

**UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA**  
**FACULDADE DE MEDICINA**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS MÉDICAS**

**AVALIAÇÃO HISTOPATOLÓGICA DO PERITÔNIO EXPOSTO A  
CHOQUE TÉRMICO. ESTUDO EXPERIMENTAL EM RATOS.**

**DISSERTAÇÃO DE MESTRADO**

**JOÃO VIEIRA LOPES**

Brasília, 2006.

**JOÃO VIEIRA LOPES**

**AVALIAÇÃO HISTOPATOLÓGICA DO PERITÔNIO EXPOSTO A  
CHOQUE TÉRMICO. ESTUDO EXPERIMENTAL EM RATOS.**

**Dissertação submetida ao Programa de  
Pós-graduação em Ciências Médicas da  
Faculdade de Medicina da Universidade  
de Brasília como requisito parcial para  
obtenção do grau de Mestre.**


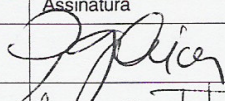
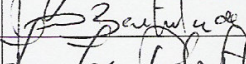
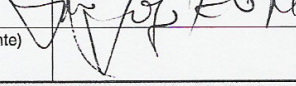
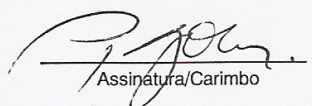
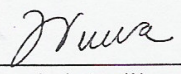
**Área de concentração: Medicina**

**Orientador:**

**Prof. Dr. Paulo Gonçalves de Oliveira**

**BRASÍLIA  
2006**

# RELATÓRIO DE DEFESA DE DISSERTAÇÃO

<b>RELATÓRIO DE DEFESA DE DISSERTAÇÃO</b>		 <b>Universidade de Brasília - UnB</b> <b>Decanato de Pesquisa e Pós-Graduação - DPP</b> <b>Diretoria de Administração Acadêmica - DAA</b>
<b>M E S T R A D O</b>		
<b>1 - Identificação do Aluno</b>		
Nome João Vieira Lopes		Matrícula 05/52551
Curso Ciências Médicas		
Área de Concentração Mestrado em Ciências Médicas - Medicina	Código 7927	Departamento FMD
<b>2 - Sessão de Defesa de Dissertação</b>		
Título Avaliação Histopatológica do Peritônio exposto a choque térmico, estudo experimental em ratos.		
<b>3 - Comissão Examinadora</b>		
Nome	Função	Assinatura
PAULO GONCALVES DE OLIVEIRA (Doutor)	Membro Interno vinculado ao programa (Presidente) Faculdade de Medicina	
JOAO BATISTA DE SOUSA (Doutor)	Membro Interno vinculado ao programa Faculdade de Medicina	
José Joaquim Ribeiro da Rocha (Doutor)	Membro Externo não vinculado ao programa Universidade de São Paulo	
PAULO MENDELSSONH FERREIRA OTERO (Doutor)	Membro Interno não vinculado ao programa (Suplente) Faculdade de Medicina	
<b>4 - Resultado</b>		
A Comissão Examinadora, em 23/10/2006 após exame da Defesa de Dissertação e arguição do candidato, decidiu:		
<input checked="" type="checkbox"/> Pela aprovação da Dissertação <input type="checkbox"/> Pela revisão de forma, indicando o prazo de 30 dias para apresentação definitiva. <input type="checkbox"/> Pela reprovação da Dissertação <input type="checkbox"/> Pela reformulação da Dissertação, indicando o prazo de _____ para nova versão.		
<b>Preencher somente em caso de revisão de forma:</b>		
<input type="checkbox"/> O aluno apresentou a revisão de forma e a Dissertação foi aprovada. <input type="checkbox"/> O aluno apresentou a revisão de forma e a Dissertação foi reprovada. <input type="checkbox"/> O aluno não apresentou a revisão de forma.		Autenticação Presidente da Comissão Examinadora  23/10/06  Data      Assinatura/Carimbo
Autenticação Coordenador do Curso  ____/____/____      _____ Data      Assinatura/Carimbo		Ciente Aluno  23,10,06  Data      Assinatura/Aluno
<b>Aprovação do Decanato de Pesquisa e Pós-Graduação</b>		
Decisão: <input type="checkbox"/> Homologar		
____/____/____      _____ Data      Assinatura do Decano		

## DEDICATÓRIA.

Dedico este trabalho a minha esposa Helen  
e a meus filhos: Alan e André.

## **AGRADECIMENTOS**

Participar com aproveitamento do curso de Pós-Graduação em Ciências Médicas da Faculdade de Medicina da Universidade de Brasília foi um desafio que enfrentamos graças aos ensinamentos, incentivo, colaboração e cooperação de professores, familiares, esposa, filhos, colegas, alunos e funcionários.

Agradecemos a todos que contribuíram direta ou indiretamente para a realização deste estudo e especialmente as seguintes pessoas e instituições a que pertencem.

Prof. Dr. Paulo Gonçalves de Oliveira, meu professor, orientador e orientador desta dissertação. Sempre presente e disposto a solver dúvidas com habilidade de sábio.

Prof. Dr. João Batista de Sousa, professor do Curso de Pós-Graduação em Ciências Médicas, da Faculdade de Medicina da Universidade de Brasília, ex-colega de trabalho que me incentivou para realização do curso.

Professores do Programa de Pós-graduação da Faculdade de Medicina da Universidade de Brasília, em especial ao coordenador Prof. Dr. Leopoldo Luiz dos Santos Neto e ao ex-coordenador Prof. Dr. Paulo Gonçalves de Oliveira.

Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Sônia Nair Bão, Diretora do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade de Brasília.

Izabel Irene Rama Leal, médica patologista, assistente do Centro de Anatomia Patológica do Hospital Universitário de Brasília e da Unidade de Anatomia Patológica do Hospital Regional da Asa Norte.

Gustavo Henrique Soares Takano, médico patologista, assistente do Centro de Anatomia Patológica do Hospital Universitário de Brasília.

Luiz Alberto Mendonça de Freitas, médico, amigo e colega do Programa de Pós-graduação em Ciências Médicas da Faculdade de Medicina da Universidade de Brasília.

Sandoval Felicíssimo Diniz, médico, amigo e colega do Programa de Pós-graduação em Ciências Médicas da Faculdade de Medicina da Universidade de Brasília.

Sr.<sup>as</sup> Shélida Vasconcelos Braz aluna de mestrado do Programa de Patologia Molecular da Universidade de Brasília e Elaine Paulucio Porfírio aluna de graduação em Biologia estagiária do laboratório de microscopia eletrônica.

Srs. Gledson Alessandro Ribeiro da Silva, Carolina Kozue Okawachi, Hérika Menezes, Daniele Gomes de Miranda funcionários da Secretaria do Programa de Pós-graduação da Faculdade de Medicina da Universidade de Brasília.

Sr.<sup>a</sup> Gabriela Mariângela Farias de Oliveira, médica veterinária, funcionária do Laboratório de Cirurgia Experimental da Faculdade de Medicina da Universidade de Brasília.

Srs. Olean do Nascimento Oliveira, José Tavares dos Santos e Sr.<sup>as</sup> Renata Ribeiro de Sousa, Elisabete Joaquim dos Santos Silvestre e Maria da Conceição Fernandes funcionários do Laboratório de Cirurgia Experimental da Faculdade de Medicina da Universidade de Brasília.

## SUMÁRIO

Relatório de defesa de dissertação .....	iii
Dedicatória.....	iv
Agradecimentos .....	v
Sumário.....	vii
Lista de abreviaturas, siglas e símbolos.....	viii
Lista de figuras .....	ix
Lista de gráficos.....	xi
Lista de tabelas .....	xii
Resumo .....	xiii
Abstract.....	xiv
1 – Introdução.....	1
2 – Objetivo .....	10
3 – Materiais e métodos.....	12
3.1 – Animal de experimentação.....	13
3.1.1 – Procedência .....	14
3.1.2 – Distribuição dos animais em grupos.....	15
3.2 - Ordenação das etapas experimentais.....	15
3.2.1 – Pré-operatório.....	15
3.2.2 – Anestesia .....	15
3.2.3 – Técnica operatória .....	16
3.2.4 – Procedimentos operatórios por grupo de animais.....	18
3.2.5 – Evolução pós-operatória.....	19
3.2.6 – Reoperação e eutanásia .....	20
3.2.7 – Exame histopatológico em microscopia de luz. ....	20
3.2.8 – Análise em microscopia eletrônica de transmissão .....	23
3.3 – Execução .....	25
3.4 – Estatística .....	26
4 – Resultados.....	27
4.1 – Modelo experimental .....	28
4.2 – Avaliação ponderal.....	28
4.3 – Evolução clínica .....	29
4.4 – Análise operatória .....	30
4.5 – Temperatura ambiente.....	31
4.6 – Microscopia de luz. ....	31
4.6.1 – Edema.....	33
4.6.2 – Congestão vascular.....	34
4.6.3 – Extravasamento de hemácias.....	35
4.6.4 – Destruição do mesotélio. ....	36
4.6.5 – Necrose focal.....	37
4.6.6 – Espessura do peritônio.....	38
4.6 – Microscopia eletrônica.....	40
4-7 – Análise estatística .....	43
5 – Discussão .....	45
6 – Conclusão .....	54
Referências bibliográficas.....	56
Apêndices .....	62
Apêndice 1 – Pesos dos animais .....	63
Apêndice 2 – Edema, congestão vascular, extravasamento de hemácias, destruição de mesotélio e necrose. ....	65
Apêndice 3 – Espessura do peritônio .....	68
Apêndice 4 – Esquemas gráficos dos eventos operatórios .....	71
Anexos.....	75
Anexo 1 – Parecer do Comitê de Ética de Uso Animal .....	76
Anexo 2 – Declaração do Prof. Dr. Alcino Lázaro da Silva .....	77

## LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS.

ABNT	- Associação Brasileira de Normas Técnicas
ANOVA	- <i>Analysis of Variance</i>
CEUA	- Comitê de Ética de Uso Animal
Et al	- e outros
FM	- Faculdade de Medicina
HE	- Hematoxilina e Eosina
HRAN	- Hospital Regional da Asa Norte
HUB	- Hospital Universitário de Brasília
IPARDES	- Instituto Paranaense de Desenvolvimento Econômico e Social
MET	- Microscopia Eletrônica de Transmissão
ML	- Microscopia de Luz ou ótica
NaCl	- Cloreto de Sódio
UFPR	- Universidade Federal do Paraná
UnB	- Universidade de Brasília
TM	- Tricrômico de Masson
cm	- Centímetro
F	- Fisher
g	- Grama
gl	- Grau de liberdade
h	- Hora
kg	- Quilograma
M	- Molar
mg	- Miligrama
min	- Minuto
mm	- Milímetro
mm <sup>3</sup>	- Milímetro cúbico
N	- Número total de indivíduos
n	- Número de indivíduos de cada grupo
nm	- Nanômetro, um milionésimo do milímetro.
P	- Valor P, significância estatística de um teste.
SPSS	- <i>Statistical Package Social for Sciencs</i>
Sig.	- Significância
@	- Arroba
°C	- Grau Celsius
®	- Marca registrada
x	- Média aritmética
µm	- Micrometro
™	- Trade Mark
%	- Por cento



## LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1 – ALOJAMENTO DOS ANIMAIS DO LABORATÓRIO DE CIRURGIA EXPERIMENTAL DA FM DA UnB.....	14
FIGURA 2 – ANIMAL ANESTESIADO, IMOBILIZADO SOBRE PLACA DE MADEIRA COM AS PATAS PRESAS COM TIRAS DE ESPARADRAPO E COM TRICOTOMIA DA FACE VENTRAL DO ABDOME.....	16
FIGURA 3 – ARMAÇÃO EM ALUMÍNIO CONSTRUÍDA PARA EXPOSIÇÃO DA CAVIDADE PERITONEAL DE PEQUENOS ANIMAIS SUBMETIDOS A EXPERIMENTOS CIENTÍFICOS E BOLAS DE CHUMBO PRESAS COM FIOS DE NÁILON A GANCHOS (A) APLICADOS NAS BORDAS DA FERIDA OPERATÓRIA QUE APOIADOS NA ARMAÇÃO DE ALUMÍNIO TRACIONAM E EXPÕE A CAVIDADE PERITONEAL (B) .....	17
FIGURA 4 – DESENHO ESQUEMÁTICO: CÂMARA DE NEUBAEUR (A), RETÍCULO COM 9 QUADRADOS COM 1 mm <sup>2</sup> DE ÁREA (B) E DISTÂNCIA (SETA) CORRESPONDENTE A 1 mm USADA PARA CALIBRAÇÃO DO SOFTWARE ZEISS AXIO VISION™ .....	21
FIGURA 5 – CORTE HISTOLÓGICO DE AMOSTRA RETIRADA DA PAREDE ANTEROLATERAL DA CAVIDADE PERITONEAL DE RATO EXIBINDO EM MENOR AUMENTO (ML 2,5X) O PERITÔNIO E A CAMADA MUSCULAR. NO DETALHE EM MAIOR AUMENTO (ML.40X) OBSERVA-SE O MESOTÉLIO E ZONA SUBMESOTELIAL. OS PONTOS A E B INDICAM ESQUEMATICAMENTE A ESPESSURA D DO PERITÔNIO. (COLORAÇÃO HE) .....	22
FIGURA 6 – DUAS MEDIDAS EM µm DA ESPESSURA DO PERITÔNIO REALIZADAS COM SOFTWARE ZEISS AXIO VISION™ 3.0 EM IMAGEM DIGITALIZADA DOS CINCO CAMPOS FOTOGRAFADOS DE CADA LÂMINA. COLORAÇÃO HE (ML. 20X).....	23
FIGURA 7 – MATERIAIS UTILIZADOS NA COLETA E PREPARO DAS AMOSTRAS PARA MICROSCOPIA ELETRÔNICA: EXTRATOR DE BIOPSIAS (A), EPPENNDORF (B). BLOCO EM RESINA (C) COM MATERIAL JÁ INCLUIDO E TELA DE COBRE (D) .....	24
FIGURA 8 – CAMADA DE CÉLULAS MESOTELIAIS PLANAS (SETA) NA SUPERFICIE DO TECIDO CONJUNTIVO, MET 8.000X (A) E UMA CÉLULA MESOTELIAL DESCOLADA, MET 15.000X (B). Mn: MEMBRANA NUCLEAR; Nu: NÚCLEO Ci: CITOPLASMA; Re: RETÍCULO ENDOPLASMÁTICO .....	25
FIGURA 9 – VASOS SUBSEROSOS DE ALÇAS INTESTINAIS DE RATOS ANTES DA IRRIGAÇÃO DA CAVIDADE PERITONEAL (A), APÓS IRRIGAÇÃO COM SOLUÇÃO DE NACL A 0,9% NA TEMPERATURA 50°C (B), APÓS IRRIGAÇÃO COM A SOLUÇÃO NA TEMPERATURA ENTRE 0°C E 2°C (C) E APÓS IRRIGAÇÃO COM A SOLUÇÃO A 50°C SEGUIDA IMEDIATAMENTE DE OUTRA IRRIGAÇÃO COM A SOLUÇÃO NA TEMPERATURA ENTRE 0°C E 2°C (D).....	30
FIGURA 10 – ADERÊNCIAS PERITONEAIS (SETA) ENCONTRADAS DURANTE A REOPERAÇÃO DE UM ANIMAL DO GRUPO TZ.....	31
FIGURA 11 – MESOTÉLIO PRESERVADO, ML 100X (A), EDEMA, ML 40X (B), AUSÊNCIA DO MESOTÉLIO, ML 100X (C), EXTRAVASAMENTO DE HEMÁCIAS, ML 20X (D), NECROSE, ML 40X (E), E AUMENTO DA ESPESSURA DO PERITÔNIO, ML 20X (F). (COLORAÇÃO HE). Cm: CELULA MESOTELIAL, Nu: NÚCLEO, Ed: EDEMA, Po: POLIMORFONUCLEARES, He: HEMÁCIAS, MI: MIÓCITOS, Mc: MACROFÁGOS; Me: MÚSCULO ESQUELÉTICO .....	32
FIGURA 12 – CÉLULA MESOTELIAL PRÓXIMA AO TECIDO CONJUNTIVO, MET 15.000X (A), TECIDO MUSCULAR, MET 20.000K (B), COLÁGENO, MET 15.000X (C), CAPILAR, ENDOTÉLIO, HEMÁCIAS E	

	POLIMORFONUCLEARES MET 10.000X (D), CÉLULA MESOTELIAL ADERIDA AO TECIDO CONJUNTIVO, MET 15.000X (E) E CÉLULA MESOTELIAL PARCIALMENTE SOLTA DO TECIDO CONJUNTIVO, MET 6.000X (F). Sa: SUBSTÂNCIA AMORFA; Z: BANDA Z; S: SARCOMERO; Mt: MITOCÔNDRIA; He: HEMÁCIAS, Po: LEUCÓCITOS; Ce: CÉLULA ENDOTÉLIAL; Nu: NÚCLEO, Cm: CÉLULA MESOTELIAL; Mb: MEMBRANA BASAL; Jc: JUNÇÃO CELULAR .....	41
FIGURA 13 –	CÉLULA MESOTELIAL COM RUPTURA DA MEMBRANA CELULAR E VAZAMENTO DO CONTEÚDO CITOPLASMÁTICO, MET 25.000K (A), HEMÁCIAS DO LADO DE FORA DO CAPILAR, MET 10.000X (B), MACRÓFAGO FAGOCITANDO UMA BACTÉRIA, MET 20.000K (C), CÉLULA MESOTELIAL COM FENDAS NA MEMBRANA NUCLEAR, MET 15.000X (D). Mc: MEMBRANA CELULAR; ASTERÍSCO: HEMÁCIAS; Co: COLÁGENO; Ba: BACTÉRIA; Ma: MACRÓFAGO; Nu: NÚCLEO; Mn: MEMBRANA NUCLEAR; In: INVAGINAÇÕES, FENDAS; Or: ORGANELAS .....	42
FIGURA 14 –	ALTERAÇÕES HISTOLÓGICAS SUGESTIVAS DE DEGENERAÇÃO E NECROSE ENCONTRADAS NO GRUPO CT (A), SEMELHANTES ÀS ENCONTRADAS POR SILVA, A., ET AL., 2001 (B) NÃO OBSERVADAS NO GRUPO GC (C).....	52

## LISTA DE GRÁFICOS

GRÁFICO 1 – PORCENTAGEM DE EDEMA NO GRAU AUSENTE, DISCRETO, MODERADO E INTENSO NAS AMOSTRAS DOS GRUPOS CHOQUE TÉRMICO (CT), TEMPERATURA ELEVADA (TE), TEMPERATURA CORPORAL (TC), TEMPERATURA 0° (TZ), SHAM (SH) E GRUPO CONTROLE (GC) .....	33
GRÁFICO 2 – PORCENTAGEM DE CONGESTÃO VASCULAR EM GRAU AUSENTE, DISCRETO, MODERADO E INTENSO NAS AMOSTRAS DOS GRUPOS CHOQUE TÉRMICO (CT), TEMPERATURA ELEVADA (TE), TEMPERATURA CORPORAL (TC), TEMPERATURA 0° (TZ), SHAM (SH) E GRUPO CONTROLE (GC).....	34
GRÁFICO 3 – PORCENTAGEM DE EXTRAVASAMENTO DE HEMÁCIAS EM GRAU AUSENTE, DISCRETO, MODERADO E INTENSO NAS AMOSTRAS DOS GRUPOS CHOQUE TÉRMICO (CT), TEMPERATURA ELEVADA (TE), TEMPERATURA CORPORAL (TC), TEMPERATURA 0° (TZ), SHAM (SH) E GRUPO CONTROLE (GC).....	35
GRÁFICO 4 – PORCENTAGEM DE DESTRUIÇÃO DO MESOTÉLIO NO GRAU AUSENTE, DISCRETO, MODERADO E INTENSO NAS AMOSTRAS DOS GRUPOS CHOQUE TÉRMICO (CT), TEMPERATURA ELEVADA (TE), TEMPERATURA CORPORAL (TC), TEMPERATURA 0° (TZ), SHAM (SH) E GRUPO CONTROLE (GC).....	36
GRÁFICO 5 – PORCENTAGEM DE NECROSE NO GRAU AUSENTE, DISCRETO, MODERADO E INTENSO NAS AMOSTRAS DOS GRUPOS CHOQUE TÉRMICO (CT), TEMPERATURA ELEVADA (TE), TEMPERATURA CORPORAL (TC), TEMPERATURA 0° (TZ), SHAM (SH) E GRUPO CONTROLE (GC) .....	37
GRÁFICO 6 – ESPESSURA DO PERITÔNIO DAS AMOSTRAS RETIRADAS DOS GRUPOS CHOQUE TÉRMICO (CT), TEMPERATURA ELEVADA (TE), TEMPERATURA CORPORAL (TC), TEMPERATURA 0°C (TZ,) SHAM (SH) E CONTROLE (GC) .....	40
GRÁFICO 7 – ESPESSURA MÉDIA EM $\mu\text{m}$ DO PERITÔNIO DAS AMOSTRAS RETIRADAS DOS ANIMAIS DOS GRUPOS CHOQUE TÉRMICO (CT), TEMPERATURA ELEVADA (TE), TEMPERATURA CORPORAL (TC), TEMPERATURA 0°C (TZ), SHAM (SH) E GRUPO CONTROLE (GC).....	44
GRÁFICO 8 – PERDA DE PESO, EM GRAMAS, DOS ANIMAIS DO DIA DA OPERAÇÃO ATÉ O DIA DA REOPERAÇÃO POR GRUPO; CHOQUE TÉRMICO (CT), TEMPERATURA ELEVADA (TE), TEMPERATURA CORPORAL (TC), TEMPERATURA 0° (TZ), SHAM (SH) E GRUPO CONTROLE (GC) .....	48
GRÁFICO 9 – COMPARAÇÃO DA OCORRÊNCIA DE EDEMA, CONGESTÃO VASCULAR, EXTRAVASAMENTO DE HEMÁCIAS, DESTRUIÇÃO DO MESOTÉLIO E NECROSE FOCAL DE CÉLULAS MUSCULARES ENTRE GRUPOS CHOQUE TÉRMICO (CT) E O GRUPO CONTROLE (GC) .....	50
GRÁFICO 10 – COMPARAÇÃO NA OCORRÊNCIA DE EDEMA, CONGESTÃO VASCULAR, EXTRAVASAMENTO DE HEMÁCIAS, DESTRUIÇÃO DO MESOTÉLIO E NECROSE ENTRE OS GRUPOS TEMPERATURA ELEVADA (TE) E GRUPO CONTROLE (GC) .....	51
GRÁFICO 11 – COMPARAÇÃO NA OCORRÊNCIA DE EDEMA, CONGESTÃO VASCULAR, EXTRAVASAMENTO DE HEMÁCIAS, DESTRUIÇÃO DO MESOTÉLIO E NECROSE ENTRE OS GRUPOS TEMPERATURA ELEVADA (TE) E CHOQUE TÉRMICO (CT) .....	51

