maior facilidade (Hendricks; Mastboom 1990; Junqueira *et al.*, 1978; Soares Júnior 2008). Em estudos relacionados ao tema em questão Mentis *et al.* (1996) e; Nayci *et al.* (2001) e Nayci *et al.* (2003) utilizaram como método para avaliar o colágeno a dosagem bioquímica de hidroxiprolina. Os autores relataram aumento do conteúdo de hidroxiprolina nos grupos de estudo submetidos ao campo eletromagnético no pós-operatório.

No presente estudo foi estabelecida uma relação entre a proporção de colágeno Tipo III e Tipo I. Comparando os resultados obtidos nos três grupos, observou-se aumento na proporção de colágeno Tipo III nos animais do Grupo II em relação aos demais. Ainda para validação do método, foi estabelecida uma comparação entre os resultados das pressões de ruptura nos três grupos e a concentração de colágeno, mostrando correlação positiva.

### 6.5. Correlação entre campo eletromagnético e cicatrização

Apesar dos efeitos do eletromagnetismo serem descritos na prática clínica há mais de três décadas, os estudos envolvendo o eletromagnetismo e o processo de cicatrização intestinal ainda são escassos na literatura.

O mecanismo por meio do qual o campo eletromagnético influencia no processo de cicatrização é desconhecido. Estudos mostraram que a estimulação de fibroblastos por um campo eletromagnético produz alterações na membrana plasmática, o que influencia no transporte de íons transmembrana (Murray;

Farndale, 1985), entretanto há necessidade de correlacionar este dado com o processo de cicatrização.

Guselso *et al.* (1994) 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.

Goodman *et al.* (1986) e Cridland *et al.* (1996) encontraram aumento na proliferação de fibroblastos cultivados em meio de cultura quando foram expostos a campos eletromagnéticos. Nursal *et al.* (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.

O presente estudo e os estudos de Dindar *et al.* (1993), Mentis *et al.* (1996), Nayci *et al.* (2001), Nayci *et al.* (2003), Ahmandians *et al.* (2006) utilizaram campos eletromagnéticos externos gerados por bobinas onde os animais ficavam no seu interior, campos dinâmicos gerados a partir do movimento dos elétrons da corrente elétrica. Apesar das variações na intensidade, frequência, número de horas de exposição e o período da análise (terceiro ou sétimo dia de pós-operatório), em todos os estudos, incluindo o presente, os autores encontraram efeitos positivos do eletromagnetismo sobre a cicatrização, verificados por meio de parâmetros físicos, bioquímicos e histológicos.

# CONCLUSÃO

Por meio do presente estudo conclui-se que:

- O campo eletromagnético atuou como adjuvante na cicatrização de anastomoses de cólon em ratos, quando aplicado nas primeiras 72 horas de pós-operatório, considerando parâmetros físicos e histológicos. Sua aplicação no pré-operatório não provocou efeitos na cicatrização, segundo os mesmos parâmetros de avaliação.



# **PERSPECTIVAS FUTURAS**

- O tema abordado no estudo faz parte de uma nova linha de pesquisa e traz uma série de perspectivas para novos estudos.
- Ainda devem ser esclarecidas as alterações celulares nos fibroblastos expostos ao campo magnético para saber o seu real mecanismo de atuação sobre a cicatrização.
- Estudar os efeitos adversos do eletromagnetismo ao organismo.
- Definir a intensidade, a frequência e o número de horas de exposição onde seria máxima a atuação do campo eletromagnético sobre a cicatrização.
- Estudar os efeitos da exposição ao campo eletromagnético nas diferentes fases da cicatrização.

## **REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

Para normatização do presente trabalho seguiu-se as normas revistas NBR 6034 (julho de 2004), NBR 14724 (dezembro de 2005) e NBR 6029( março de 2006), da Associação Brasileira de Normas Técnicas – ABNT.

AARON, R.K.; COMBOR, D.M. Therapeutic effects of eletromagnetic fields in the stimulation of connective tissue repair. *J Cell Biochem*; v. 52, p. 42-46. 1993.