## LISTA DE TABELAS

TABELA 1 - MÉDIA, DESVIO PADRÃO, ERRO PADRÃO DA MÉDIA, LIMITE INFERIOR E SUPERIOR DO INTERVALO DE CONFIANÇA DE 95%, VALOR MÁXIMO E MÍNIMO DO PESO EM GRAMAS DOS ANIMAIS DOS GRUPOS: CHOQUE TÉRMICO (CT), TEMPERATURA ELEVADA (TE), TEMPERATURA CORPORAL (TC), TEMPERATURA ENTRE 0°C E 2°C (TZ), SHAM (SH) E CONTROLE (GC) NAS DATAS DA OPERAÇÃO E DA REOPERAÇÃO.....	28
TABELA 2 – COMPARAÇÃO DAS VARIÂNCIAS DOS PESOS DOS ANIMAIS AFERIDOS NO DIA DA OPERAÇÃO E NO DIA DA REOPERAÇÃO .....	29
TABELA 3 - PROVA DE HOMOCEASTICIDADE DOS PESOS DOS ANIMAIS NO DIA DA OPERAÇÃO E NO DIA DA EUTANÁSIA .....	29
TABELA 4 - PORCENTAGEM, CONTAGEM DAS ALTERAÇÕES HISTOPATOLÓGICAS DISTRIBUIDAS POR GRUPO DE ANIMAIS E SIGNIFICÂNCIA ESTATÍSTICA DOS GRUPOS CHOQUE TÉRMICO (CT), TEMPERATURA ELEVADA (TE), TEMPERATURA CORPORAL (TC), TEMPERATURA 0°C (TZ) COMPARADOS COM OS GRUPOS SHAM (SH) E CONTROLE (GC) .....	38
TABELA 5 – MÉDIA, DESVIO PADRÃO, ERRO PADRÃO DA MÉDIA, LIMITE INFERIOR E SUPERIOR DO INTERVALO DE CONFIANÇA DE 95%, VALOR MÁXIMO E MÍNIMO DA ESPESSURA DO PERITÔNIO, EM $\mu\text{m}$ AFERIDA NAS IMAGENS DIGITALIZADAS DOS CORTES HISTOLÓGICOS .....	39
TABELA 6 – ESPESSURA DO PEIRTÔNIO, EM $\mu\text{m}$ AFERIDA NAS IMAGENS DIGITALIZADAS DOS CORTES HISTOLÓGICOS. ANOVA.....	39
TABELA 7 - ESPESSURA DO PERITÔNIO, EM $\mu\text{m}$ AFERIDA NAS IMAGENS DIGITALIZADAS DOS CORTES HISTOLÓGICOS. TESTE DE HOMOCEASTICIDADE .....	39
TABELA 8 – PERDA DE PESO E MÉDIAS, EM GRAMAS, DOS PESOS DOS ANIMAIS NO DIA DA OPERAÇÃO E NO DIA DA REOPERAÇÃO.....	43

## RESUMO

Este estudo foi realizado com o objetivo de avaliar possíveis alterações histopatológicas no peritônio parietal, mesotélio e zona submesotelial, de ratos expostos a choque térmico provocado por lavagem peritoneal com solução NaCl a 0,9% na temperatura 50°C durante 1 min seguida imediatamente de outra irrigação com a solução na temperatura entre 0°C e 2°C durante igual tempo. Sessenta ratos foram distribuídos por sorteio, sem reposição, em seis grupos com dez animais cada, a saber: Grupo do choque térmico (CT), grupo da temperatura elevada a 50°C (TE), grupo da temperatura corporal 37°C (TC) grupo da temperatura 0°C (TZ), grupo sham (SH) grupo controle (GC). Após laparotomia o grupo CT foi tratado com lavagem peritoneal durante 1 min com solução de NaCl 0,9% aquecida a 50°C seguida imediatamente de outra irrigação durante 1 min com a solução de NaCl a 0,9% resfriada entre 2°C e 0°C. Após laparotomia o grupo TE foi tratado com lavagem peritoneal durante 1 min com solução de NaCl a 0,9% aquecida a 50°C. Após laparotomia o grupo TC foi tratado com lavagem peritoneal durante 1 min com solução de NaCl a 0,9% na temperatura de 37°C. Após laparotomia o grupo TZ foi tratado com lavagem peritoneal durante 1 min com solução de NaCl a 0,9% resfriada entre 2° e 0°C. Após laparotomia foram simulados os eventos operatórios no grupo SH e no GC foi realizada apenas biópsia da parede anterolateral da cavidade peritoneal. Depois de 24 horas da primeira operação todos os animais, exceto aqueles do GC, foram reoperados e amostras do tecido da parede anterolateral da cavidade peritoneal foram retiradas para avaliar possíveis alterações histopatológicas como edema, congestão vascular, extravasamento de hemácias, destruição de mesotélio, necrose e aumento da espessura do peritônio. Nas amostras dos animais do grupo CT foi encontrado edema em 80%, congestão vascular 20%, destruição de mesotélio 100%, necrose (30%) e a espessura média do peritônio foi 29,26 µm. Nas amostras dos animais do grupo TE foram encontrados edema em 60%, congestão vascular 30%, extravasamento de hemácias 60%, destruição de mesotélio 100%, necrose 20% e a espessura média do peritônio, foi 37,60 µm. Nas amostras dos animais do grupo TC foram encontrados edema 30%, congestão vascular 10%, destruição de mesotélio 100%, necrose 10% e a espessura média do peritônio foi 31,17 µm. Nas amostras dos animais do grupo TZ foram encontrados edema 70%, congestão vascular 20%, destruição de mesotélio 100% e a espessura média do peritônio foi 42,26 µm. Nas amostras dos animais do grupo SH foram encontrados edema 40%, extravasamento de hemácias 10%, destruição do mesotélio 100% e a espessura média da do peritônio foi 26,42 µm. Nas amostras dos animais do GC foram encontrados edema em 30%, destruição de mesotélio 90% e a espessura média do peritônio foi 32,36 µm. O choque térmico provocado pela lavagem peritoneal nas condições estabelecidas nesta pesquisa não causou morte entre os animais, mas foram encontradas alterações histopatológicas como edema, congestão vascular, necrose focal de células musculares e aumento na espessura do peritônio nos espécimes dos tecidos examinados. Estas alterações foram discretas e na comparação com as ocorridas no GC houve diferença estatisticamente significativa na incidência de edema.

Palavras chave: Choque térmico, lavagem peritoneal, peritonite, cavidade abdominal.

## ABSTRACT

This research was designed to analyze histopathologic alterations of the parietal peritoneum, mesothelium and submesothelial zone, caused by heat shock provoked by peritoneal cavity lavage with 0.9% NaCl solution at 50°C for 1 min, right after followed by another irrigation with the solution at a temperature between 0°C and 2°C for the same amount of time. Sixty rats were randomly distributed, without repositioning, into 6 groups of 10 animals as follows: heat shock group (HS); 50°C high temperature group (HT); 37°C body temperature group (BT); 0°C temperature group (ZT); sham group (SH); and control group (CG). The HS group was treated with peritoneal lavage for 1 min with 0.9% NaCl solution heated up to 50°C, immediately followed by another round of irrigation of 0.9% NaCl solution cooled back to 0°C. the HT group was treated with peritoneal lavage for 1 min with 0.9% NaCl solution heated up to 37°C, immediately followed by another round of irrigation of 0.9% NaCl solution cooled back to 0°C. On the SH group a simulation of the surgery proceedings was made and on the CG group a biopsy was performed. Twenty four hours afterwards the animals underwent another surgery where tissue samples of the peritoneal wall were taken so as to evaluate the presence of histopathologic alterations like edema, blood vessel congestion, extravasation of erythrocytes, mesothelial destruction, necrosis and increase of peritoneal thickness. In the samples taken from animals of the HS group were found: edema (80%), blood vessel congestion (20%), mesothelial destruction (100%), necrosis (30%), and the peritoneal thickness was 29.26 µm. In the samples taken from animals of the HT group were found: edema (60%), blood vessel congestion (30%), extravasation of erythrocytes (60%), mesothelial destruction (100%), necrosis (20%), and the peritoneal thickness was 37.60 µm. In the samples taken from animals of the BT group were found: edema (30%), blood vessel congestion (10%), mesothelial destruction (100%), necrosis (10%), and the peritoneal thickness was 31.17 µm. In the samples taken from animals of the ZT group were found: edema (70%), blood vessel congestion (20%), mesothelial destruction (100%), and the peritoneal thickness was 42.26 µm. In the samples taken from animals of the SH group were found: edema (40%), extravasation of the erythrocytes (10%), mesothelial destruction (100%), and the peritoneal thickness was 26.42 µm. In the samples taken from the CG were found: edema (30%), mesothelial destruction (90%), and peritoneal thickness was 32.36 µm. The heat shock provoked by the peritoneal lavage under the conditions set for this research did not cause the death of the animals, but histopathologic alterations like edema, blood vessel congestion, focal muscle fiber necrosis and increase of the thickness of the peritoneum were found in the tissue samples taken. Such alterations were small and in the comparison between samples taken in the CG there was a statistically significant different in the occurrence of edema.

Key words: Heat shock, peritoneal lavage, septic peritonitis, abdominal cavity

## **1 – INTRODUÇÃO**

## 1 – INTRODUÇÃO

O choque térmico, fenômeno causado pela modificação brusca da temperatura, pode ser provocado na cavidade peritoneal por lavagens peritoneais com solução de NaCl a 0,9% em diferentes temperaturas.

A lavagem peritoneal é a introdução e remoção de líquidos na cavidade peritoneal com finalidade de pesquisa, diagnóstico ou tratamento. O líquido pode ser injetado através da parede abdominal e recolhido para exames, sem celiotomia, utilizando agulhas, seringas e cateteres (CONDON; MALANGONI, 1988; SRIUSSADAPOM et al., 2002; KLEIN et al., 2003).

A lavagem peritoneal intra-operatória é usada pelos cirurgiões abdominais no controle operatório da peritonite secundária desde 1905, quando Price defendeu seu uso para remover secreções purulentas da cavidade peritoneal (NOON et al., 1967; CONDON; MALANGONI, 1988; SILVA, D. et al., 1996; BRUNDELL et al., 2002; WHITESIDE, et al., 2005).

Com a finalidade de tratamento a cavidade peritoneal é irrigada através da incisão operatória com água estéril (PRICE, 1905), solução de Ringer, solução de NaCl a 0,9% adicionada à glicose a 5%, solução alcoólica ou solução de NaCl a 0,9% (SILVA, D. et al., 1996).

Torek, em 1906, publicou resultado de estudo clínico relatando a redução da taxa de mortalidade geral da peritonite de 40% para 14% adotando a técnica de lavagem peritoneal com grande volume de solução NaCl a 0,9% defendida por Price.

A peritonite resultante da contaminação e infecção da cavidade peritoneal continua sendo assunto atual e discutido apesar dos avanços na técnica cirúrgica e dos cuidados intensivos. Também existe crescente interesse na redução da taxa de mortalidade da peritonite secundária e terciária, que nos últimos 30 anos diminuiu apenas de 40% para 30% (HOLZHEIMER; DRALLE, 2001; VAILLANT; LOPEZ, 2001; MALAGONI, 2005; PLATELL, 2005).



Em 1987, a Surgical Infection Society propôs a classificação das peritonites em primárias, secundárias, terciárias e abscessos intraperitoneais associados à peritonite (WITTMANN, 1990).

Na forma localizada da peritonite secundária a taxa de mortalidade varia de 1% a 3% enquanto na difusa, supurativa e fecal com sepse sistêmica varia de 30% a 85% (MUNSOM, 1991; SILVA, D. et al., 1996; HUTCHINS et al.). Já as peritonites terciárias associadas à infecção por *Candida albican* podem apresentar taxa de mortalidade de até 75% (OLIVEIRA, 1995).

O tratamento operatório da peritonite secundária é fundamentado em três diretrizes (NATHENS; ROTSTEIN, 1994; HERNANDEZ; VALZ, 1995; MALANGONI, 2005; WHITESIDE et al., 2005):

- Eliminação da fonte de contaminação;
- Redução do grau de contaminação;
- Prevenção da infecção recorrente.

A eliminação da fonte contaminadora é obtida com inventário da cavidade peritoneal, identificação e remoção da víscera doente como o apêndice cecal roto na apendicite aguda ou o reparo de uma lesão como na úlcera perfurada. A operação é completada com debridamento dos tecidos desvitalizados, remoção de sangue, pus, restos alimentares, fezes e outras impurezas freqüentemente encontradas na cavidade peritoneal (MALANGONI, 2005).

A redução do grau de contaminação é obtida com lavagens peritoneais durante a operação (BRUNDELL et al., 2002) vertendo solução de NaCl a 0,9% dentro da cavidade peritoneal e aspirando até o líquido retornar claro. O volume da solução é variável a critério do cirurgião (WHITESIDE et al., 2005) e está relacionado com a quantidade de impurezas encontradas na cavidade, mas evita-se deixar líquido residual ou mesmo sangue na cavidade o que favorece o crescimento exagerado de bactérias predispondo a infecção recorrente (SANABRIA, 2003).

Para prevenção de infecção recorrente são indicadas lavagens peritoneais

contínuas, relaparotomias programadas e drenos, que são utilizados em situações específicas (NATHENS; ROTSTEIN, 1994; HERNANDEZ; VALZ, 1995).

Burnett et al., em 1957, preconizaram a lavagem peritoneal intra-operatória relatando a redução de 2/3 na taxa de mortalidade da peritonite secundária utilizando a técnica de irrigar a cavidade peritoneal com grande volume de solução de NaCl a 0,9% para diluir secreções purulentas e impurezas para serem retiradas por aspiração.

A lavagem peritoneal depois de algum tempo de uso foi questionada como procedimento de rotina para controle operatório da peritonite secundária por autores que argumentavam ser a irrigação da cavidade peritoneal fator propagador da contaminação (THOROUGHMAN et al., 1968; CONDON; MALANGONI, 1988). Entre esses autores está Maingot que comentou: “Irrigação da cavidade peritoneal com o propósito de limpeza é, em minha opinião, nunca justificada, até na presença de contaminação fecal grosseira” (MAINGOT, 1974, p. 1416).

Entretanto, o conceito de propagação da contaminação, embora persista não foi comprovado clinicamente (CONDON; MALANGONI, 1988) e não se aplica em caso de peritonite secundária quando a contaminação já compromete todo o peritônio.

O peritônio consiste de uma camada monocelular de células mesoteliais, o mesotélio, e uma camada de tecido conjuntivo contendo células, vasos sanguíneos, vasos linfáticos e fibras nervosas, denominada zona submesotelial, (MICHAILOVA et al., 1999; Di PAOLO; SACCHI, 2000; MARGETTS et al., 2002).

As células mesoteliais do peritônio parietal são alongadas com 2  $\mu\text{m}$  a 3  $\mu\text{m}$  de espessura, possuem núcleos protuberantes para dentro da cavidade peritoneal (Figuras 11-A) e o citoplasma forma uma camada contínua e longa que pode medir de 20  $\mu\text{m}$  a 30  $\mu\text{m}$  de comprimento, apresentando organelas, microvilosidades, invaginações e complexas junções intercelulares (MICHAILOVA et al., 1999; Di PAOLO; SACCHI, 2000).

Na vigência de peritonite o peritônio pode ser considerado semelhante, física e biologicamente, à derme que ao ser ferida e contaminada necessita ser lavada para

remoção da secreção purulenta, corpos estranhos, tecidos mortos e outras impurezas (CONDON; MALANGONI, 1988).

Whiteside et al. (2005) enviou a 153 cirurgiões gerais que trabalhavam em Oxford e na região sudoeste do rio Tâmis, Inglaterra, questionários sobre o uso da lavagem peritoneal intra-operatória e 118 retornaram preenchidos. Ele concluiu que, embora poucas evidências na literatura sustentam o uso da lavagem peritoneal no tratamento da peritonite, a maioria dos cirurgiões usa a lavagem intra-operatória (97%) até retorno claro do líquido (61%), 20% utilizam um litro ou mais de fluido e 47% preferem a solução de NaCl a 0,9%.

A lavagem peritoneal além de remover as impurezas também retira enzimas e citocinas envolvidas nas respostas imunológica e inflamatória do peritônio, mesmo assim as diretrizes do tratamento da peritonite secundária inclui seu uso para remoção mecânica de impurezas da cavidade peritoneal e para controle e diminuição da carga bacteriana (ZHU et al., 1996; PLATELL et al., 2000; BRUNDELL et al., 2002, 2003; SANABRIA, 2003).

Reconhecendo que a lavagem peritoneal com solução NaCl a 0,9% era importante no tratamento da peritonite secundária (BURNETT, 1957; CONDON; MALANGONI, 1988; MUNSOM, 1991; NATHENS; ROTSTEIN, 1994; TORRES et al., 1999; HOLZHEIMÉR, 2001; PLATELL, 2005) pesquisadores adicionaram à solução substâncias como antibióticos (NOON et al., 1967; NYSTRÖM et al., 1984; ROCHA et al., 1986; SALDIVIA et al., 2000), anti-sépticos (AYALA, 1989; BONDAR et al., 2000; WANG et al., 2004), quimioterápicos (SAHA, 1996), glicose hipertônica a 10% (AGUILAR-NASCIMENTO et al., 1992) e imunoglobulina (BAREKZI et al., 1999) com o objetivo de aumentar a eficácia do procedimento.

Menores taxas de infecções nas feridas cirúrgicas de operações para peritonites secundárias ocorriam quando as irrigações finais na lavagem peritoneal intra-operatória eram feitas com solução de NaCl a 0,9% associada com kanamicina-bacitracina (NOON et al., 1967) ou ampicilina (NYSTRÖM et al., 1984) comparadas

com lavagens peritoneais usando apenas solução de NaCl a 0,9%.

A adição de polivinilpirrolidona-iodo à solução de NaCl a 0,9% usada na lavagem peritoneal reduziu as complicações infecciosas intra-abdominais em seres humanos (SINDELAR et al., 1985) e em ratos (AYALA, 1989; WANG et al., 2004), mas a diferença nos resultados não foi estatisticamente significativa.

Aguilar-Nascimento et al. (1992) trabalhando experimentalmente com ratos, documentaram que a lavagem peritoneal com glicose hipertônica a 10% influencia na cicatrização por segunda intenção de feridas no cólon em vigência de peritonite fecal. Concluíram que a cicatrização nos ferimentos ocorria mais rapidamente e com maior resistência após a lavagem peritoneal com solução glicosada a 10% do que a ocorrida após a lavagem com solução NaCl a 0,9%.

Embora existam pesquisas clínicas e experimentais sobre lavagem peritoneal com solução de NaCl a 0,9%, associada ou não a diferentes substâncias (AGUILAR-NASCIMENTO et al., 1992), são raras as referências sobre possíveis alterações histopatológicas que a temperatura das soluções poderia causar no peritônio (NAME, 1991; TÖTH et al., 1992; SILVA, D. et al., 1996; MOLLA NETO et al., 2000; SILVA, A. et al., 2001).

Na prática a temperatura da solução de NaCl a 0,9% usada em lavagens peritoneais recebe pouca importância (SILVA, A. et al., 2001) e comumente é referida como “soro morno” de acordo com a sensibilidade táctil do cirurgião.

A temperatura e sua brusca variação, choque térmico, são utilizadas em diferentes áreas do conhecimento humano para testes de resistência de materiais, para esterilização instrumental médico-hospitalar, para pasteurização de alimentos e outras finalidades.

No entanto, o choque térmico pode causar estresse, danos e morte celular, (TÖTH et al., 1992; SILVA, D. et al., 1996; SILVA, A. et al., 2001) assim como produzir efeitos protetores na sepse com expressão de proteínas do choque térmico (FONSECA et al., 1999; MEYER et al., 1999) e em neoplasias malignas (BUSCH,

1866; NOVER, 1989; ARETXABALA et al., 1989; ROSSI et al., 2004).

Nover (1989) pesquisou a história, a origem e os fundamentos do choque térmico nos últimos 125 anos e cita duas publicações pioneiras na investigação dos efeitos da temperatura sobre tecidos vivos.

A primeira documenta pesquisa realizada em 1864 pelo botânico alemão Julius Sachs (1864) que percebeu que aquecendo parte ou uma planta inteira a 45°C e 51°C ele observava blocos transitórios de protoplasma e modificações na permeabilidade da membrana celular. Comparou efeitos entre folhas novas, maduras e em botão; investigou a reversibilidade dos efeitos do choque térmico interpretando que a temperatura aumentada supera forças moleculares que mantêm a organização das estruturas celulares internas. Essas estruturas celulares internas, importantes para a vida, desmoronam sem significantes modificações externas.

A segunda em 1866 produzida por Buch (1866), outro alemão, documentou a regressão espontânea de câncer de pele em paciente que foi acometido de vários surtos de erisipela inaugurando o campo de pesquisa para investigação dos efeitos da temperatura nas células malignas.

Naquela época Pasteur estudando o processo de fabricação do vinho percebeu que a deterioração acontecia por ação de microrganismos presentes no líquido. Posteriormente descobriu que o aquecimento do vinho, em condições controladas, a temperatura de 55°C a 60°C eliminava microrganismos sem alterar suas propriedades organolépticas conservando-o salubre se mantido resfriado em recipiente hermeticamente fechado sem contato com oxigênio (BORDENAVE, 2003).

Este processo de esterilização parcial com elevação da temperatura em condições controladas seguida de resfriamento é atualmente amplamente usado para conservação de alimentos. Foi nomeado pelo próprio Pasteur de pasteurização e sua descoberta está documentada no livro *Études Sur Le Vin Sur Maladies* publicado em 1866 (DEBRÉ, 1995; SUMMERS, 1999; SCHWARTZ, 2001).