ARAÚJO, I.D.; BARBUTO, R.C. Bases e distúrbios da cicatrização. In: RODRIGUES, M.A.G.; CORREIA, M.I.T.D.; SAVASSI-ROCHA, P.R. Fundamentos em Clínica Cirúrgica. Belo Horizonte: Coopmed, 2005, p. 93-103.

AHMADIAN, S.; ZARCHI, S.R.; BOLOURI, B. Effects of extremely-low-frequency pulsed electromagnetic fields on collagen synthesis in rat skin. *Biotechnol Appl Biochem*; v. 43, n. 2, p. 71-75. 2006.

BALLANTYNE, G. The experimental basis of intestinal suturing. *Dis. Colon Rectum*, Boston, v. 27, p. 61-71, 1984.

BASSET, A.L.; VALDEST, M.G.; HERNANDES, E. Modification of fracture repair with selected pulsing eletromagnetic fields. *J Bone Joint Surg*, v. 64, p. 888-894. 1982.

BIONDO-SIMÕES, M.L.P.; GRECA, F.C.; BRYK, J.R.A; *et al.* Influência da peritonite sobre a síntese de colágeno em anastomoses de cólon distal. Estudo experimental em ratos. *Acta Cir Bras*, São Paulo, v. 15, s.3, p. 69-75. 2000(a).

BIONDO-SIMÕES, MLP. *et al.* Influência do tempo transcorrido entre a lesão do colon e a síntese, no processo de cicatrização. *Acta Cir Bras*, São Paulo, v. 15, s.3, p. 24-29. 2000(b)

BLANK, M. Eletricidade and magnetism in biologic and medicine. San Francisco Press, 1993 *apud* MENTES, B.B.; TASCLAR, O.; TATLOGLU, E. Influence of pulsed eletromagnetic fields on healing of experimental colonic anastomosis. *Dis Colon Rectum*, v. 39, p. 1031-1038. 1996.

CALCADA, C.S. Física Clássica – Eletricidade. Atual. 2007,

CAVALCANTI, A.R.S.M.; *et al.* Análise tensional e morfológica da anastomose colônica na colite induzida por ácido acético a 10%, em ratos Wistar, tratados com extrato aquoso de aroeira-do-sertão a 10% (*Myracrodruon urundeuva fr. all.*). *Acta Cir. Bras.*, São Paulo, v. 20, n. 2, março/abril. 2005.

CRIDLAND, N.A.; *et al.* Effects of 50 Hz magnetic field exposure on the rate of DNA synthesis by normal human fibroblasts. *Int J Radiat Biol*, v. 69, p. 503-511. 1996.

DINDAR H, RENDA N, BARLAS M, AKINAY A, YAZEGAN E, TINCER T, CAKMAK M, KONKAN R, GOKCORA IH, YUCESANS. The effects of electromagnetic Field stimulation on corticosteroids inhibited intestinal wound healing. *Tokay J Exp Clin Med*. 1993.

FERREIRA, M. Radioterapia pré e pós-operatória na cicatrização de anastomoses colônicas em ratos avaliada mediante estudo tensiométrico, histológico e da morfometria do colágeno. Dissertação - Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2004.

GOODMAN, R.; HENDERSON, A.S. Some biological effects of electromagnetic fields. *Bioelectrochem Bioenergetics*, v. 15, p. 39-55. 1986.

GRECA F.H; *et al.* Cicatrização de anastomoses do cólon esquerdo com doença inflamatória. Estudo experimental em ratos. *Acta Cir Bras*, São Paulo, v 15, s. 3, p. 41-46. 2000(a).

GRECA, F.H.; *et al.* Correlação entre o fluxo sanguíneo intestinal e a cicatrização de anastomoses colônicas: estudo experimental em cães. *Acta Cir Bras*, São Paulo, v 15, s. 3, p. 88-94. 2000(b).

GUSELSU, N.; *et al.* Effect of eletromagnetic stimulation with different waveforms on cultured chick tendon fibroblasts. *Bioeletromagnetics*, v. 15, p. 115-131. 1994.