O uso da solução de NaCl a 0,9% para irrigação peritoneal em temperatura

elevada seguida de lavagens com soluções a baixa temperatura, choque térmico, também poderia produzir danos aos microrganismos encontrados na peritonite (NAME, 1991) semelhante ao que ocorre na pasteurização do leite (SERAFINI et al., 2003), mas por outro lado poderia causar alterações histopatológicas (SILVA, A. et al., 2001) no peritônio, na camada muscular da parede da abdominal ou na parede do intestino delgado análogas às observadas em resposta a exposição destes tecidos a agentes biológicos (MARGETTS et al., 2002; TRAMONTE et al., 2004).

Pesquisa experimental, neste sentido, realizada por Silva, A. et al. (2001) documentou que a solução de NaCl a 0,9% na temperatura de 60°C usada para lavagem peritoneal em ratos quando permanecia na cavidade peritoneal durante 1 min causava alterações histopatológicas no peritônio e nas fibras musculares da parede posterior da cavidade peritoneal percebidas à microscopia de luz com taxa de mortalidade de 66% nas primeiras 24 horas. Porém, quando a solução foi utilizada na temperatura de 45°C durante igual tempo não causou alterações histopatológicas na parede posterior da cavidade peritoneal de ratos percebidas ao mesmo tipo de exame.

Em 1991 foi relatada para tratamento da peritonite secundária em seres humanos lavagem peritoneal com solução de NaCl 0,9% em diferentes temperaturas. O processo descrito como choque térmico consiste na irrigação da cavidade peritoneal com solução de NaCl 0,9% na temperatura entre 48°C e 50°C durante 20 min seguida, imediatamente, durante 5 a 10 min, de lavagem com solução NaCl a 0,9% na temperatura entre 0°C e 2°C (NAME, 1991).

Embora existam publicações documentando efeitos das lavagens peritoneais com solução de NaCl a 0,9% aquecidas a temperaturas diferentes (NAME, 1991; TÖTH et al., 1992; SILVA, D. et al., 1996; MOLLA NETO et al., 2000; SILVA, A. et al., 2001) não foram encontrados relatos sobre investigações sobre possíveis alterações histopatológicas no peritônio ou muscular da parede anterolateral da cavidade peritoneal de animais de laboratório ou de seres humanos causadas pelo choque térmico.

A escassez de conhecimentos sobre possíveis alterações histopatológicas provocadas pelo choque térmico no peritônio parietal, mesotélio e zona submesotelial, da cavidade peritoneal e da possibilidade de sua aplicação clínica no tratamento da peritonite secundária motivou esta investigação destinada a avaliar, sob microscopia de luz (ML) e eletrônica de transmissão (MET), possíveis alterações histopatológicas no peritônio da parede anterolateral da cavidade peritoneal de ratos submetidos a choque térmico provocado por lavagens peritoneais com solução de NaCl a 0,9% a diferentes temperaturas.

## **2 – OBJETIVO**



## **2 – OBJETIVO**

Avaliar possíveis alterações histopatológicas no peritônio parietal, mesotélio e zona submesotelial, de ratos expostos a choque térmico provocado por lavagem peritoneal com solução de NaCl a 0,9% na temperatura de 50°C seguida imediatamente por outra irrigação com solução de NaCl a 0,9% na temperatura entre 0°C e 2°C.

### **3 – MATERIAIS E MÉTODOS**

### 3 – MATERIAIS E MÉTODOS

Este estudo e os procedimentos experimentais foram realizados de acordo com os princípios éticos emanados do Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA), foram aprovados pelo Comitê de Ética no Uso Animal (CEUA), do Instituto de Ciências Biológicas (ICB) (Anexo 1) e pela Área de Clínica Cirúrgica da Faculdade de Medicina (FM) da Universidade de Brasília (UnB).

Os procedimentos operatórios e a confecção das lâminas foram realizados no Laboratório de Cirurgia Experimental da FM da UnB.

O exame e as fotografias digitais das lâminas foram realizados no laboratório do Centro de Anatomia Patologia do Hospital Universitário (HUB) da UnB. Coloração especial e reexame das lâminas foram realizadas na Unidade de Anatomia Patológica do Hospital Regional da Asa Norte (HRAN) da Secretaria de Estado de Saúde do Distrito Federal.

O preparo das amostras e a análise em microscopia eletrônica de transmissão (MET) foram realizados no Laboratório de Microscopia Eletrônica do Departamento de Biologia Celular da UnB usando o *Jeol Jem-1011™. Eletron Miscroscopy*.

Na redação do trabalho foram adotadas as Normas para Apresentação de Documentos Científicos do Instituto Paranaense de Desenvolvimento Econômico e Social (IPARDES) da Universidade Federal do Paraná e da Associação Brasileira de Normas Técnicas (ABNT).

Na editoração foram utilizados os softwares IPARDES.DOT e o Microsoft Word®.

#### 3.1 – ANIMAL DE EXPERIMENTAÇÃO

Foram utilizados 60 *Rattus norvergicus*, linhagem Wistar machos, sadios, adultos, com peso entre 340 g a 400 g que permaneceram alojados durante uma semana para aclimatização no alojamento de animais do Laboratório de Cirurgia

Experimental da FM da UnB sob supervisão de médico-veterinário sendo alimentados com ração padrão para roedores de pequeno porte e água *ad libitum* (Figura 1).

FIGURA 1 – ALOJAMENTO DOS ANIMAIS DO LABORATÓRIO DE CIRURGIA EXPERIMENTAL DA FM DA UnB



### 3.1.1 – Procedência

Os animais foram fornecidos pela Bioagri Laboratórios Ltda., Planaltina, DF e confinados em gaiolas com seis ratos cada.

### 3.1.2 – Distribuição dos animais em grupos.

Os ratos foram distribuídos em seis grupos com dez animais sendo quatro grupos para o experimento, um grupo Sham e um grupo controle. Em cada dia de operação foram operados dois animais de cada grupo.

As operações foram realizadas em lotes de seis animais alocados nos grupos por sorteio simples sem reposição, a saber: Grupo 1, Choque Térmico (CT); Grupo 2, Temperatura Elevada (TE); Grupo 3, Temperatura Corporal (TC); Grupo 4, Temperatura 0°C (TZ); Grupo 5, Sham (SH) e Grupo 6, Controle (GC).

## 3.2 - ORDENAÇÃO DAS ETAPAS EXPERIMENTAIS.

Os animais foram submetidos às seguintes etapas experimentais:

### 3.2.1 – Pré-operatório.

Após o período aclimatização os ratos foram examinados e tiveram seus pesos aferidos e registrados. Sessenta animais clinicamente sadios e com pesos entre 340 e 400 g com 100 a 120 dias de nascidos foram submetidos a laparotomia e suas caudas marcadas com quantidade de listas pretas correspondente ao número do grupo ao qual pertenciam.

### 3.2.2 – Anestesia

A anestesia foi realizada com cloridrato de cetamina na dose de 90 mg/kg associada a xilazina, dose de 5 mg/kg, ambos por aplicação intramuscular na face medial da coxa direita do animal.

### 3.2.3 – Técnica operatória

Os materiais e instrumentos cirúrgicos foram desinfetados com solução glutaraldeído ( $C_5H_8O_2$ ) a 2% antes da sessão operatória.

Após anestesia e tricotomia da superfície ventral do abdome o animal foi imobilizado em decúbito dorsal pela fixação de suas patas dianteiras e traseiras com tiras de esparadrapo sobre placa de madeira revestida com Fórmica® (Figura 2).

FIGURA 2 – ANIMAL ANESTESIADO, IMOBILIZADO SOBRE PLACA DE MADEIRA COM AS PATAS PRESAS COM TIRAS DE ESPARADRAPO E COM TRICOTOMIA DA FACE VENTRAL DO ABDOME.

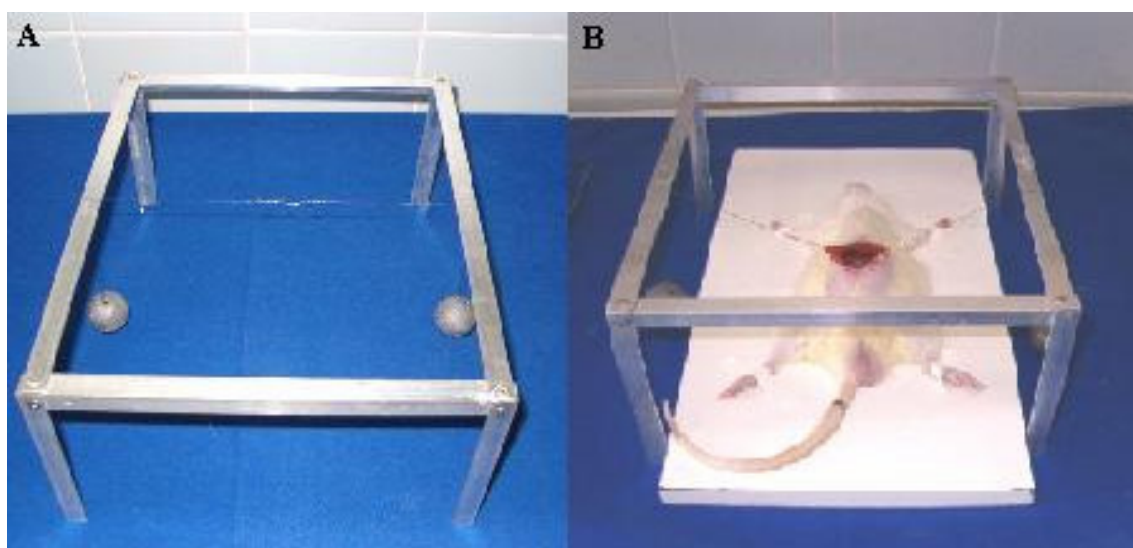


Não foi realizada anti-sepsia da face ventral do abdome para evitar o risco de contaminar a cavidade peritoneal durante a laparotomia com a solução anti-séptica que poderia provocar reação histológica no peritônio.

Laparotomia mediana de 4 cm, com extremo caudal a 2 cm da genitália externa.

Nas bordas da ferida operatória a meia distância dos extremos da incisão foram aplicados ganchos presos a bolas de chumbo com fios de náilon de 20 cm de comprimento um de cada lado. Os fios apoiados em armação de alumínio (Figura 3A) tracionavam as bordas da ferida operatória pela ação da gravidade na direção oblíqua e em sentido oposto de modo que a cavidade peritoneal ficava exposta semelhante a uma bolsa aberta facilitando a irrigação (Figura 3B).

FIGURA 3 – ARMAÇÃO EM ALUMÍNIO CONSTRUÍDA PARA EXPOSIÇÃO DA CAVIDADE PERITONEAL DE PEQUENOS ANIMAIS SUBMETIDOS A EXPERIMENTOS CIENTÍFICOS E BOLAS DE CHUMBO PRESAS COM FIOS DE NÁILON A GANCHOS (A) APLICADOS NAS BORDAS DA FERIDA OPERATÓRIA QUE APOIADOS NA ARMAÇÃO DE ALUMÍNIO TRACIONAM E EXPÕE A CAVIDADE PERITONEAL (B)



A cavidade peritoneal exposta desta forma foi preenchida e esvaziada com solução de NaCl a 0,9% de acordo com o programado para cada rato exceto aqueles do grupo Controle que foram submetidos a laparotomia e biópsias e os do grupo Sham que foram submetidos à simulação do experimento.

A síntese da parede abdominal foi realizada em dois planos, o primeiro músculo aponeurótico e o segundo pele, utilizando fios de náilon 4-0 com agulha cortante de 1,5 cm.

### 3.2.4 – Procedimentos operatórios por grupo de animais.

Os procedimentos operatórios realizados nos animais dos diferentes grupos descritos a seguir estão representados em esquemas gráficos no Apêndice 4.

#### 3.2.4.1 – Grupo 1 – CT:

Após laparotomia a cavidade peritoneal de cada animal deste grupo foi preenchida com solução de NaCl a 0,9% a 50°C e mantida cheia durante 1 min. Depois deste tempo foi esvaziada e imediatamente preenchida com solução NaCl 0,9% na temperatura entre 2°C e 0°C e esvaziada após 1 min. A seguir foi realizada a síntese da parede abdominal.

#### 3.2.4.2 – Grupo 2 – TE:

Após laparotomia a cavidade peritoneal de cada animal deste grupo foi preenchida com solução de NaCl a 0,9% a 50°C e mantida cheia durante 1 min. Depois deste tempo foi esvaziada e imediatamente simulado o preenchimento e depois de 1 min procedeu-se à simulação de esvaziamento. A seguir foi realizada a síntese da parede abdominal.

#### 3.2.4.3 – Grupo 3 – TC:

Após laparotomia a cavidade peritoneal de cada animal deste grupo foi preenchida com solução de NaCl 0,9% a 37°C e mantida cheia durante 1 min. Depois deste tempo foi esvaziada e imediatamente preenchida com solução de NaCl a 0,9% na mesma temperatura e após 1 min esvaziada. A seguir realizou-se a síntese da parede abdominal.



#### 3.2.4.4 – Grupo 4 – TZ:

Após laparotomia foi simulado o preenchimento da cavidade peritoneal de cada animal deste grupo e depois de 1 min procedeu-se à simulação do esvaziamento. A seguir a cavidade peritoneal foi preenchida com solução de NaCl 0,9% na temperatura entre 0°C e 2°C e mantida cheia durante 1 min. Depois deste tempo foi esvaziada e realizada a síntese da parede abdominal.

#### 3.2.4.5 – Grupo 5 – SH:

Após laparotomia foi simulado o preenchimento da cavidade peritoneal de cada animal deste grupo com solução de NaCl a 0,9% e depois de 1 min procedeu-se à simulação do esvaziamento. Depois deste tempo foi imediatamente simulado novo preenchimento e após 1 min foi simulado o esvaziamento. A seguir foi realizada a síntese da parede abdominal.

#### 3.2.4.6 – Grupo 6 – GC:

Os animais deste grupo foram submetidos a laparotomia seguida de eutanásia após coleta de amostras da parede anterolateral do lado esquerdo da cavidade peritoneal para exame histopatológico e a morfometria. No quinto animal deste grupo também foi realizada biopsia do lado direito para análise sob microscopia eletrônica de transmissão.

#### 3.2.5 – Evolução pós-operatória

Os animais depois de operados foram confinados em gaiolas em lotes de seis

e observados clinicamente. Após recuperação anestésica receberam ração padrão para roedores de pequeno porte e água *ad libitum*.

### 3.2.6 – Reoperação e eutanásia.

Vinte e quatro horas após a laparotomia todos os animais foram anestesiados e reoperados para realização de biópsias exceto os do grupo controle que já tinham sido submetidos à biópsias.

Na reoperação foram retiradas amostras da parede anterolateral do lado esquerdo da cavidade peritoneal para exame histopatológico sob microscopia de luz (ML) e no quinto animal de cada grupo, também foi realizado biopsia do lado direito para análise sob microscopia eletrônica em seguida, após síntese da parede abdominal os animais receberam dose letal intracardíaca de tiopental sódico a 2,5%.

### 3.2.7 – Exame histopatológico em microscopia de luz.

As amostras, fragmentos de 1,0 cm por 0,5 cm, constituídas de peritônio e camada muscular da parede anterolateral esquerda da cavidade peritoneal foram fixadas em formol a 10%, desidratadas em etanol, incluídas em parafina, cortadas no micrótomo Leica RM2125RT em secções de 6  $\mu$ m de espessura, montadas em lâminas e coradas com hematoxilina e eosina (HE) de acordo com o protocolo do Laboratório de Cirurgia Experimental da FM da UnB.

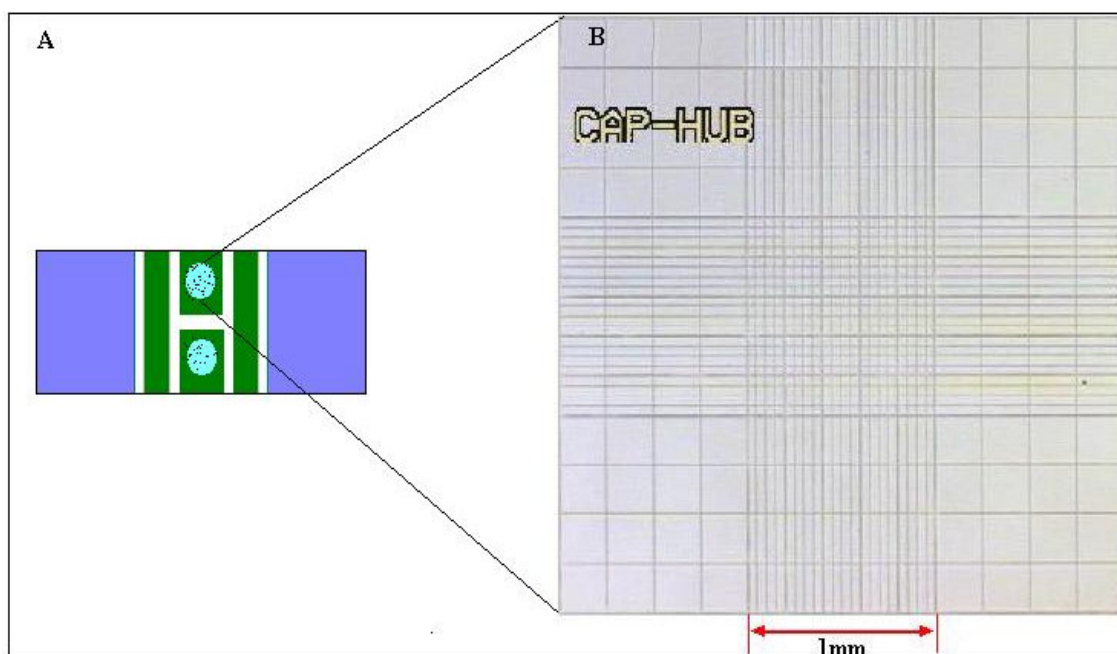
Coloração em Tricrômico de Masson (TM) foi realizada no Laboratório da Unidade de Anatomia Patológica do HRAN.

Para exame das lâminas foi utilizado o microscópio *Zeiss oxicop 2<sup>TM</sup>* com objetiva de 40x e ocular de 10x23 mm do Laboratório de Patologia Clínica do HUB.

Foram fotografados cinco campos diferentes de cada lâmina e realizadas

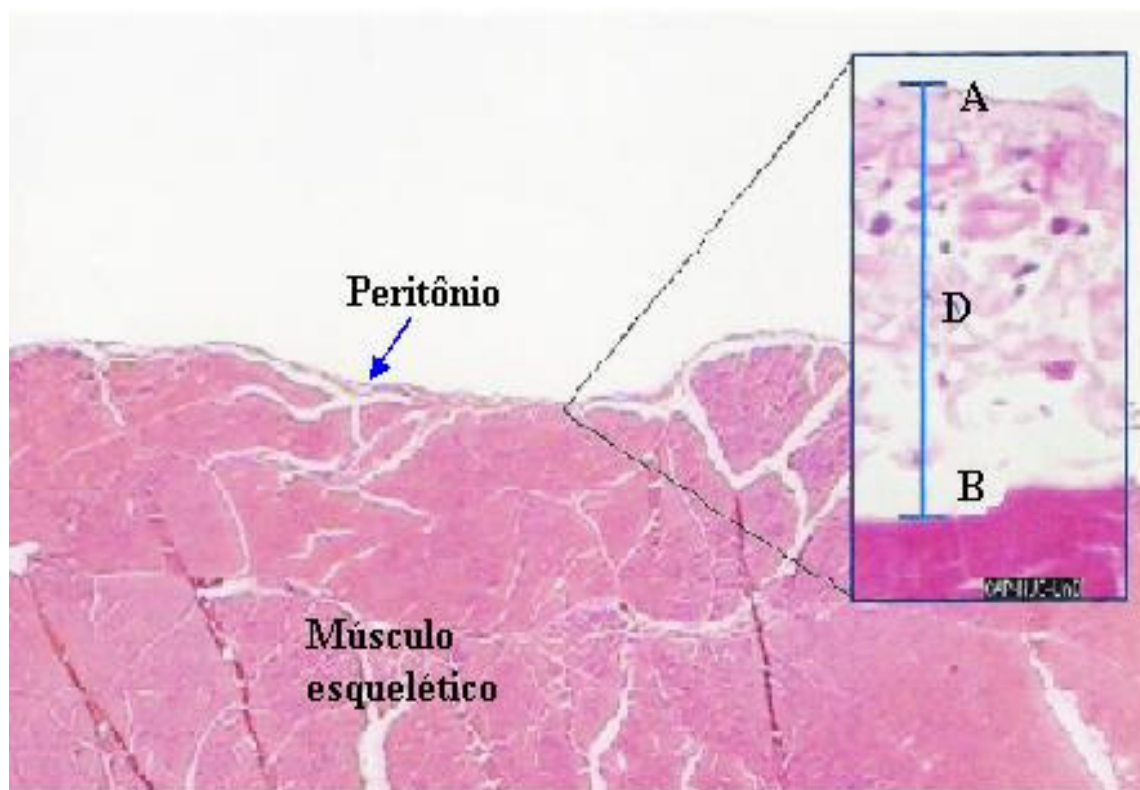
duas medidas da espessura do peritônio em dois locais diferentes de cada 1 dos 5 campos com câmara digital (objetiva 20x) utilizando o software *Zeiss Axio Vision™ 3.0* calibrado com a imagem digitalizada da câmara de Neubauer fotografada com os mesmos parâmetros adotados nas fotografias das lâminas (Figura 4).

FIGURA 4 – DESENHO ESQUEMÁTICO: CÂMARA DE NEUBAEUR (A), RETÍCULO COM 9 QUADRADOS COM  $1 \text{ mm}^2$  DE ÁREA (B) E DISTÂNCIA (SETA) CORRESPONDENTE A 1 mm USADA PARA CALIBRAÇÃO DO SOFTWARE *ZEISS AXIO VISION™*



Para medir a espessura do peritônio nas imagens digitalizadas das lâminas foi considerado o mesotélio como limite superficial e a primeira célula muscular como limite profundo do segmento que incluiu o mesotélio e tecido conjuntivo frouxo (Figura 5).

FIGURA 5 – CORTE HISTOLÓGICO DE AMOSTRA RETIRADA DA PAREDE ANTEROLATERAL DA CAVIDADE PERITONEAL DE RATO EXIBINDO EM MENOR AUMENTO (ML 2,5X) O PERITÔNIO E A CAMADA MUSCULAR. NO DETALHE EM MAIOR AUMENTO (ML.40X) OBSERVA-SE O MESOTÉLIO E ZONA SUBMESOTELIAL. OS PONTOS A E B INDICAM ESQUEMATICAMENTE A ESPESSURA D DO PERITÔNIO. (COLORAÇÃO HE)



### 3.2.7.1 – Parâmetros do exame sob microscopia de luz

As lâminas foram examinadas por médico patologista que desconhecia a qual grupo de animais pertencia o espécime. Investigou-se a presença de edema, congestão vascular, extravasamento de hemácias, destruição do mesotélio e necrose focal utilizando o critério subjetivo dos graus de ausente, discreto, moderado e intenso.

Outro parâmetro utilizado na avaliação histopatológica foi a espessura do peritônio aferida em dois locais diferentes de cada 1 dos 5 campos fotografados das lâminas (Figura 6).

FIGURA 6 – DUAS MEDIDAS EM  $\mu\text{m}$  DA ESPESSURA DO PERITÔNIO REALIZADAS COM SOFTWARE ZEISS AXIO VISION™ 3.0 EM IMAGEM DIGITALIZADA DOS CINCO CAMPOS FOTOGRAFADOS DE CADA LÂMINA. COLORAÇÃO HE (M.L. 20X)



### 3.2.8 – Análise em microscopia eletrônica de transmissão

As amostras da parede anterolateral direita da cavidade peritoneal para análise sob microscopia eletrônica de transmissão foram produzidas em fragmentos de  $1 \text{ mm}^3$  usando *biopsy punch*, extrator de biópsia, (Figura 7-A) e colocadas em *eppenndorf* (Figura 7-B), previamente identificados, contendo solução fixadora constituída de 2% paraformolaldeído, 2% glutaraldeído em tampão cacodilato de sódio 0,1 M, pH. 7,2. A fixação ocorre por um período de 24 horas. Após a fixação o tecido foi lavado por três vezes no mesmo tampão por um período de uma hora.

A pós-fixação foi realizada em solução tetróxido de ósmio e ferricianeto de potássio por 1 hora no escuro.

A desidratação foi realizada em acetona (30% a 100%) e a inclusão em resina Spurr (Figura 7-C).

Os cortes ultrafinos foram obtidos no ultramicrotomo Leica AG<sup>TM</sup> Type 705001 em secções de 70 a 90 nm com a utilização de faca de diamante. As secções foram recolhidas em tela de cobre de 200 *mesh* (Figura 7-D) e contrastadas em solução de acetato de uranila e citrato de chumbo.

FIGURA 7 – MATERIAIS UTILIZADOS NA COLETA E PREPARO DAS AMOSTRAS PARA MICROSCOPIA ELETRÔNICA: EXTRATOR DE BIOPSIAS (A), EPPENNDORF (B), BLOCO EM RESINA (C) COM MATERIAL JÁ INCLUIDO E TELA DE COBRE (D)



As análises foram realizadas em microscópio eletrônico de transmissão (Jeol JEM-1011C<sup>TM</sup> *Electronic Microscopy*), operado a 80 Kv, do Laboratório de Microscopia Eletrônica do Departamento de Biologia Celular da UnB pesquisando alterações morfológicas e a ultra-estrutura da célula mesotelial.

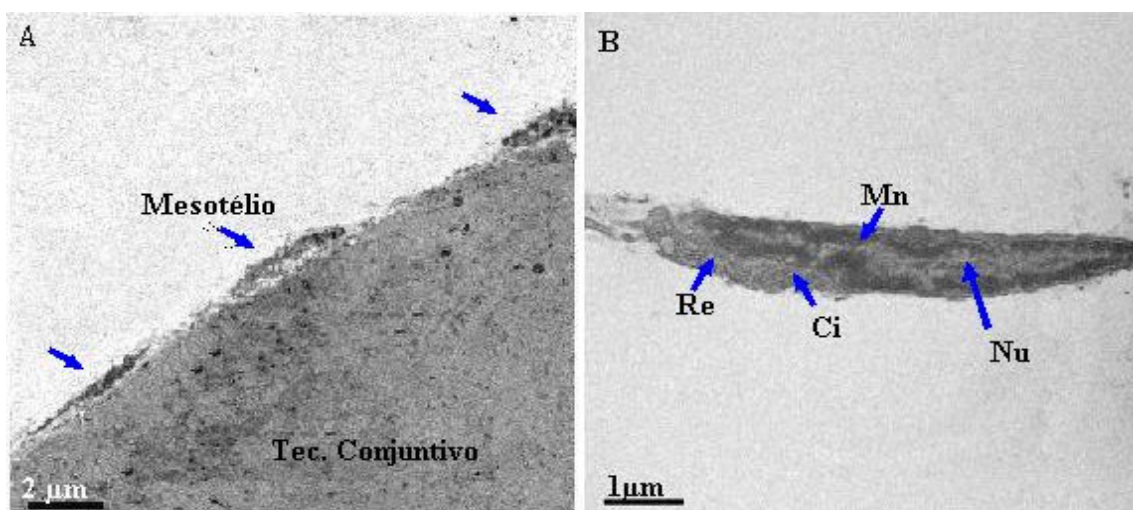
### 3.2.8.1 – Parâmetros para análise em microscopia eletrônica de transmissão.

Em análise na microscopia eletrônica de transmissão, embora a célula



mesotelial (Figura 8-A e Figura 8-B) fosse o foco principal, também foram avaliadas outras células encontradas na zona submesotelial, tecido conjuntivo e muscular da parede anterolateral da cavidade peritoneal.

FIGURA 8 – CAMADA DE CÉLULAS MESOTELIAIS PLANAS (SETA) NA SUPERFÍCIE DO TECIDO CONJUNTIVO, MET 8.000X (A) E UMA CÉLULA MESOTELIAL DESCOLADA, MET 15.000X (B). Mn: MEMBRANA NUCLEAR; Nu: NÚCLEO Ci: CITOPLASMA; Re: RETÍCULO ENDOPLASMÁTICO



### 3.3 – Execução

Durante a execução do trabalho experimental a data das operações, o peso e estado clínico dos animais foram registrados em formulários assim como a temperatura ambiente e das soluções.

Foram utilizadas soluções de NaCl 0,9% industrializadas destinadas a uso médico em humanos.

A solução NaCl 0,9% a 50°C foi aquecida e mantida em aparelho de banho maria com temperatura controlada pelo termostato do próprio aparelho e conferida por termômetro digital para fluido.

A solução NaCl 0,9% a 37°C foi aquecida e mantida em outro aparelho de

banho maria com temperatura controlada pelo termostato do próprio aparelho e conferida por termômetro digital para fluidos.

A solução de NaCl a 0,9% na temperatura entre 0°C e 2°C foi esfriada e mantida no refrigerador com termostato de controle interno conferida por termômetro digital para fluidos.

### 3.4 – Estatística

Foram utilizados para análise estatísticas os softwares Excel da Microsoft® 2002, *Statistical Package Social for Sciences*<sup>TM</sup> (SPSS) versão 13 com aplicação das provas de Levene para homocedasticidade, *Analysis of Variance* (ANOVA) e o teste não paramétrico de Mann-Whitney.

As probabilidades menores que 5% ( $P < 0,5$ ) foram consideradas significantes.



## **4 – RESULTADOS**

## 4 – RESULTADOS

### 4.1 – MODELO EXPERIMENTAL

O modelo experimental permitiu a realização do estudo sem atropelos de acordo com projeto e a utilização da armação de alumínio (Figura 3) facilitou a abertura e exposição uniforme da ferida operatória.

### 4.2 – AVALIAÇÃO PONDERAL

A média, desvio padrão, erro padrão da média, limite inferior e superior do intervalo de confiança de 95% da média, valor máximo e mínimo do peso em gramas dos animais dos grupos Choque térmico (CT), Temperatura elevada (TE), Temperatura corporal (TC), Temperatura entre 0°C e 2°C (TZ), Sham (SH) e Controle (GC) na data da operação e na data da reoperação foram semelhantes,  $P > 0,05$  (Tabela 1).

TABELA 1 - MÉDIA, DESVIO PADRÃO, ERRO PADRÃO DA MÉDIA, LIMITE INFERIOR E SUPERIOR DO INTERVALO DE CONFIANÇA DE 95%, VALOR MÁXIMO E MÍNIMO DO PESO EM GRAMAS DOS ANIMAIS DOS GRUPOS: CHOQUE TÉRMICO (CT), TEMPERATURA ELEVADA (TE), TEMPERATURA CORPORAL (TC), TEMPERATURA ENTRE 0°C E 2°C (TZ), SHAM (SH) E CONTROLE (GC) NAS DATAS DA OPERAÇÃO E DA REOPERAÇÃO

		n	Média	Desvio padrão	Erro padrão	Intervalo de confiança para média, 95%		Mínimo	Máximo
						Limite inferior	Limite superior		
Peso na operação	CT	10	383,37	13,98	4,42	373,36	393,36	353,69	401,74
	TE	10	388,39	12,73	4,02	379,28	397,49	367,17	406,34
	TC	10	377,00	18,10	5,72	364,05	389,94	354,75	400,07
	TZ	10	391,13	13,56	4,29	381,42	400,83	360,43	404,22
	SH	10	381,62	18,28	5,78	368,54	394,69	355,65	405,57
	GC	10	371,38	20,91	6,61	356,42	386,33	340,55	399,21
	Total N	60	382,14	17,17	2,22	377,71	386,58	340,55	406,34
Peso na reoperação	CT	10	376,91	15,13	4,79	366,08	387,74	343,78	395,60
	TE	10	378,53	14,48	4,58	368,17	388,90	349,55	397,92
	TC	10	366,87	16,01	5,06	355,42	378,32	344,38	389,13
	TZ	10	380,62	15,17	4,80	369,77	391,47	358,71	398,77
	SH	10	370,88	18,29	5,78	357,80	383,97	339,77	401,02
	GC	10	367,47	20,82	6,58	352,57	382,36	331,29	388,92
	Total N	60	373,55	16,97	2,19	369,16	377,93	331,29	401,02

NOTA: Dados extraídos das tabelas dos pesos dos animais (Apêndice 1).

Não ocorreu diferença estatisticamente significativa dos pesos dos animais, intergrupos e intragrupos, aferidos no dia da operação e no dia da reoperação:  $P > 0,05$  (Tabela 2).

TABELA 2 – COMPARAÇÃO DAS VARIÂNCIAS DOS PESOS DOS ANIMAIS AFERIDOS NO DIA DA OPERAÇÃO E NO DIA DA REOPERAÇÃO

Pesos	Fonte	Soma dos quadrados	gl	Média quadrática	F	Sig.
Na operação	Intergrupos	2638,905	5	527,781	1,930	0,104
	Intragrupos	14764,023	54	273,408		
	Total	17402,928	59			
Na reoperação	Intergrupos	1748,771	5	349,754	1,239	0,304
	Intragrupos	15238,358	54	282,192		
	Total	16987,129	59			

NOTA: Dados extraídos das tabelas dos pesos dos animais (Apêndice 1).

A amostra, quanto ao peso, foi homogênea com  $P = 0,151$  no dia da operação e  $P = 0,481$  no dia da reoperação, em conformidade com a teste de *Levene* para Homocedasticidade (Tabela 3).

TABELA 3 - PROVA DE HOMOCEDASTICIDADE DOS PESOS DOS ANIMAIS NO DIA DA OPERAÇÃO E NO DIA DA EUTANÁSIA

Pesos	Estatístico Levene	gl1	gl2	Sig.
Peso na operação	1,699	5	54	0,151
Peso na reoperação	0,911	5	54	0,481

NOTA: Dados extraídos das tabelas dos pesos dos animais (Apêndice 1).

#### 4.3 – EVOLUÇÃO CLÍNICA

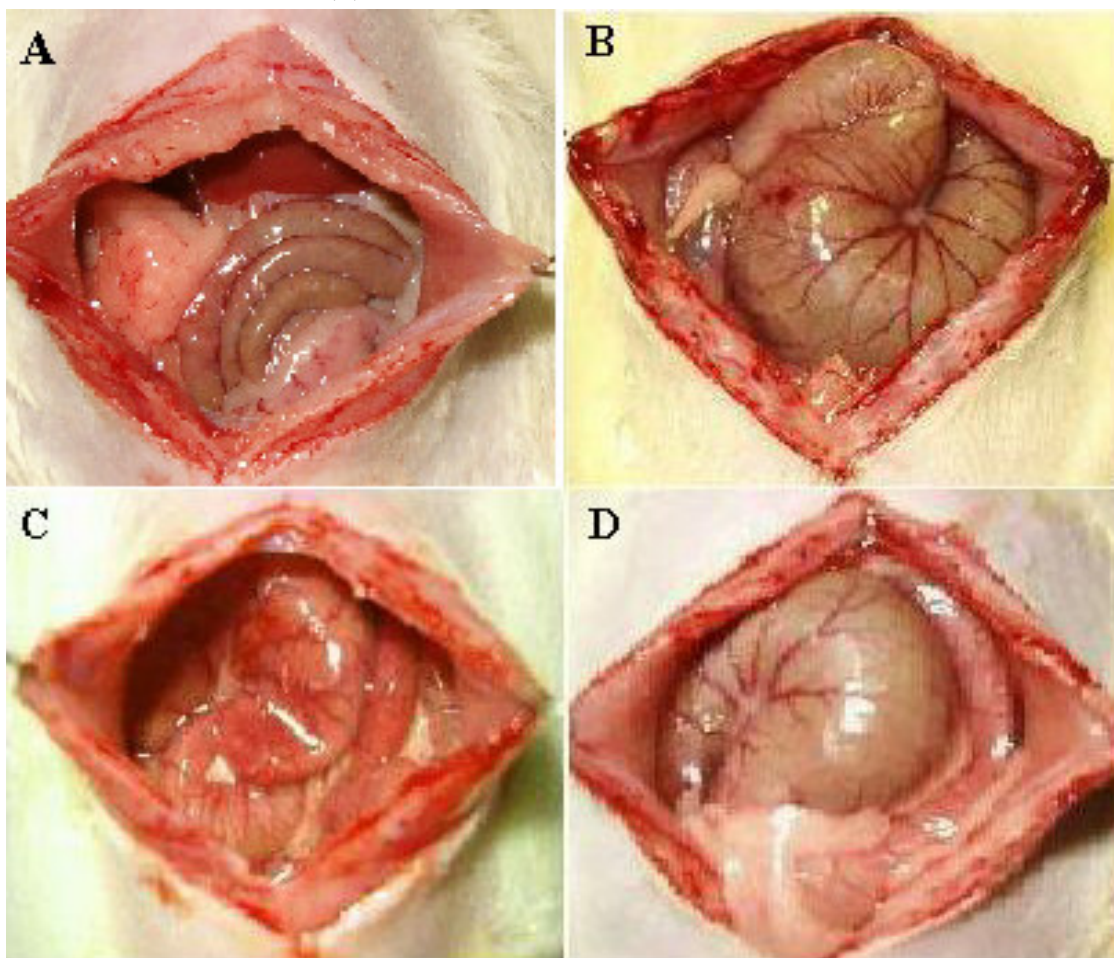
Não houve óbitos.

Dois animais apresentaram diarréia, um do grupo CT e outro do grupo TE. Um animal do grupo SH evoluiu com distensão abdominal e deiscência da sutura da ferida operatória, entretanto todos animais depois de restabelecidos da anestesia permaneceram ativos até o momento da reoperação.

#### 4.4 – ANÁLISE OPERATÓRIA

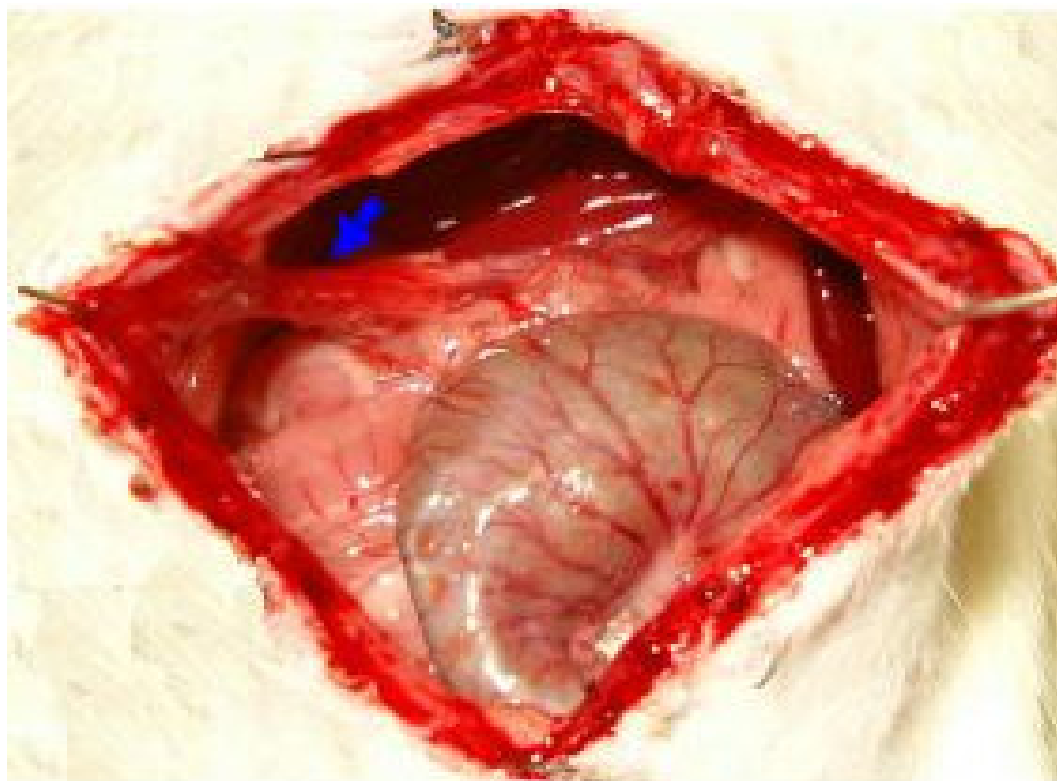
Durante a operação ao irrigar a cavidade peritoneal com solução de NaCl a 50°C observou-se que vasos sanguíneos subserosos das alças intestinais aumentavam de calibre, grupo TE, (Figura 9-B) ao contrário do que ocorria quando a temperatura da solução de NaCl 0,9% foi entre 0°C e 2°C grupo TZ (Figura 9-C) e diferente do aspecto observado no grupo de animais submetido ao Choque Térmico (Figura 9-D) e do Controle (Figura 9-A).

FIGURA 9 – VASOS SUBSEROSOS DE ALÇAS INTESTINAIS DE RATOS ANTES DA IRRIGAÇÃO DA CAVIDADE PERITONEAL (A), APÓS IRRIGAÇÃO COM SOLUÇÃO DE NaCl A 0,9% NA TEMPERATURA 50°C (B), APÓS IRRIGAÇÃO COM A SOLUÇÃO NA TEMPERATURA ENTRE 0°C E 2°C (C) E APÓS IRRIGAÇÃO COM A SOLUÇÃO A 50°C SEGUIDA IMEDIATAMENTE DE OUTRA IRRIGAÇÃO COM A SOLUÇÃO NA TEMPERATURA ENTRE 0°C E 2°C (D)



Na reoperação de um animal do grupo TZ foram encontradas aderências de alças intestinais com a parede abdominal e líquido turvo dentro da cavidade peritoneal. (Figura 10).

FIGURA 10 – ADERÊNCIAS PERITONEAIS (SETA) ENCONTRADAS DURANTE A REOPERAÇÃO DE UM ANIMAL DO GRUPO TZ



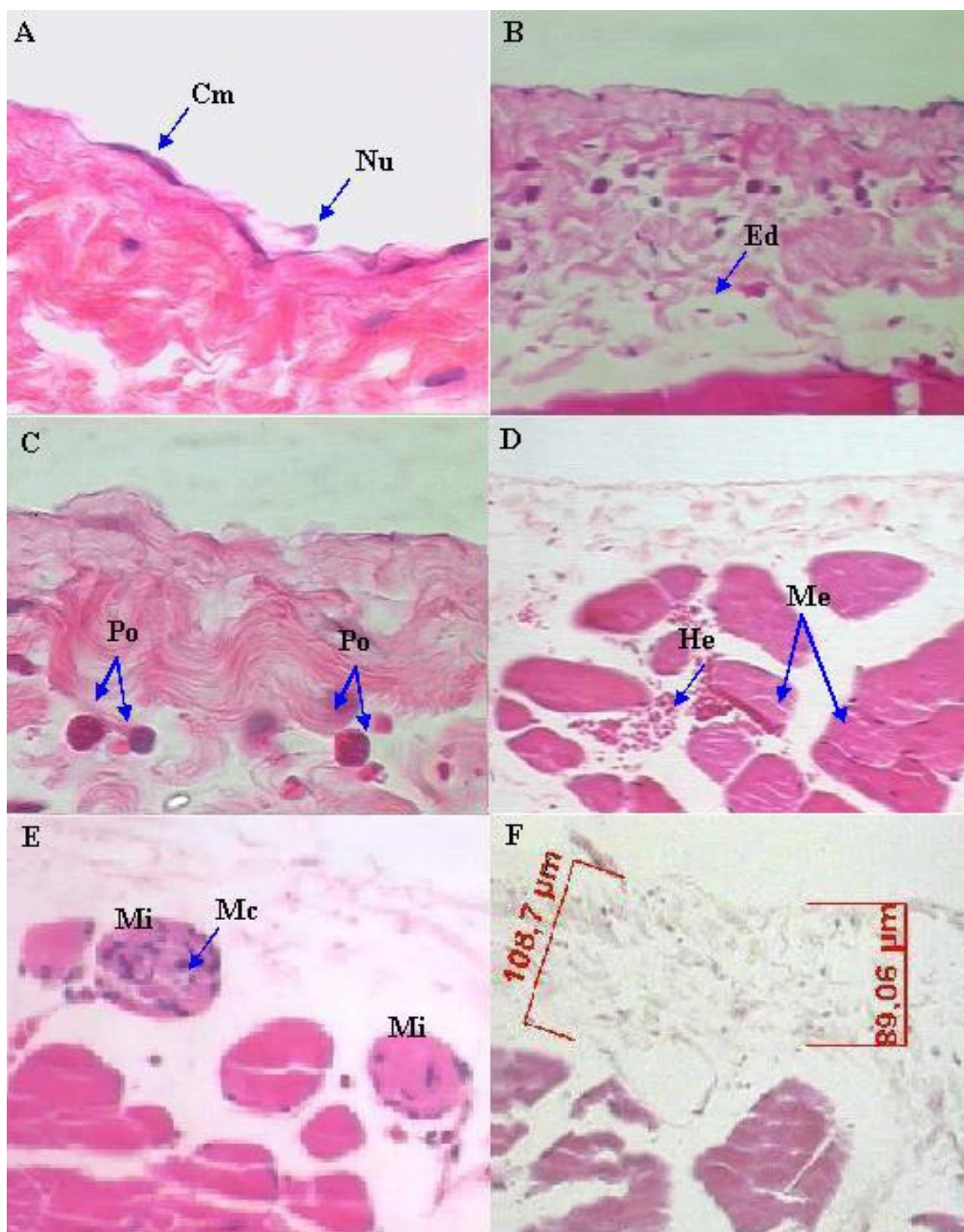
#### 4.5 – TEMPERATURA AMBIENTE

A temperatura ambiente da sala de operações oscilou entre 22°C e 26°C durante os dias das sessões operatórias.