HEIBEL, M.; *et al.* Influência do Alprostadil na cicatrização da anastomose de esôfago cervical – estudo em cães. *Arq. Bras. Cir. Dig.*, São Paulo, v.19, n. 4, p.123-132. 2006.

HENDRIKS, T.; MASTBOOM, W.J. Healing of experimental intestinal anastomosis: parameters for repair. *Dis Colon Rectum*, v. 30, p. 891-901. 1990.

ISHIMURA, K.; *et al.* Wound healing of intestinal anastomosis after digestive under septic conditions: participation of local interleukin 6 expression. *World J Surg.*, v. 22, p. 1069-1075. 1998.

ITO, H.; BASSET, A.L. Effect of weak, pulsing eletromagnetic fields on neural regeneration in the rat. *Clin Orthop*, v. 181, p. 283-289. 1983

JONSSON, K.; JIBORN, H.; ZEDERFELDT, B. Breaking strength of small intestine anastomoses. *Am J Surg*, New York, v. 145, p. 800-803. 1983.

JONSSON, K.; JIBORN, H.; ZEDERFELDT, B. Mechanical and biochemical alterations in the intestinal wall adjacent to na anastomosis. *Am J Surg*, v. 151, p. 387-390. 1986.

JUNQUEIRA, L.C.U.; COSSERWELL, W.; BRENTANI, R.R. Differential staing of collagen type I, II and III by sirius red and polarization microscopy. *Arch Histol Jpn*, v. 41, p.267-274. 1978.

KANELLOS, I.; *et al.* Sutureless colonic anastomosis in the rat: a randomized controlled study. *Tech. Coloproctol.* v.6, p.146-146. 2002.

KANTO, R; FAGUNDES, D.J. Estudo Morfológico Comparativo de Anastomoses Colônicas por Invaginação Versus em Plano Único Extra-Mucoso, cães. *Rev. Bras. Coloproct.*, v. 25, n.1, p.51-59. 2005.

KORUDA, M.J.; ROLANDELLI, R. Current research review: experimental studies on the rearing of colonic anastomosis. *J Surg Res*, v. 48, p. 504-515. 1990.

MARINO, A.A. Modern bioelectricity. New York: Marcel Dekker, 1998. *Apud* MENTES, B.B.; TASCLAR, O.; TATLOGLU, E. Influence of pulsed eletromagnetic fields on healing of experimental colonic anastomosis. *Dis Colon Rectum*, v. 39, p. 1031-1038. 1996.

MENTES, B.B.; TASCLAR, O.; TATLOGLU, E. Influence of pulsed eletromagnetic fields on healing of experimental colonic anastomosis. *Dis Colon Rectum*, v. 39, p. 1031-1038. 1996.

MURRAY, J.C.; FARNDALE, R.W. Modulation of collagen production in cultured fibroblasts by a low frequency pulsed magnetic field. *Biochem Biophys Acta.*, v. 838, p. 98-105. 1985.

NAYCI, A.L.; *et al.* Comparison of electromagnetic field stimulation on the healing of small and large intestinal anastomosis. *Dis Colon Rectum*, v. 44, p. 1181-1188. 2001.

NAYCI, A.L.; *et al.* Effect of electromagnetic fields and early postoperatives 5 – fluorouracil on the healing of colonic anastomosis. *Int J Colorectal Dis*, v. 18, n. 2, p. 136-141, Mar. 2003.

NURSAL, T.Z.; *et al.* Effects of a static magnetic field on wound healing: results in experimental rat colonic anastomosis. *Am J Surg*, v. 192, n. 1, p. 76-81, Jul. 2006.

OTTANI, V.; MONTI, M.G.; MAROCUTTI, M. Influence of pulsed eletromagnetic fields on regenerating rat liver after partial hepatectomy. *J Anat*, n. 139, p. 253-263. 1984.

REZENDE NETO, J.B. Avaliação da resistência de suturas duodenais com ou sem omentoplastia pediculada. Estudo experimental em ratos. Dissertação - Faculdade de Medicina, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 1998.

SOARES JÚNIOR, C. Uso do 2-octil cianoacrilato como fator adjuvante de anastomoses intestinais. Dissertação - Faculdade de Medicina, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2008.