#### 4.6 – MICROSCOPIA DE LUZ.

No exame das lâminas foram observados mesotélio normal, edema, congestão vascular, extravasamento de hemácias, destruição do mesotélio, necrose focal e espessamento do peritônio (Figura 11).

FIGURA 11 – MESOTÉLIO PRESERVADO, ML 100X (A), EDEMA, ML 40X (B), AUSÊNCIA DO MESOTÉLIO, ML 100X (C), EXTRAVASAMENTO DE HEMÁCIAS, ML 20X (D), NECROSE, ML 40X (E), E AUMENTO DA ESPESSURA DO PERITÔNIO, ML 20X (F). (COLORAÇÃO HE). Cm: CELULA MESOTELIAL, Nu: NÚCLEO, Ed: EDEMA, Po: POLIMORFONUCLEARES, He: HEMÁCIAS, Mi: MIÓCITOS, Mc: MACROFÁGOS; Me: MÚSCULO ESQUELÉTICO





#### 4.6.1 – Edema

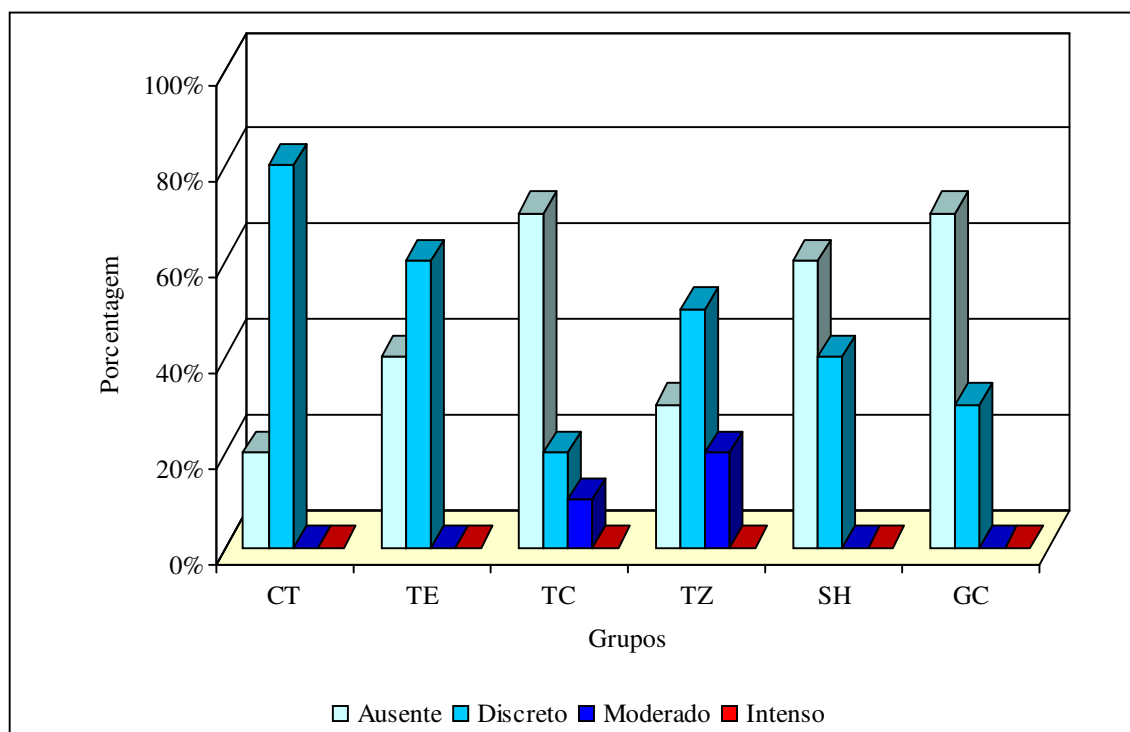
Edema em grau discreto foi encontrado em 80% das amostras dos animais do grupo CT, em 60% do grupo TE, em 20% do grupo TC, em 50% do grupo TZ, em 40% do grupo SH e em 30% do GC.

Edema em grau moderado estava presente em 10% das amostras do grupo TC e em 20% das do grupo TZ.

Não foi encontrado edema que pudesse ser classificado como intenso (Gráfico 1).

Na comparação da incidência de edema encontrado nas amostras dos animais do grupo CT com a observada no GC houve diferença estatística significativa ( $P = 0,028$ ) e na comparação com o grupo SH não houve diferença,  $P = 0,075$  (Tabela 4).

GRÁFICO 1 – PORCENTAGEM DE EDEMA NO GRAU AUSENTE, DISCRETO, MODERADO E INTENSO NAS AMOSTRAS DOS GRUPOS CHOQUE TÉRMICO (CT), TEMPERATURA ELEVADA (TE), TEMPERATURA CORPORAL (TC), TEMPERATURA 0° (TZ), SHAM (SH) E GRUPO CONTROLE (GC)



NOTA: Dados extraídos da tabela: Ocorrência de edema, congestão vascular, extravasamento de hemácias, destruição de mesotélio e necrose focal (Apêndice 2).

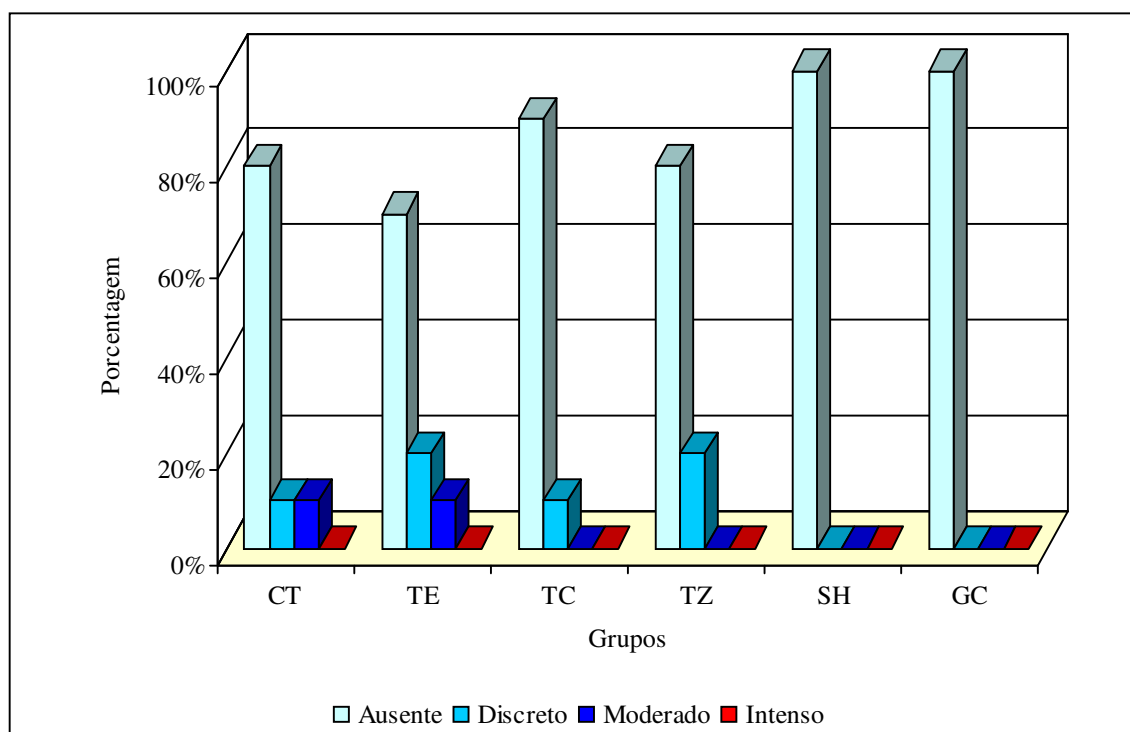
#### 4.6.2 – Congestão vascular.

Congestão vascular em grau discreto foi encontrada em 10% das amostras dos animais do grupo CT, em 20% do grupo TE, em 10% do grupo TC e em 20% do grupo TZ. Congestão vascular em grau moderado estava presente em 10% das amostras do grupo CT e nas do grupo TE.

Não foi encontrada congestão vascular que pudesse ser classificada como intensa (Gráfico 2).

Na comparação da congestão vascular encontrada no grupo CT com a observada no GC e no grupo SH não houve diferença estatística significativa  $P > 0,05$  (Tabela 4).

GRÁFICO 2 – PORCENTAGEM DE CONGESTÃO VASCULAR EM GRAU AUSENTE, DISCRETO, MODERADO E INTENSO NAS AMOSTRAS DOS GRUPOS CHOQUE TÉRMICO (CT), TEMPERATURA ELEVADA (TE), TEMPERATURA CORPORAL (TC), TEMPERATURA 0° (TZ), SHAM (SH) E GRUPO CONTROLE (GC)



NOTA: Dados extraídos da tabela: Ocorrência de edema, congestão vascular, extravasamento de hemácias, destruição de mesotélio e necrose focal (Apêndice 2).



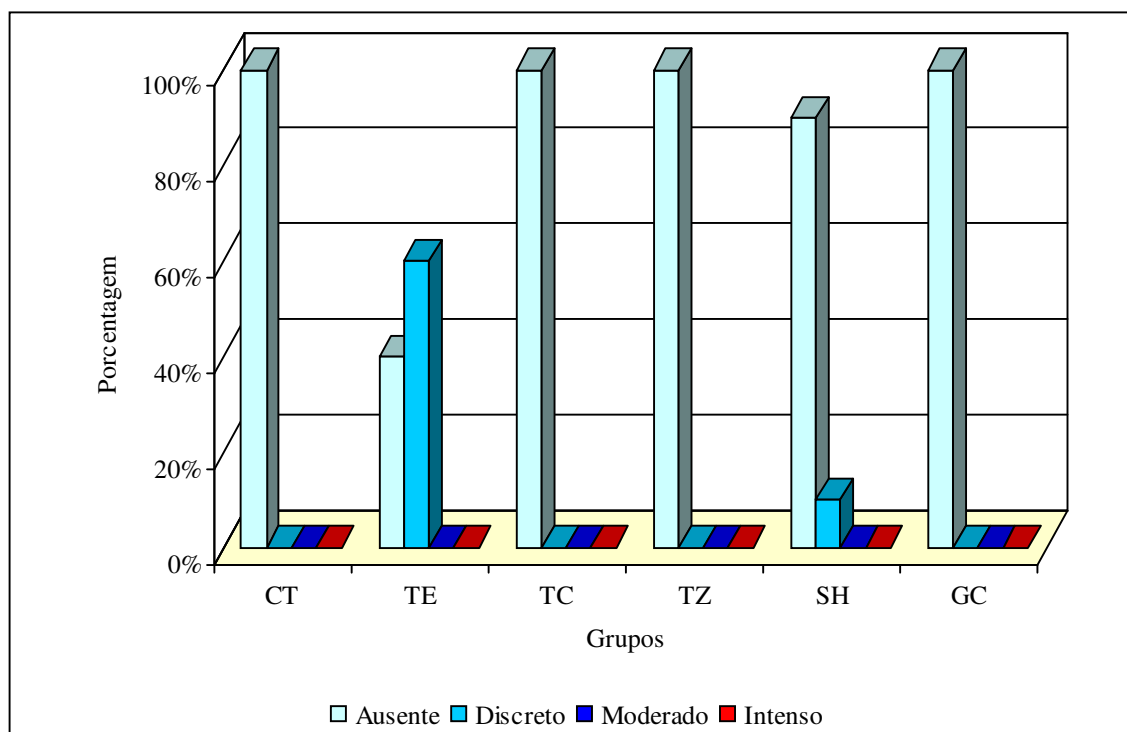
#### 4.6.3 – Extravasamento de hemácias.

Extravasamento de hemácias em grau discreto foi encontrado em 60% das amostras dos animais do grupo TE e em 10% nas do grupo SH.

Não foi encontrado extravasamento de hemácias que pudesse ser classificado em grau moderado ou intenso (Gráfico 3).

Na comparação do extravasamento de hemácias encontrado no grupo CT com o observado no GC e no grupo SH não houve diferença estatística significativa,  $P > 0,05$  (Tabela 4).

GRÁFICO 3 – PORCENTAGEM DE EXTRAVASAMENTO DE HEMÁCIAS EM GRAU AUSENTE, DISCRETO, MODERADO E INTENSO NAS AMOSTRAS DOS GRUPOS CHOQUE TÉRMICO (CT), TEMPERATURA ELEVADA (TE), TEMPERATURA CORPORAL (TC), TEMPERATURA 0° (TZ), SHAM (SH) E GRUPO CONTROLE (GC)



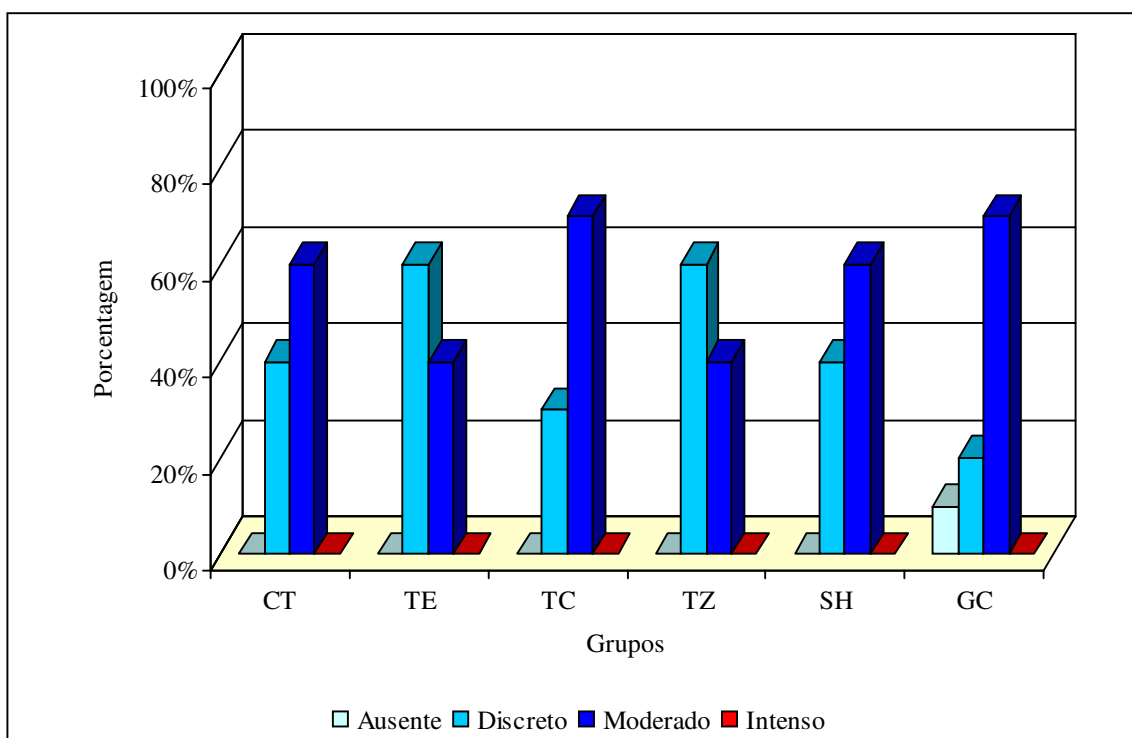
NOTA: Dados extraídos da tabela: Ocorrência de edema, congestão vascular, extravasamento de hemácias, destruição de mesotélio e necrose focal (Apêndice 2).

#### 4.6.4 – Destruição do mesotélio.

Destruição do mesotélio em grau discreto foi encontrada em 40% das amostras dos animais do grupo CT, em 60% do grupo TE, em 30% do grupo TC, em 60% do grupo TZ, em 40% do grupo SH e em 20% do GC. Destruição do mesotélio em grau moderado estava presente em 60% das amostras do grupo CT, em 40% do grupo TE, em 70% do grupo TC, em 40% do grupo TZ, em 60% do SH e em 70% do GC. Não foi encontrada destruição do mesotélio que pudesse ser classificada como intensa (Gráfico 4).

Na comparação da destruição do mesotélio encontrada no grupo CT com a observada no GC e no grupo SH não houve diferença estatística significativa,  $P > 0,05$  (Tabela 4).

GRÁFICO 4 – PORCENTAGEM DE DESTRUIÇÃO DO MESOTÉLIO NO GRAU AUSENTE, DISCRETO, MODERADO E INTENSO NAS AMOSTRAS DOS GRUPOS CHOQUE TÉRMICO (CT), TEMPERATURA ELEVADA (TE), TEMPERATURA CORPORAL (TC), TEMPERATURA 0° (TZ), SHAM (SH) E GRUPO CONTROLE (GC)



NOTA: Dados extraídos da tabela: Ocorrência de edema, congestão vascular, extravasamento de hemácias, destruição de mesotélio e necrose focal (Apêndice 2).

#### 4.6.5 – Necrose focal

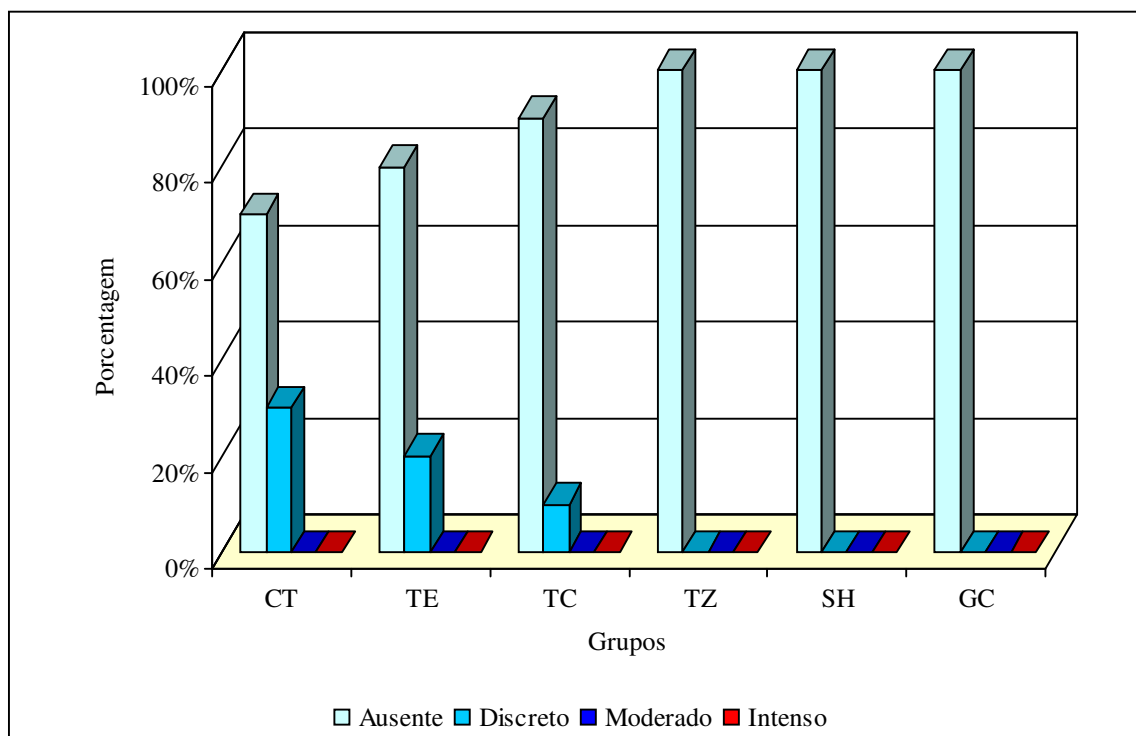
Necrose focal no grau discreto em células musculares foi encontrada em 30% das amostras dos animais do grupo CT, em 20% do grupo TE e em 10% do grupo TC.

Nos demais grupos não foram encontradas alterações compatíveis com necrose.

Também não foram encontradas alterações que pudessem ser classificadas como necrose focal moderada ou intensa (Gráfico 5).

Na comparação da necrose focal encontrada grupo CT com o observado no GC e no grupo SH não houve diferença estatística significativa,  $P > 0,05$  (Tabela 4).

GRÁFICO 5 – PORCENTAGEM DE NECROSE NO GRAU AUSENTE, DISCRETO, MODERADO E INTENSO NAS AMOSTRAS DOS GRUPOS CHOQUE TÉRMICO (CT), TEMPERATURA ELEVADA (TE), TEMPERATURA CORPORAL (TC), TEMPERATURA 0° (TZ), SHAM (SH) E GRUPO CONTROLE (GC)



NOTA: Dados extraídos da tabela: Ocorrência de edema, congestão vascular, extravasamento de hemácias, destruição de mesotélio e necrose focal (Apêndice 2).

TABELA 4 - PORCENTAGEM, CONTAGEM<sup>1</sup> DAS ALTERAÇÕES HISTOPATOLÓGICAS DISTRIBUIDAS POR GRUPO DE ANIMAIS E SIGNIFICÂNCIA ESTATÍSTICA DOS GRUPOS CHOQUE TÉRMICO (CT), TEMPERATURA ELEVADA (TE), TEMPERATURA CORPORAL (TC), TEMPERATURA 0°C (TZ) COMPARADOS COM OS GRUPOS SHAM (SH) E CONTROLE (GC)

		Edema	Congestão vascular	Extravasamento de hemácias	Destruição de Mesotélio	Necrose	
Grupos	CT	Contagem	8	2	0	10	3
		% no grupo	80%	20%	0%	100%	30%
	Sig. SH	0,075	0,147	0,317	1	0,067	
	Sig. GC	*0,028	0,147	1	0,786	0,067	
TE	Contagem	6	3	6	10	2	
		% no grupo	60%	30%	60%	100%	20%
	Sig. SH	0,386	0,68	*0,022	0,383	0,146	
	Sig. GC	0,189	0,68	*0,004	0,302	0,146	
TC	Contagem	3	1	0	10	1	
		% no grupo	30%	10%	0%	100%	10%
	Sig. SH	0,786	0,317	0,317	0,648	0,317	
	Sig. GC	0,888	0,317	1	0,888	0,317	
TZ	Contagem	7	2	0	10	0	
		% no grupo	70%	20%	0%	100%	0%
	Sig. SH	0,112	0,146	0,317	0,383	1	
	Sig. GC	0,054	0,146	1	0,302	1	
SH	Contagem	4	0	1	10	0	
	% no grupo	40%	0%	10%	100%	0%	
GC	Contagem	3	0	0	9	0	
	% no grupo	30%	0%	0%	90%	0%	

\* Diferença estatisticamente significativa, teste de Mann-Whitney.

NOTA: Dados extraídos das tabelas edema, congestão vascular, extravasamento de hemácias e necrose focal (Apêndice 2).

#### 4.5.6 – Espessura do peritônio.

A média, desvio padrão, erro padrão da média, limite inferior e superior do intervalo de confiança de 95%, valor máximo e mínimo da espessura do peritônio, em micra, aferida nas imagens digitalizadas dos cortes histológicos foram semelhantes (Tabela 5).

<sup>1</sup> Nestes cálculos não foram considerados os graus de intensidade das alterações histopatológicas

TABELA 5 – MÉDIA, DESVIO PADRÃO, ERRO PADRÃO DA MÉDIA, LIMITE INFERIOR E SUPERIOR DO INTERVALO DE CONFIANÇA DE 95%, VALOR MÁXIMO E MÍNIMO DA ESPESSURA DO PERITÔNIO, EM  $\mu\text{m}$  AFERIDA NAS IMAGENS DIGITALIZADAS DOS CORTES HISTOLÓGICOS

Grupos	n	Média	Desvio Padrão	Erro Padrão	95% Intervalo de Confiança da Média		Máximo	Mínimo
					Limite superior	Limite inferior		
CT	10	29,26	10,28	3,25	21,91	36,61	18,72	47,93
TE	10	37,60	18,87	5,97	24,10	51,10	20,48	72,83
TC	10	31,17	23,09	7,30	14,65	47,69	16,39	93,37
TZ	10	42,26	18,19	5,75	29,25	55,28	14,01	77,02
HS	10	27,43	6,16	1,95	23,03	31,84	15,32	36,88
GC	10	26,42	9,90	3,13	19,34	33,50	16,73	47,49
Total N	60	32,36	16,01	2,07	28,22	36,49	14,01	93,37

NOTA: Dados extraídos das tabelas das medidas da espessura do peritônio (Apêndice 3).

Não ocorreu diferença estatisticamente significativa na espessura do peritônio, intergrupos e intragrupos, de acordo com a análise das variâncias (ANOVA)  $P = 0,173$  (Tabela 6) e houve homogeneidade entre as médias de acordo com o teste de *Levene* para homocedasticidade  $P = 0,146$  (Tabela 7).

TABELA 6 – ESPESSURA DO PERITÔNIO, EM  $\mu\text{m}$  AFERIDA NAS IMAGENS DIGITALIZADAS DOS CORTES HISTOLÓGICOS. ANOVA

	Soma dos quadrados	gl	Média quadrática	F	Sig.
Intergrupos	1961,490	5	392,298	1,610	0,173
Intragrupos	13155,475	54	243,620		
Total	15116,965	59			

NOTA: Dados extraídos das tabelas das medidas da espessura peritônio (Apêndice 3)

TABELA 7 - ESPESSURA DO PERITÔNIO, EM  $\mu\text{m}$  AFERIDA NAS IMAGENS DIGITALIZADAS DOS CORTES HISTOLÓGICOS. TESTE DE HOMOCEASTICIDADE

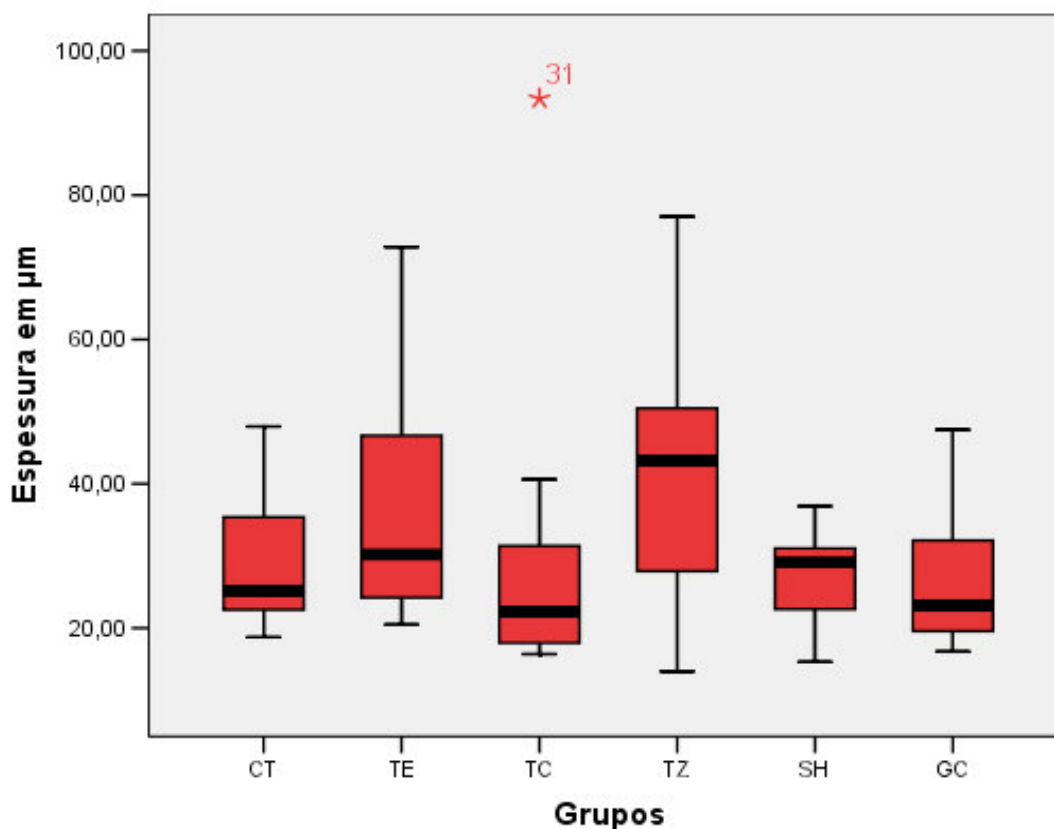
Prova de Levene	Gl	Gl	Sig.
1,719	5	54	0,146

NOTA: Dados extraídos das tabelas das medidas da espessura peritônio (Apêndice 3).

As médias em  $\mu\text{m}$  da espessura do peritônio dos animais de cada grupo agrupados por quartis foram semelhante no grupo CT, TE, TC e GC com maior dispersão no 3º quartil e concentração no 1º quartil, enquanto no grupo SH a maior concentração ocorreu no 3º quartil. No grupo TC foi encontrado um valor discrepante dos demais grupos, 93,37  $\mu\text{m}$ , que foi excluído dos cálculos. Os grupos CT, TE, TC e

GC tiveram enviesamento inferior enquanto que os grupos TZ e SH tiveram enviesamento superior (Gráfico 6).

GRÁFICO 6 – ESPESSURA DO PERITÔNIO DAS AMOSTRAS RETIRADAS DOS GRUPOS CHOQUE TÉRMICO (CT), TEMPERATURA ELEVADA (TE), TEMPERATURA CORPORAL (TC), TEMPERATURA 0°C (TZ,) SHAM (SH) E CONTROLE (GC)



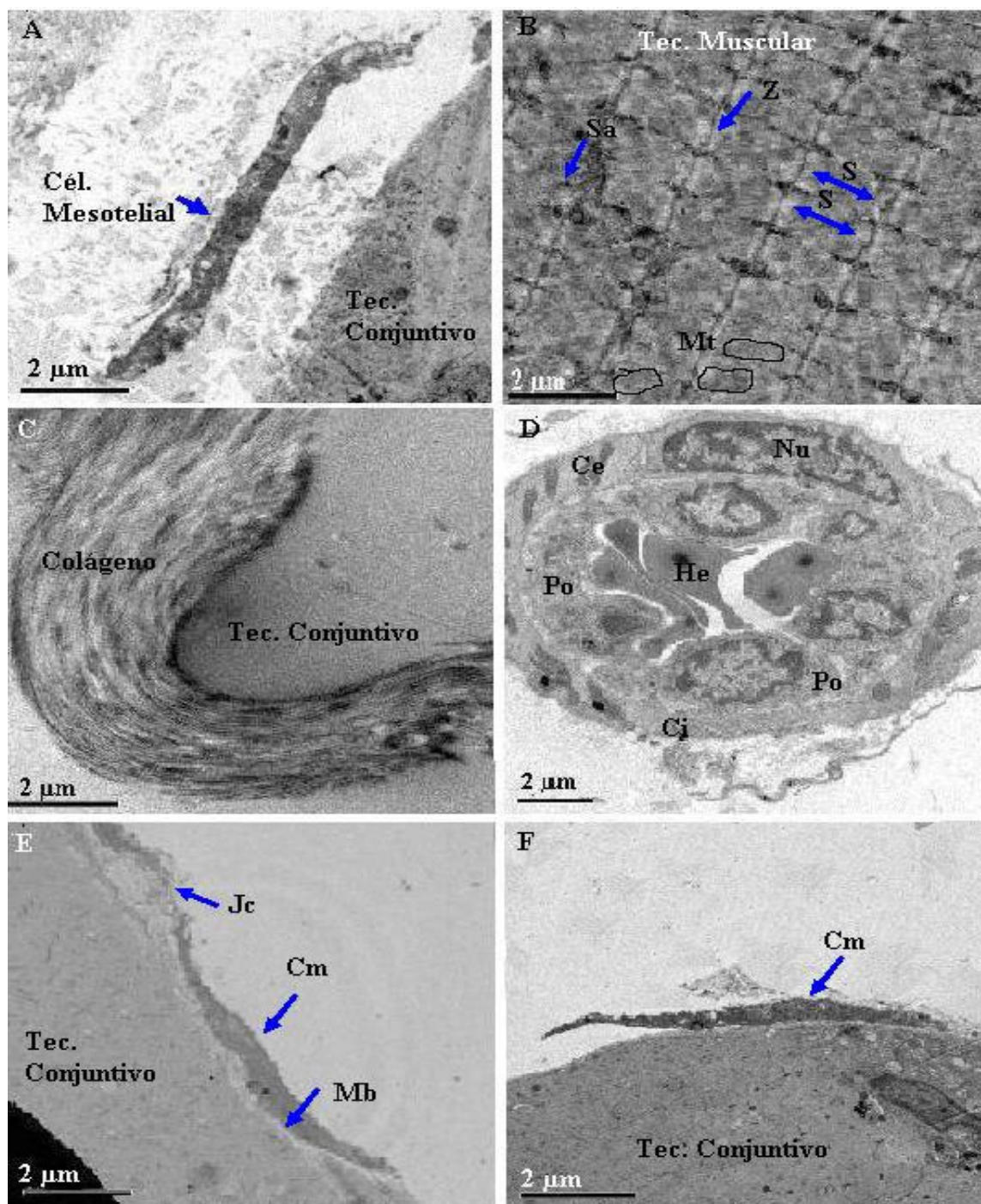
NOTA: Dados extraídos das tabelas das medidas da espessura peritônio (Apêndice 3).

#### 4.6 – MICROSCOPIA ELETRÔNICA

A análise foi limitada à morfologia de células mesoteliais (Figura 12-A) encontradas no tecido conjuntivo, embora as amostras contivessem tecido muscular (12-B), colágeno (12-C), capilares, hemácias, células inflamatórias (12-D).

Nos espécimes retirados do grupo Sham e do grupo Controle foram encontradas células mesoteliais aderidas ao tecido conjuntivo subjacente (Figura 12-E) mais freqüentemente do que nos grupos CT e TE onde elas estavam soltas (Figura 12-A) ou parcialmente descoladas do tecido conjuntivo (Figura, 12-F).

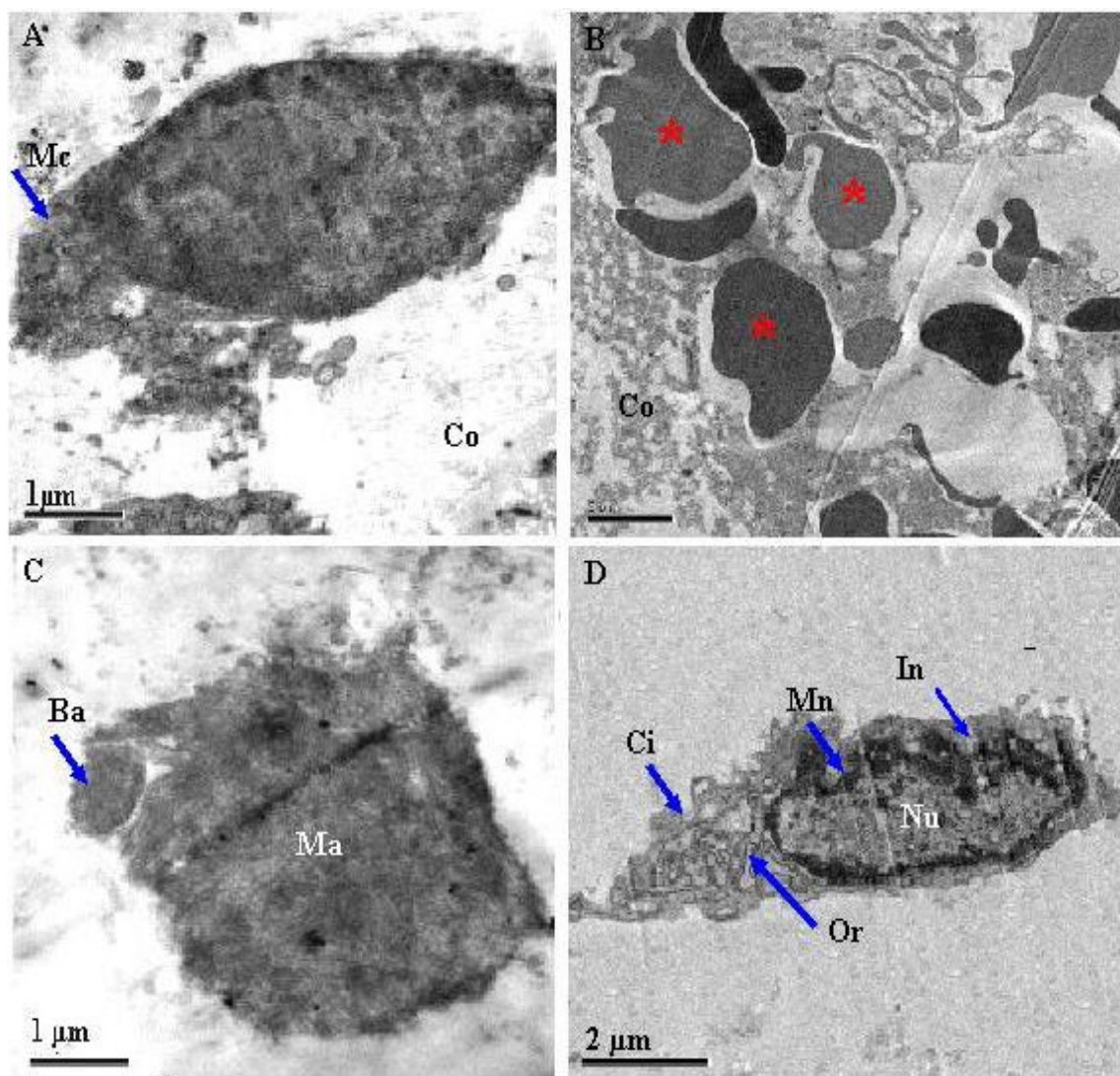
FIGURA 12 – CÉLULA MESOTELIAL PRÓXIMA AO TECIDO CONJUNTIVO, MET 15.000X (A), TECIDO MUSCULAR, MET 20.000K (B), COLÁGENO, MET 15.000X (C), CAPILAR, ENDOTÉLIO, HEMÁCIAS E POLIMORFONUCLEARES MET 10.000X (D), CÉLULA MESOTELIAL ADERIDA AO TECIDO CONJUNTIVO, MET 15.000X (E) E CÉLULA MESOTELIAL PARCIALMENTE SOLTA DO TECIDO CONJUNTIVO, MET 6.000X (F). Sa: SUBSTÂNCIA AMORFA; Z: BANDA Z; S: SARCOMERO; Mt: MITOCÔNDRIA; He: HEMÁCIAS, Po: LEUCÓCIOS; Ce: CÉLULA ENDOTÉLIAL; Nu: NÚCLEO, Cm: CÉLULA MESOTELIAL; Mb: MEMBRANA BASAL; Jc: JUNÇÃO CELULAR





Por outro lado, células com alterações morfológicas e na ultraestrutura como ruptura da membrana com extravasamento do citoplasma e abundantes vacúolos (Figura 13-A), hemácias do lado de fora dos capilares (Figura 13-B) e bactéria fagocitada por macrófago (Figura 13-C) estavam presentes nas amostras do grupo CT, TE e TZ.

FIGURA 13 – CÉLULA MESOTELIAL COM RUPTURA DA MEMBRANA CELULAR E VAZAMENTO DO CONTEÚDO CITOPLASMÁTICO, MET 25.000K (A), HEMÁCIAS DO LADO DE FORA DO CAPILAR, MET 10.000X (B), MACRÓFAGO FAGOCITANDO UMA BACTÉRIA, MET 20.000K (C), CÉLULA MESOTELIAL COM FENDAS NA MEMBRANA NUCLEAR, MET 15.000X (D). Mc: MEMBRANA CELULAR; ASTERÍSCO: HEMÁCIAS; Co: COLÁGENO; Ba: BACTÉRIA; Ma: MACRÓFAGO; Nu: NÚCLEO; Mn: MEMBRANA NUCLEAR; In: INVAGINAÇÕES, FENDAS; Or: ORGANELAS





Nesta análise do peritônio, constituído pelo mesotélio e tecido conjuntivo da zona submesotelial, foram encontradas alterações morfológicas como ruptura da membrana celular e nuclear, extravasamento do citoplasma e hemácias do lado fora dos vasos mais freqüentemente nos grupos CT e TE do que no grupo Controle.

Também foi observado nos espécimes retirados do animal do Grupo CT células mesoteliais com fendas e profundos sulcos na membrana nuclear (Figura 13-D).

#### 4-7 – ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os dados quantitativos como o peso dos animais e a espessura do peritônio, mesotélio e zona submesotelial, com distribuição normal foram submetidos à análise da variância (Tabela 2 e Tabela 5), cujos resultados não apresentaram diferenças estatísticas significantes intergrupos ( $P = 0,104$ ) e intragrupos ( $P = 0,304$ ), mas mostraram que os animais perderam de 3,90 g a 10,73 g (média 8,60 g) do peso entre o dia da operação e o dia da reoperação (Tabela 8).

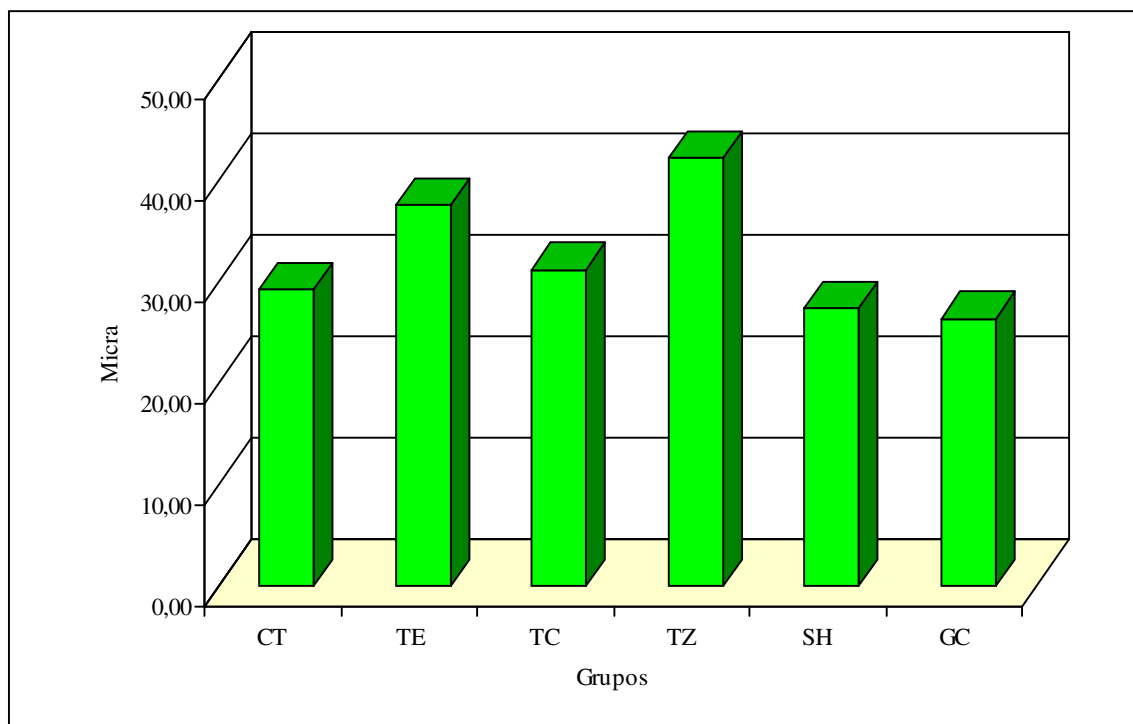
TABELA 8 – PERDA DE PESO E MÉDIAS, EM GRAMAS, DOS PESOS DOS ANIMAIS NO DIA DA OPERAÇÃO E NO DIA DA REOPERAÇÃO

	CT	TE	TC	TZ	SH	GC	Média
Média do peso na operação	383,37	388,39	377,00	391,13	381,62	371,37	382,14
Média do peso na reoperação	376,91	378,53	366,87	380,62	370,88	367,47	373,55
Perda de peso	6,45	9,85	10,13	10,51	10,73	3,90	8,60

NOTA: Dados extraídos das tabelas dos pesos dos animais (Apêndice 1).