SOUZA, C. Uso de adesivos biológicos em anastomoses intestinais – Estudo experimental em coelhos. Tese - Faculdade de Medicina, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 1993.

TEPPER, O.M.; *et al.* Electromagnetic fields increase in vitro and in vivo angiogenesis through endothelial release of PGF-2. *FASEB J.*, v. 18, n. 11, p. 1231-1233. 2004

THOMAS, D.W.; *et al.* Cutaneous wound healing: a current perspective. *J Oral Maxillofac Surg*, n. 53, p. 442-447. 1995.

THORNTON, F.J.; BARBUL, A. Healing in the gastrointestinal tract. *Surg Clin North Am*, n. 77, p. 549-573. 1997.

TRUBIAN, P.S. Influência do octreotide na cicatrização de sutura gástrica em ratos: estudo tensiométrico e da morfologia do colágeno. Dissertação (Mestrado em Clínica Cirúrgica) – Setor de Ciências da Saúde, Universidade Federal do Paraná. Curitiba, 2004

YAMAMOTO, K.; SHIGEKIYO, C.T.; FUKU, L.F. Os Alicerces da Física 3 – Eletricidade. Saraiva. 2006.



# APÊNDICES

**APÊNDICE 1:**  
**CARACTERÍSTICAS DO CAMPO ELETROMAGNÉTICO**

**Condutor :** Cobre , com diâmetro de 0,57 mm

**Solenóide:** Diâmetro de 15,5 cm

Comprimento de 39,5 cm

4140 espiras distribuídas em 6 camadas com 690 cada

**Frequência:** 60 Hz (Hertz)

**Tensão:** 128 Volts

**Resistência:** 165  $\Omega$  (Ohms)

**Potência:** 100 W (Watts)

**Intensidade:** 10,04 mT (mili Tesla)

$$V = R \cdot I$$

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

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

N: número de espiras

I: corrente (Amperes)

L: comprimento

## APÊNDICE 2: ESTUDO ESTATÍSTICO

### Análise de Variância para pressão

H0: Não há diferença entre as médias de pressão para os 3 grupos.

A tabela abaixo mostra que o p-valor é muito pequeno (0,000, ou seja, menor do que 0,001). Isso indica que pelo menos um dos grupos tem média diferente.

#### ANOVA

PRESSÃO					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	4369.867	2	2184.933	29.321	.000
Within Groups	2012.000	27	74.519		
Total	6381.867	29			

### Post Hoc Tests

Para saber qual (ou quais) grupo apresenta média diferente, fizemos o teste Post Hoc de Tukey (tabela abaixo). Os resultados mostram que a média do campo pós operatório foi significativamente maior do que as médias dos outros dois grupos e que entre o controle e o pré-operatório não houve diferença significativa.

#### Multiple Comparisons

Dependent Variable: PRESSÃO

Tukey HSD

(I) Grupo	(J) Grupo	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
Controle	Campo Pós-operatório	-25.80*	3.861	.000	-35.37	-16.2
	Campo Pré-operatório	-.40	3.861	.994	-9.97	9.1
Campo Pós-operatório	Controle	25.80*	3.861	.000	16.23	35.3
	Campo Pré-operatório	25.40*	3.861	.000	15.83	34.9
Campo Pré-operatório	Controle	.40	3.861	.994	-9.17	9.9
	Campo Pós-operatório	-25.40*	3.861	.000	-34.97	-15.8

\*. The mean difference is significant at the .05 level.

## ANOVA para IMAC

Os resultados para IMAC são semelhantes aos observados para a pressão. O valor médio do grupo submetido ao campo magnético pós-operatório apresentou média superior aos outros dois.