Também ocorreu aumento na espessura do peritônio dos animais dos grupos CT (29,26  $\mu\text{m}$ ), TE (37,60  $\mu\text{m}$ ), TC (31,17  $\mu\text{m}$ ) e TZ (42,26  $\mu\text{m}$ ) em comparação com espessura média dos grupos SH (27,46) e GC (26,42) (Gráfico 7).

GRÁFICO 7 – ESPESSURA MÉDIA EM  $\mu\text{m}$  DO PERITÔNIO DAS AMOSTRAS RETIRADAS DOS ANIMAIS DOS GRUPOS CHOQUE TÉRMICO (CT), TEMPERATURA ELEVADA (TE), TEMPERATURA CORPORAL (TC), TEMPERATURA  $0^{\circ}\text{C}$  (TZ), SHAM (SH) E GRUPO CONTROLE (GC)



NOTA: Dados extraídos das tabelas das medidas da espessura do peritônio (Apêndice 3).

As medidas da espessura do peritônio (Tabela 5) das amostras retiradas dos animais do grupo CT e as do grupo SH e GC submetidas à prova de *t* Student de contraste de duas médias não apresentaram significância estatística sendo  $P = 0,637$  e  $P = 0,538$  respectivamente.

Os valores das variáveis categóricas submetidos ao teste não paramétrico de Mann-Whitney (Tabela 4, vide pág. 38) apresentam diferenças estatisticamente significantes na ocorrência de edema no grupo CT comparado como o GC e extravasamento de hemácias no grupo TE comparado com grupo SH e GC com  $P < 0,05$ .

## **5 – DISCUSSÃO**

## 5 – DISCUSSÃO

A lavagem peritoneal é um procedimento freqüentemente empregado no tratamento da peritonite secundária, complicação temerosa que apesar de novas técnicas, melhores conhecimentos da fisiopatologia da doença, uso de antibióticos, de cuidados intensivos na prevenção e no tratamento ainda apresenta alta taxa de mortalidade e permanece como tema atual na literatura (HOLZHEIMER; DRALLE, 2001; VAILLANT; LOPEZ, 2001; PLATELL, 2005).

O tratamento operatório para controle da fonte de contaminação da cavidade peritoneal inclui a lavagem peritoneal, prática adotada pelos cirurgiões abdominais desde 1905 como procedimento essencial para remoção das impurezas e redução da carga bacteriana na cavidade peritoneal (BRUNDELL et al., 2002) que continua sendo utilizada pelos cirurgiões abdominais apesar de poucas evidências clínicas.

A eficácia e os efeitos da utilização em irrigações peritoneais da solução de NaCl a 0,9% associada ou não a outras substâncias são freqüentemente documentados, mas foi constatado na revisão bibliográfica que são escassas as pesquisas sobre possíveis alterações histopatológicas que o choque térmico provocado pela temperatura dessas soluções produziria no peritônio, mesotélio, zona submesotelial, e mesmo nas células musculares da parede abdominal

Como não se encontrou na literatura um modelo experimental que reproduzisse o que se faz na prática clínica e atendesse aos objetivos do presente estudo foi idealizado este modelo experimental e realizado estudo piloto com ratos que comprovou ser o experimento viável e exequível.

O *Rattus norvegicus*, linhagem Wistar, foi escolhido para animal experimental por ser resistente, anatomia bem conhecida, ter pequeno porte facilitando a manipulação e anestesia, e ser modelo experimental utilizado em pesquisas semelhantes favorecendo a comparação de resultados (AYALA, 1989; OLIVEIRA, 1995; SILVA, D. et al., 1996; MOLLA NETO et al., 2000; SILVA, A. et al., 2001).

No estudo piloto 60% dos ratos expostos a lavagens peritoneais com solução NaCl a 0,9% a temperatura 60°C morreram nas primeiras 24 horas e não houve óbitos quando as irrigações foram realizadas com a solução a temperatura menor ou igual a 50°C. Resultado semelhante ao obtido por Silva, A. et al., (2001) que encontrou taxa de mortalidade de 66% quando utilizou soluções de NaCl a 0,9% à 60°C para lavagem peritoneal durante 1 min e não observou óbito entre os animais quando a temperatura da solução foi 45°C.

No presente estudo foi utilizada solução de NaCl a 0,9% na temperatura máxima de 50°C para evitar a alta taxa de mortalidade observada quando se utiliza a solução em temperatura mais alta.

A temperatura mínima da solução de NaCl a 0,9% entre 0°C e 2°C foi adotada por ser esta a utilizada na prática cirúrgica para produzir choque térmico, processo avaliado neste estudo.

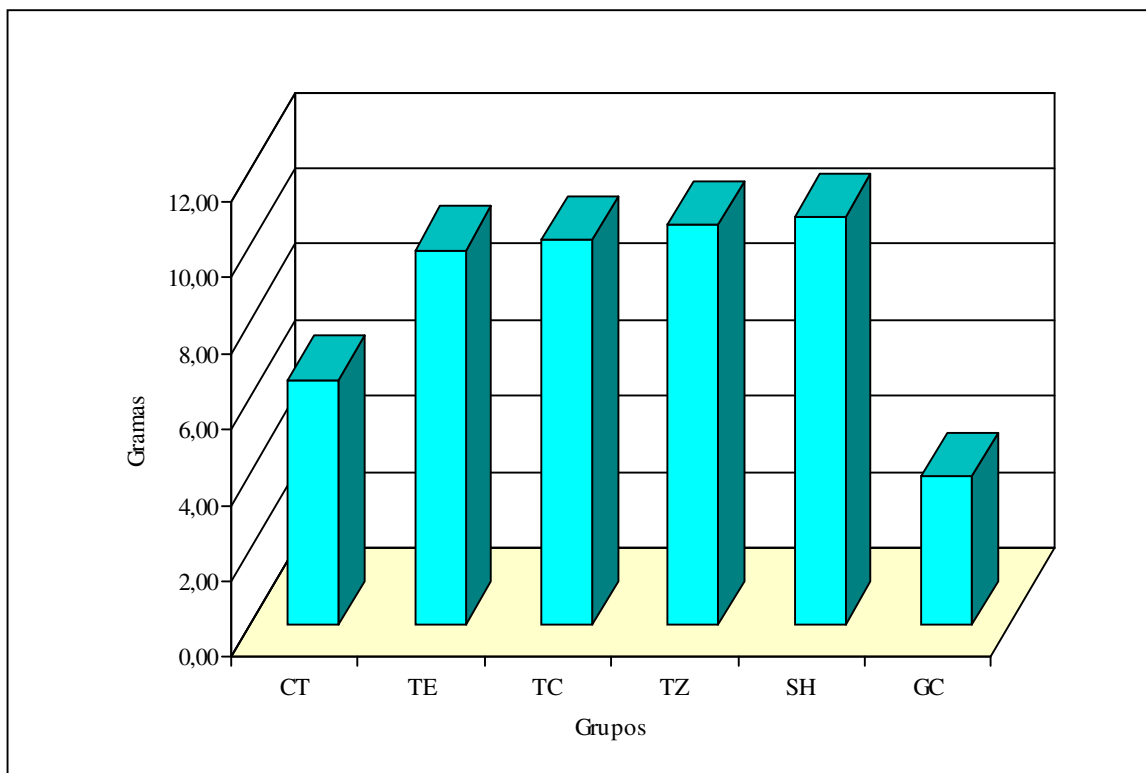
A lavagem peritoneal com solução NaCl 0,9% a 50°C durante 1 min seguida de outra lavagem com a solução na temperatura entre 0°C e 2°C durante igual tempo é semelhante ao processo relatado por Name em 1991 para tratamento da peritonite difusa que consiste na irrigação da cavidade peritoneal com solução de NaCl 0,9% na temperatura entre 48°C e 50°C durante 20 min seguida, imediatamente, durante cinco a dez min, de lavagem com solução NaCl a 0,9% na temperatura entre 0°C e 2°C (NAME, 1991) e diferente dos processos estudados que não recomendam a realização do resfriamento imediato com solução de NaCl a 0,9% a temperatura entre 0°C e 2°C (TÖTH et al., 1992; SILVA, D. et al., 1996; MOLLA NETO et al., 2000; SILVA, A. et al., 2001) para provocar choque térmico na cavidade peritoneal.

Durante o procedimento cirúrgico a exposição da cavidade peritoneal utilizando a armação de alumínio (Figura 2A) promoveu a abertura e imobilização da ferida operatória (Figura 2B) permitindo irrigação peritoneal com segurança evitando posições diferentes dos animais operados. Esta técnica evitou transbordamento da solução de NaCl a 0,9% como ocorre quando as bordas da ferida são presas com

pinças de Halsted e apresentadas pelo auxiliar que dificilmente mantêm-se imóvel enquanto o cirurgião verte a solução de NaCl a 0,9% dentro da cavidade peritoneal e principalmente durante os tempos de exposição provocando um viés que poderia falsear os resultados e causar complicações como ruptura de tecidos por tração excessiva.

A diminuição do peso médio dos animais do dia da operação para o dia da reoperação não apresentou diferença estatística significativa e correspondeu entre 1% a 3% do peso corporal, mas comparando as perdas de pesos entre os grupos percebeu-se que os grupos SH e TZ foram os que mais perderam peso, média de 10,73g e 10,51g respectivamente (Gráfico 8).

GRÁFICO 8 – PERDA DE PESO, EM GRAMAS, DOS ANIMAIS DO DIA DA OPERAÇÃO ATÉ O DIA DA REOPERAÇÃO POR GRUPO; CHOQUE TÉRMICO (CT), TEMPERATURA ELEVADA (TE), TEMPERATURA CORPORAL (TC), TEMPERATURA 0° (TZ), SHAM (SH) E GRUPO CONTROLE (GC)



NOTA: Dados extraídos das tabelas de pesos dos animais (Apêndice 1).

Complicações no pós-operatório imediato como diarreia, distensão abdominal, aderências e deiscência da sutura da ferida operatória aconteceram, mas não comprometeram a realização do estudo.

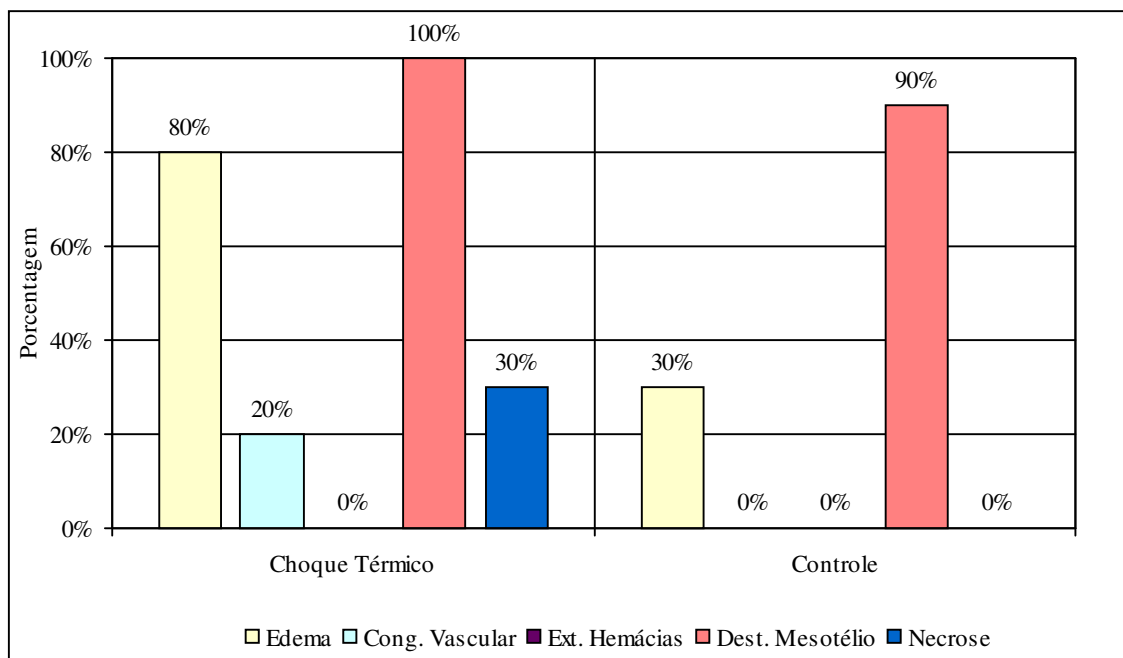
Foi observado macroscopicamente que ao preencher a cavidade peritoneal com solução de NaCl 0,9% à temperatura de 50°C ocorria dilatação dos vasos subserosos das alças intestinais e quando foi utilizada solução à temperatura entre 0°C e 2°C ocorreu contração destes vasos diminuindo-lhes os calibres que se tornavam menores quando comparados com o aspecto macroscópico da vascularização antes das irrigações.

Resultado semelhante, hiperemia intensa, foi documentado por Silva, D. et al., (1996) quando utilizou a infusão intraperitoneal de 20 ml NaCl a 0,9% a 38°C através de cateter inserido na fossa ilíaca esquerda de ratos que era mantido fechado durante 5 min.

As alterações histopatológicas edema, congestão vascular, extravasamento de hemácias, destruição do mesotélio e necrose focal de células musculares observadas na microscopia de luz caracterizam agressão celular (KUMAR, et al., 2005), porém a intensidade da agressão foi insuficiente para produzir a morte de animais o que já era esperado quando se optou por usar de solução de NaCl a 0,9% em temperatura máxima 50<sup>a</sup> C que não causa morte como verificado no projeto piloto e por Silva, A. et al., (2001).

Quando as alterações histopatológicas encontradas no grupo tratado, CT, foram comparadas com as observadas nos grupos GC constatou-se diferença estatisticamente significativa quanto a variável edema e diferença não significativa para congestão, para extravasamento de hemácias, para destruição de mesotélio e para necrose focal de células musculares (Gráfico 9).

GRÁFICO 9 – COMPARAÇÃO DA OCORRÊNCIA DE EDEMA, CONGESTÃO VASCULAR, EXTRAVASAMENTO DE HEMÁCIAS, DESTRUIÇÃO DO MESOTÉLIO E NECROSE FOCAL DE CÉLULAS MUSCULARES ENTRE GRUPOS CHOQUE TÉRMICO (CT) E O GRUPO CONTROLE (GC)



NOTA: Dados extraídos da tabela: Ocorrência de edema, congestão vascular, extravasamento de hemácias, destruição de mesotélio e necrose focal (Apêndice 2).

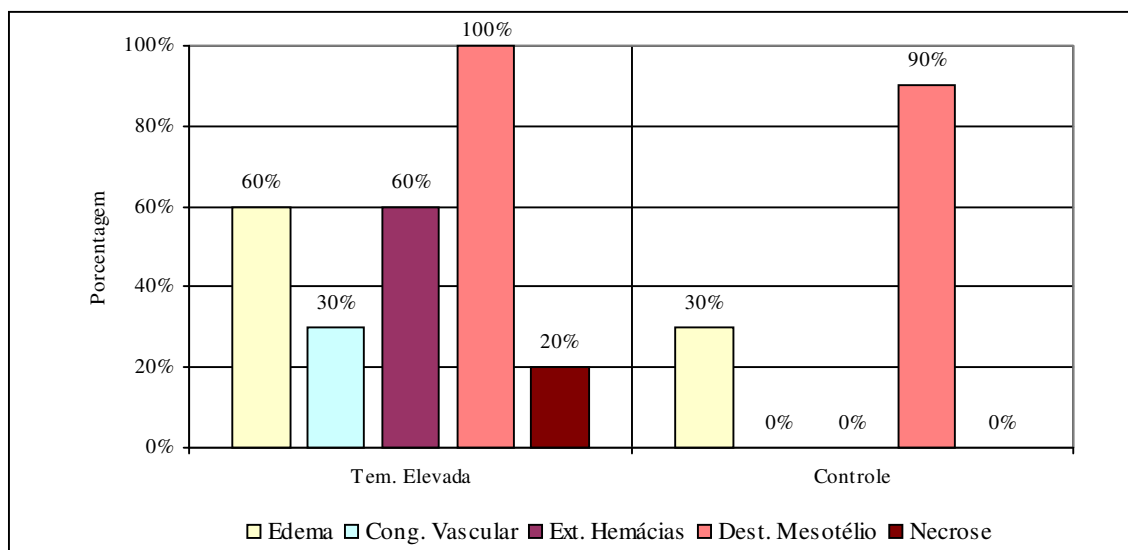
Analisando a incidência de edema, congestão vascular, extravasamento de hemácias, destruição de mesotélio e necrose focal encontrada nos grupos TE, TC e TZ juntamente com as observadas nos grupos SH e GC não houve diferença estatisticamente significativa exceto a diferença de incidência de extravasamento de hemácias no grupo TE que foi significativa em relação ao SH e em relação GC.

A destruição ou perda do mesotélio em 100% das amostras de todos os grupos exceto no GC que foi de 90% semelhante ao que ocorreu com Silva, A. et al (2001) não pode ser imputada exclusivamente às irrigações da cavidade peritoneal com solução de NaCl a 0,9% mas também a dificuldade técnica para conservar as células mesoteliais do peritônio.

Por outro lado comparando as alterações histopatológicas encontradas no grupo TE com o GC (Gráfico 10) e com o grupo CT (Gráfico 11) estas foram mais frequentes no grupo de TE que no grupo do Choque Térmico.

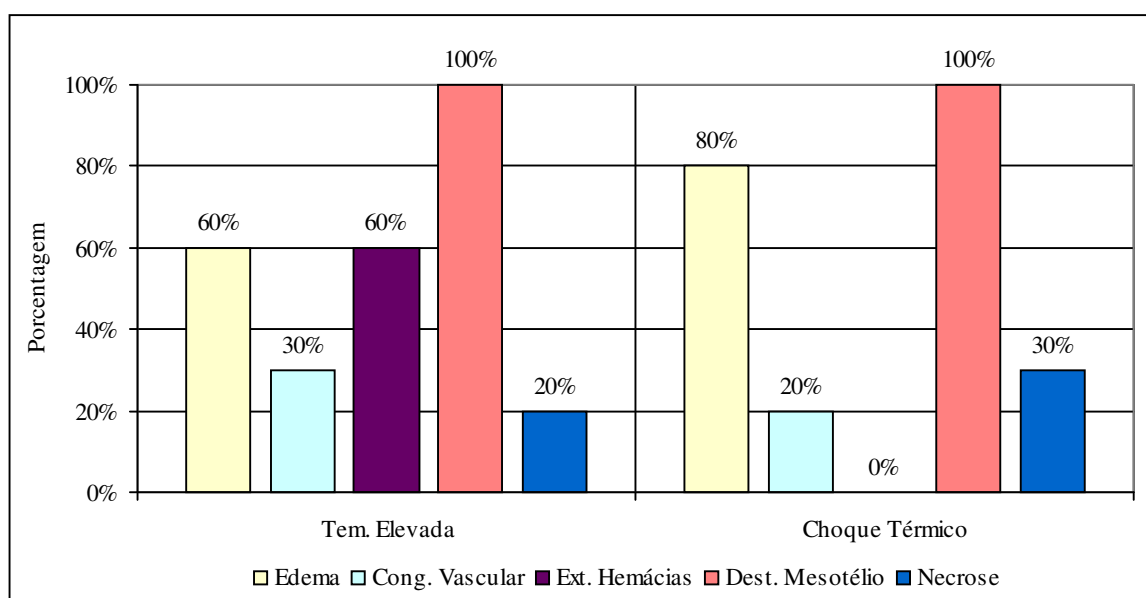


GRÁFICO 10 – COMPARAÇÃO NA OCORRÊNCIA DE EDEMA, CONGESTÃO VASCULAR, EXTRAVASAMENTO DE HEMÁCIAS, DESTRUIÇÃO DO MESOTÉLIO E NECROSE ENTRE OS GRUPOS TEMPERATURA ELEVADA (TE) E GRUPO CONTROLE (GC)



NOTA: Dados extraídos da tabela: Ocorrência de edema, congestão vascular, extravasamento de hemácias, destruição de mesotélio e necrose focal (Apêndice 2).

GRÁFICO 11 – COMPARAÇÃO NA OCORRÊNCIA DE EDEMA, CONGESTÃO VASCULAR, EXTRAVASAMENTO DE HEMÁCIAS, DESTRUIÇÃO DO MESOTÉLIO E NECROSE ENTRE OS GRUPOS TEMPERATURA ELEVADA (TE) E CHOQUE TÉRMICO (CT)



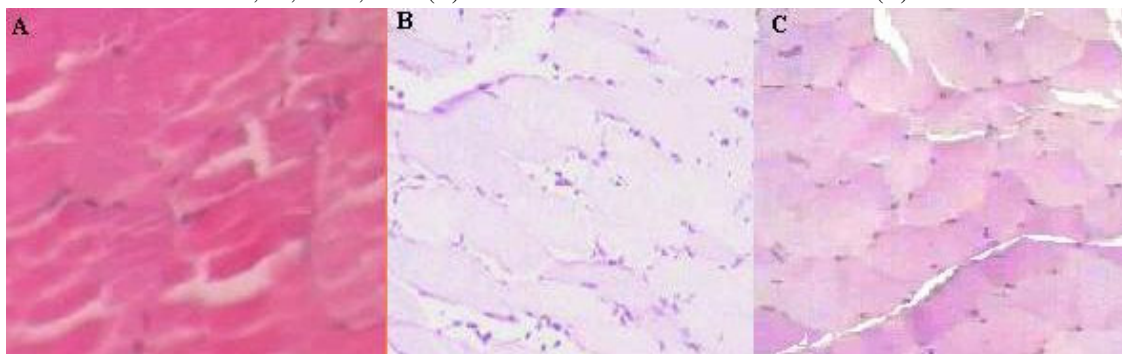
NOTA: Dados extraídos da tabela: Ocorrência de edema, congestão vascular, extravasamento de hemácias, destruição de mesotélio e necrose focal (Apêndice 2).

O peritônio consiste de uma camada monocelular de células planas e alongadas de 2,5  $\mu\text{m}$  a 3  $\mu\text{m}$  sobre uma membrana basal e uma camada de tecido conjuntivo contendo células, vasos sanguíneos, vasos linfáticos, fibras nervosas imersas na matriz do tecido conjuntivo (MICHAILOVA, et al., 1999; Di PAOLO; SACCHI, 2000) e dele se desprende com facilidade mesmo com esmerados cuidados durante a coleta da amostra.