**ANOVA**

IMAC

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	.280	2	.140	25.153	.000
Within Groups	.150	27	5.569E-03		
Total	.431	29			

## Post Hoc Tests

### Multiple Comparisons

Dependent Variable: IMAC

Tukey HSD

(I) Grupo	(J) Grupo	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
Controle	Campo Pós-operatório	-.2050*	.033	.000	-.2877	-.122
	Campo Pré-operatório	.0000	.033	1.000	-8.2749E-02	8.275E-0
Campo Pós-operatório	Controle	.2050*	.033	.000	.1223	.287
	Campo Pré-operatório	.2050*	.033	.000	.1223	.287
Campo Pré-operatório	Controle	.0000	.033	1.000	-8.2749E-02	8.275E-0
	Campo Pós-operatório	-.2050*	.033	.000	-.2877	-.122

\*. The mean difference is significant at the .05 level.

## Teste de Kruskal-Wallis para ESCORE (VARIÁVEL ORDINAL)

Para a variável Escore, como ela é ordinal, aplicou-se a análise de variância não paramétrica de Kruskal-Wallis. O resultado indica que pelo menos um grupo foi diferente dos demais.

Para saber qual grupo diferiu dos outros, aplicamos o teste de Mann-Whitney para cada par de grupos, separadamente.

**Ranks**

	Grupo	N	Mean Rank
ESCORE	Controle	10	9.10
	Campo Pós-operatório	10	25.35
	Campo Pré-operatório	10	12.05
	Total	30	

**Test Statistics<sup>a,b</sup>**

ESCORE	
Chi-Square	19.839
df	2
Asymp. Sig.	.000

a. Kruskal Wallis Test

b. Grouping Variable: Grupo

**Teste de Mann-Whitney - para ver qual grupo é diferente de qual**

As tabelas abaixo indicam que o grupo pós-operatório apresentou escore médio superior ao do controle.

**Ranks**

	Grupo	N	Mean Rank	Sum of Ranks
ESCORE	Controle	10	5.50	55.00
	Campo Pós-operatório	10	15.50	155.00
	Total	20		

**Test Statistics<sup>b</sup>**

ESCORE	
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	55.000
Z	-3.816
Asymp. Sig. (2-tailed)	.000
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.000 <sup>a</sup>

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Grupo

Abaixo observa-se que não há diferença significativa entre o grupo controle e o pré-operatório (p-valor = 0,271).

**Ranks**

	Grupo	N	Mean Rank	Sum of Ranks
ESCORE	Controle	10	9.10	91.00
	Campo Pré-operatório	10	11.90	119.00
	Total	20		

O escore médio do pós-operatório foi superior ao do pré (p-valor = 0,000).

**Ranks**

	Grupo	N	Mean Rank	Sum of Ranks
ESCORE	Campo Pós-operatório	10	15.35	153.50
	Campo Pré-operatório	10	5.65	56.50
	Total	20		

**Test Statistics<sup>b</sup>**

	ESCORE
Mann-Whitney U	1.500
Wilcoxon W	56.500
Z	-3.698
Asymp. Sig. (2-tailed)	.000
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.000 <sup>a</sup>

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Grupo

# ANEXO



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS  
COMITÉ DE ÉTICA EM EXPERIMENTAÇÃO ANIMAL  
- CETEA -**

**CERTIFICADO**

Certificamos que o **Protocolo nº 30/2006**, relativo ao projeto intitulado "**Uso de campo eletromagnético como fator adjuvante na cicatrização de anastomoses intestinais. Modelo experimental em ratos**", que tem como responsável **Cláudio de Souza**, está de acordo com os Princípios Éticos da Experimentação Animal, adotados pelo **Comité de Ética em Experimentação Animal (CETEA/UFMG)**, tendo sido aprovado na reunião de **17/05/2006**.

Este certificado expira-se em **17/05/2011**.

**CERTIFICATE**

We hereby certify that the **Protocol nº 30/2006**, related to the project entitled "**Electromagnetic field as a healing adjunct of intestinal anastomosis. Experimental model in rats**", under the supervision of **Cláudio de Souza**, is in agreement with the Ethical Principles in Animal Experimentation, adopted by the **Ethics Committee in Animal Experimentation (CETEA/UFMG)**, and was approved in **May 17, 2006**.

This certificate expires in **May 17, 2011**.

. Belo Horizonte, 17 de Maio de 2006.

**Humberto P. Oliveira**

**Prof. Humberto P. Oliveira  
Presidente do CETEA/UFMG**