Normalmente “o peritônio é muito fino, medindo 30  $\mu\text{m}$  a 40  $\mu\text{m}$  no grande omento e um pouco menos quando diafragmático, parietal e visceral” (Di PAOLO; SACCHI, 2000) e está sobre a camada muscular mais profundamente sendo, portanto a primeira barreira anatômica sujeita a alterações morfológicas provocadas por estímulos nocivos.

Alterações histopatológicas observadas em células musculares da parede anterolateral da cavidade peritoneal dos animais dos grupos CT, TE e TZ sugestivas de degeneração e necrose como perda das estriações, vacuolização citoplasmática e aspecto amorfo do tecido foram semelhantes as encontrados por Silva, A. et al., (2001) e não foram encontradas nas amostras dos animais do GC (Figura 14).

FIGURA 14 – ALTERAÇÕES HISTOLÓGICAS SUGESTIVAS DE DEGENERAÇÃO E NECROSE ENCONTRADAS NO GRUPO CT (A), SEMELHANTES ÀS ENCONTRADAS POR SILVA, A., et al., 2001 (B) NÃO OBSERVADAS NO GRUPO GC (C)



NOTA: Figura 14-B reproduzida com permissão do Prof.º Alcino Lázaro da Silva (Anexo2).

A espessura do peritônio, mesotélio e da zona submesotelial, é de 30  $\mu\text{m}$  a 40  $\mu\text{m}$  (Di PAOLO; SACCHI, 2000) podendo aumentar e ultrapassar a 300  $\mu\text{m}$  após peritonites secundárias a diálises peritoneais e em ratos quando a cavidade peritoneal é exposta a agente biológico (MARGETTS, et al., 2002).

Embora o estímulo ao peritônio neste estudo tenha sido um agente físico, Choque Térmico, também ocorreu aumento na média ( $\bar{x}$ ) da espessura do peritônio, mesotélio e zona submesotelial, principalmente no grupo TE,  $\bar{x} = 37,60 \mu\text{m}$  e TZ,  $\bar{x} = 42,26 \mu\text{m}$ , em relação ao GC  $\bar{x} = 26,42 \mu\text{m}$  (Tabela 9).

O aumento da espessura do peritônio foi causado principalmente por edema e foi menor do que aquele observado quando o peritônio foi exposto a agente biológico que produz aumento da espessura do peritônio pelo aumento da celularidade, como aconteceu na pesquisa realizado por Margetts et al., (2002) que injetou AdIL-70 (Adenovirus Interleucina Inócua – controle) e AdIL-1 $\beta$  (Adenovirus Interleucina B) intraperitoneal.

Outra peculiaridade observada foi a espessura do peritônio do grupo tratado CT,  $\bar{x} = 29,26 \mu\text{m}$ , ter sido menor que a dos grupos TE e TZ sugerindo que a exposição da cavidade peritoneal a solução de NaCl 0,9% a temperatura entre 0°C e 2°C imediatamente após irrigação com solução a 50°C não teve efeito acumulativo na média da espessura (TE+TZ), mas ao contrário, a média da espessura em micrometros foi menor que aquela verificada quando a irrigação foi apenas com solução de NaCl a 0,9% a temperatura 50°C, grupo TE, ou entre 0°C e 2°C, grupo TZ.

As alterações morfológicas e a ultraestrutura celular observadas na MET como ruptura da membrana celular, extravasamento do citoplasma, vacuolização e degeneração de núcleos celulares nas amostras dos diferentes grupos foram analisadas e comparadas documentando que no GC a arquitetura celular mesotelial estava mais preservada que no grupo Choque Térmico corroborando os achados na ML.

## **6 – CONCLUSÃO**

## **6 – CONCLUSÃO**

Nas condições em que foi realizado o presente estudo o choque térmico não causou morte dos animais, porém promoveu maior intensidade de edema sem alterar outros indicadores histopatológicos.

## **REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

## 7 – REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS<sup>1,2</sup>

AGUILAR-NASCIMENTO, J. E. de; SOARES, T. Y.; SILVEIRA, B. R. P.; SILVA, M. R. N. da; CAPOROSI, C. Influência da lavagem da cavidade peritoneal com glicose hipertônica a 10% na cicatrização por segunda intenção do colo em vigência de peritonite fecal: Estudo experimental em ratos. **Acta Cirúrgica Brasileira**, São Paulo, v.7, n.1, p. 17-20, jan-mar., 1992.

AYALA, L. A. Lavado peritoneal como solución salina vs yodopovidona en peritonitis experimental. In: Patino, J. F. **Infección Quirúrgica**. Centro Medico de los Andes. Bogotá, 1989. p. 191-198.

ARETXABALA, XAVIER de; YONEMURA, Y; FUJIMURA, T; URADA, F; HASEGAWA, H; MIWA, K; MIYAZAKI, I. Hipertermia peritoneal en la prevención de recurrencia peritoneal debida a cáncer gástrico. **Revista Chilena Cirugía**, Santiago, v. 41, n. 3, p. 262-264, 1989.

BAREKZI, N. A.; POELSTRA, K. A.; FELTS, A. G.; ROJAS, I. A.; SLUNT, J. B.; GRAINGER, D. W. Efficacy of locally delivered polyclonal immunoglobulin against *Pseudomonas aeruginosa* peritonitis in murine model. **Antimicrob Agents Chemother**, Virgínia, v. 43, n. 7, p. 1609-1615, July 1999.

BONDAR, V. M.; RAGO, C.; COLTONE, F. J.; WILKERSON, D. K.; RIGGS, J.; Chlorhexidine lavage in the treatment of experimental intra-abdominal infection. **Archives of Surgery**, Chicago, v. 135, n. 3, p. 309-314, mar. 2000.

BORDENAVE, G. Review: on the shoulders of giants Louis Pasteur (1822-1895). **Microbes and Infection**, Paris, v. 5, p. 553-560, 2003.

BRUNDELL, S. M.; TUCKER, K.; CHATTERTON, B.; HEWETT, P. J. The effect of lavage intraabdominal cell burden. **Surgical Endoscopy**. New York, v. 16, p. 1064-1067. 2002

\_\_\_\_\_. Influence of lavage timing cell burden during colonic resection. **Dis Colon Rectum**, Adelaide, v. 46, n. 4, p. 460-466, 2003.

BURNETT, W. E.; BROWN Jr., G.R.; ROSEMOND, G. P.; CASWELL, H. T.; BUCHOR, R. B.; TYSON, R.R. The treatment of peritonitis using peritoneal lavage. **Annals of surgery**, Philadelphia, v. 145, n. 5, p. 675-682, 1957.

BUSCH, W. Über den einfluss wlchen heftigere erysiplein zuweilen auf organisierete neubuildungem ausüben. **Vertt Naturhist Preuss Rehin Wesjal**, Bonn, v. 23, 28-30, 1866.

CONDON, R. E.; MALANGONI, A. M. Peritonite e abscessos intra-abdominais. In: SCHWARTZ, S. I.; SHIRES, T. G.; SPENCER, F. C.; STORER, E. H. (Editores). **Princípios de Cirurgia**. 4ª ed. v. 2. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1988, p 1559-1560.

DEBRÉ, P. A O laboratóiro de Arbois. In: **Pasteur**. São Paulo. Ed. Scritta. 1995. p. 257-261.

<sup>1</sup> ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **NBR 6023**: Informação e documentação – Referências – Elaboração. Rio de Janeiro, 2002.

<sup>2</sup> \_\_\_\_\_. **NBR**: 10520: Informação e documentação – Citações em documentos - Apresentação. Rio de Janeiro, 2002.

Di PAOLO, N.; SACCHI, G. Atlas of peritoneal histology. **Peritoneal Dialysis International**, v. 20 Suppl 3; p. 9-26. 2000. Disponível em: <<http://www.multi-med.com/pdigifs/pdi20s3/normal01.htm>>. acesso em: 21 de maio de 2006.

FONSECA, J. M. L.; RIBEIRO, S. P. Efeitos protetores do choque térmico e na sepse na síndrome da resposta inflamatória sistêmica. **Revista do Hospital de Clínicas de Porto Alegre e Faculdade de Medicina da Universidade Federal do Rio Grande do Sul**, Porto Alegre, v. 19, n. 3, p. 396-406, 1999.

HERNANDEZ, Y. M. V.; VALZ, H. A. M. Sepsis Intrabdominal: Manejo Quirúrgico. **Revista Gastroenterologia del Perú**, Lima, v. 15, n.1, p. 62-73, 1995.

HOLZHEIMER, R. G.; DRALLE, H. Paradigm change in 30 years peritonitis treatment – A review on source control. **European Journal of Medical Research**, Munich., v. 6, p. 161-168, 2001.

HUTCHINS, R.R.; GUNNING, M. P.; LUCAS, D. N.; ALLEN-MERSH, T. G.; SONI, N. C; Relaparotomy for suspected intraperitoneal sepsis after abdominal surgery. **World Journal Surgery**. v. 28, n. 2, p.137- 141, 2004.

KUMAR, V.; ABBAS, A.K.; FAUSTO, N. Revisão de lesão e morte. In: \_\_\_\_\_. (Editores). **Patologia – Bases Patológicas da Doenças**. 7º ed. Rio de Janeiro: Elsevier Editora Ltda., 2005. p. 11-16.

KLEIN, Y.; HAIDER, H.; MCKENNEY, M. G.; COHN, S.M. Diagnostic peritoneal lavage thorough an abdominal stab wound. **American Journal of Emergency Medicine**, Philadelphia, v. 21, n. 7, p. 559-560, 2003.

MAINGOT, R. Acute Peritonitis. In: \_\_\_\_\_. **Abdominal Operations**. 6º ed. v. 2. New York: Appleton-Century Crofts, 1974. p. 1416.

MALANGONI, M. A. Contributions to the management of intraabdominal infections. **The American Journal of Surgery**, New York, v. 190, p. 255-259, 2005.

MARGETTS, P. J.; KOLB, M.; YU, L.; HOLF, C. M.; HOLMES, C. J.; ANTHONY, D. C.; GAULDIE, J. Animal Model. Inflammatory Cytokines, Angiogenesis, and Fibrosis in the Rat Peritoneum. **American Journal of Pathology**, New York, v. 160, n. 6, p. 2265-2294, 2002.

MEYER, T. N.; SILVA A. L. Resposta celular ao estresse. **WebMédicos**. 1999. Disponível em :<<http://www.webmedicos.com.br/busca.asp?busca=estresse&Submit=ok>> (Belo Horizonte). Acesso em: 15 agosto de 2006. (Trabalho realizado no curso de pós-graduação em cirurgia. UFMG).

MICHAILOVA, K; WASSILEV, W; WEDEL, T. Scanning and transmission microscopic study of visceral and parietal peritoneal regions in the rat. **Annals of Anatomy**, Jena, v. 181, n. 3, p. 253-260. 1999.

MOLLA NETO, O. L. de; SILVA, R.A.; PACHECO Jr., A. M. Influência da irrigação intraperitoneal de solução salina em diferentes temperaturas na formação de aderências e prevenção de hipotermia após peneumoperitônio em ratos. **Revista do Colégio Brasileiro de Cirurgões**, Rio de Janeiro, v. 27, n. 2, p. 85-89, mar-abr., 2000.

MUNSOM, J. L. Tratamento da sepse intra-abdominal. **Clínicas Cirúrgicas da América do Norte**, Rio de Janeiro, v. 6, p. 1253-1263.1991.



NAME, J. E. Choque térmico e osmolar nas peritonites. **Revista de Saúde do Distrito Federal**, Brasília, v. 2 n. 4, p. 249-250, 1991.

NATHENS, A. B.; ROTSTEIN, O. D. Opções terapêuticas na peritonite. **Clínicas Cirúrgicas da América do Norte**, Rio de Janeiro, v. 3, p. 729-745, 1994.

NOON, G. P.; BEALL, A.C. Jr.; JORDAN, G. L. Jr.; RIGGS, S.; DeBAKEY, M. E. Clinical evaluation of peritoneal irrigation with antibiotic solution. **Surgery**, St. Louis, v. 62 n.1 p.73-78, July 1967.

NOVER, L. 125 years of experimental heat shock research: historical roots of a discipline. **Genome** (Canadian journal of genetics and cytology), Ottawa, v. 31, p. 668-670, 1989.

NYSTRÖM, P.O.; JOHANSSON, L.; SKAUT, T.; LENNQVIST S. Intra-operative irrigation of the peritoneal cavity with ampicillin in experimental posttraumatic peritonitis. **Acta Chirurgica Scandinavica**, Stockholm, v. 150, n. 1, p. 45-49, 1984.

OLIVEIRA, P. G. de. **Efeitos da peritonite por Cândida Albicans na cicatrização de anastomoses colônicas: Estudo experimental em ratos**. 1995. 120 f. Tese de doutorado (Doutor em Medicina). Departamento de Cirurgia, Ortopedia e Traumatologia. Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto. Universidade de São Paulo. Ribeirão Preto, 1995.

PLATELL, C.; PAPADIMITRIOU, J. M.; HAIL, J. C. The Influence of lavage on peritonitis. **Journal of the American College Surgeons**, Chicago, 191, n. 6, p. 672-680, dez. 2000.

\_\_\_\_. The role of peritoneal lavage. **ANZ Journal of Surgery**, Carlton, v. 75 (supplement) A45, may, 2005.

PRICE, J. Surgical intervention in cases of general peritonitis from typhoid fever and acute gonococcus infection. **American Medicine**, New York, v.9, p.769, 1905.

ROCHA, J.J. R. da; APRILLI, F.; SANTOS, J. C. M, JR.; GUIMARÃES, A. S.; Tratamento da peritonite generalizada grave – Trabalho experimental em cobaias. **Revista do Colégio Brasileiro de Cirurgiões**, Rio de Janeiro, v. 13, n. 5, p.218-223, 1986.

ROSSI, C. R.; DARACO, M.; De SIMONE, M.; MOCELLIN, S.; PLLATI, P.; FOLETTI, M.; CAVALIERE, F.; KUSAMURA, S.; GRONCHI, A.; LISE, M. Hyperthermic intraperitoneal intraoperative chemotherapy after cytoreductive surgery for the treatment of abdominal sarcomatosis: clinical outcome and prognostic factors in 60 consecutive patients. **Cancer cytopathology**, Philadelphia, v. 100, n. 9, p. 1943-1950, 2004.

SACHS, J. Über die obere.. Temperatur-Grenze der Vegetatio. **Flora**, Regensbur, v.47, p.5-12, 33-39, 1864.

SAHA, S. K. Efficacy of Metronidazole Lavage in Treatment of Intraperitoneal Sepsis. A prospective study. **Digestive Diseases and Sciences**.[S.I.] v. 41, n. 7, p. 1313-1318. 1996

SALDIVIA, C. M.; ALEJOS, R.; HADDAD, G. R. Peritonitis experimental en ratas y evaluación del tratamiento con lavado peritoneal y antibiótico terapia tópica. **Revista Venezolana de Cirugía**, Caracas, v. 53, n 2, p. 48-5, 2000.

SANABRIA, A. Controvérsias frente al lavado peritoneal y el uso de antibióticos em peritonitis. Revisión sistemática de la literatura. **Revista Colombiana de Cirurgia**, Bogota, (versão impressa e *on line*) v.18, n. 2, abril/jun, 2003. Disponível em <<http://www.encolombia.com/medicina/cirurgia/cirurgia18203-controversias.htm>> acessado em 11 de janeiro de 2006.

SCHWARTZ, M. The life and works of Louis Pasteur. **Journal of Applied Microbiology. Oxford**, v. 91, p. 597-601, 2001.

SERAFINI, A. B.; ANDRÉ, M. C. D. P. B.; RODRIGUES, M. A. V.; KIPNIS, A., CARVALHO, C. O.; CAMPOS, M. R. H.; MONTEIRO, E. C.; JUBÉ, T. F. N. Qualidade microbiológica de leite humano obtido em banco de leite. **Revista de Saúde Pública**, São Paulo, v. 37, n. 6, p.775-779, dez. 2003.

SILVA, A. L. da; SALLES, P.G.O.; MIRANDA, E. S.; BIET, R.; VELOSO, S. G.; CARMO, A. A. L. do. Efeito histológico causado na parede posterior da cavidade abdominal pela lavagem com solução salina 0,9% aquecida a diferentes temperaturas: Estudo experimental em ratos. **Acta Cirúrgica Brasileira**, São Paulo, v. 16, n.1, p. 52-55, jan-mar., 2001.

SILVA, D. F. da; HAGA, E.; HASHIMOTO, A.; SUCCI, G. M.; MITSUE, A.; TSUNEMATSU, E.; MAGALHÃES, H. P. de; Análise dos efeitos da lavagem peritoneal com soro fisiológico a 0,9% a 38° C sobre o peritônio de ratos sadios. **Revista de Medicina (São Paulo)**, São Paulo, v. 75, n.4, p. 232-241, 1996.

SINDELAR, W. F.; BROWER, S.T.; MERKEL, A. B.; TAKESUE, E. I. Randomized trial of intraperitoneal irrigation with low molecular weight povidone-iodine solution to reduce intra-abdominal infectious complications. **Journal of Hospital Infection**, Londres, v. 6, Supp A, p. 103-114, Mar., 1985.

SRIUSSADAPOM, S.; PAK-ART, M. P.; PHADUNGWIDTHAYAKOM, Y. W.; LABCHITKUSOL, T. Clinical uses of diagnostic peritoneal lavage in stab wounds of the anterior abdomen: A prospective Study. **European Journal of Surgery**, Stockholm, v. 168, p. 490-493, 2002.

SUMMERS, W. C.; Louis Pasteur. By Patrice Debre. Transted by Elborg Forster. Baltimore, Johns Hopkins University Press, 1998. **New England Journal of Medicine**, Massachusetts, v. 341, n. 23. p. 1777, Dez. 2, 1999.

THOROUGHMAN, J.C.; WALKER, JR.; COLLINS, J.. Spreading organisms by peritoneal lavage. **American Journal of Surgery**, New York, v. 115, n. 3, p. 339-340, 1968.

TOREK, F. A. M. The treatment of diffuse suppurative peritonitis following appendicitis. **Medical Records**, New York, v.70, p. 849-858, dez.,1906.

TORRES, O. J. M.; MACEDO, E. L.; MELO, T. C. M. de; COSTA, J. V. G.; NUNES, P. M. S.; VIANA, R. M. M. de; DIETZ, U. A. Peritonite fecal em ratos: Eficácia da lavagem da cavidade abdominal com solução de cloreto de sódio a 0,9%. **Acta Cirúrgica Brasileira**, São Paulo, v. 14, n.2, p. 65-68, abr-jun., 1999.

TÖTH, T.; FENYVESI, A.; KLEMM, I. The effects of local hyperthermia on the morphology of the small bowel. **Acta physiologica hungarica. Budapest**, v. 80, n. 1-4, p 293-30, 1992.

TRAMONTE, R.; CARVALHO, R. O. M.; FARIAS, D. C. de; SERAFIN, J. D. M.; ORTELLADO, D. K.; d'ACAMPORA, A. J. Alterações da mucosa intestinal em ratos. estudo morfométrico em três diferentes tratamentos após indução experimental de sepsis abdominal aguda. **Acta Cirúrgica Brasileira**, São Paulo, v.19, n..2, p.120-125. Mar./Apr., 2004.

VAILLANT, T. A. L.; LOPEZ, E. L. Morbilidad y mortalidad por peritonitis bacteriana secundaria. **Revista Cubana de Medicina Militar**, Havana, v. 30, n. 3, p. 145-150, 2001.

WANG, Z.; JIN, H.; LUO, Z.; XIE, S.; HU, S.; LIU, X.; WU, Y. Effect of peritoneal lavage with povidone-iodine on prevention of postoperative sepsis after exposure of peritoneal cavity to

sea water rat(Resumo). **Chinese Critical Care Medicine**, v. 16, n. 2, p. (Abstract) 103-105, 2004

WHITESIDE, O. J.; TYTHERLEIGH, M. G.; THRUSH, S.; FAROUK, R.; GALLAND, R. B.; Intra-operative peritoneal lavage – who does it and why? **Annals of the Royal College of Surgeons of England**. London, v. 87, p. 255-258. july, 2005.

WITTMANN, D. H. Intraabdominal infections. Introduction. **World Journal Surgery**, New York, v. 14, p.145-147, 1990.

ZHU, G. F.; CHACELLOR-FRELAND, C.; BERMAN, A. S.; KAGE R.; LEEMAN, S.E.; BLACK, P. H. Endogenous substance P mediates cold water stress-induced increase in interleukin-6 secretion from peritoneal macrophages. **The Journal of Neuroscience**, Oxford, v. 16, n. 11, p. 3745-3752, Jun.,1996

---

Correspondência.

E-mail: joaolopes@unb.br

Dr. João Vieira Lopes

SQN 202, bloco C, apto 203

70832 030 – Brasília.

55 Brasil

## **APÊNDICES**

APÊNDICE 1 – PESOS DOS ANIMAIS

APÊNDICE 2 – EDEMA, CONGESTÃO VASCULAR, EXTRAVASAMENTO DE HEMÁCIAS,  
DESTRUIÇÃO DE MESOTÉLIO E NECROSE

APÊNDICE 3 – ESPESSURAS DO PERITÔNIO

APÊNDICE 4 – ESQUEMAS GRÁFICOS DOS EVENTOS OPERATÓRIOS

## **APÊNDICE 1 – PESOS DOS ANIMAIS**

TABELA 1 – PESOS DOS ANIMAIS EM GRAMAS NO DIA DA OPERAÇÃO CONFORME OS GRUPOS: CHOQUE TÉRMICO (CT), TEMPERATURA ELEVADA (TE), TEMPERATURA CORPORAL (TC), TEMPERATURA 0°C (TZ), SHAM (SH) E GRUPO CONTROLE (GC)

TABELA 2 – PESOS DOS ANIMAIS EM GRAMAS NO DIA DA REOPERAÇÃO CONFORME OS GRUPOS: CHOQUE TÉRMICO (CT), TEMPERATURA ELEVADA (TE), TEMPERATURA CORPORAL (TC), TEMPERATURA 0°C (TZ), SHAM (SH) E GRUPO CONTROLE (GC)

TABELA 1 – PESOS DOS ANIMAIS EM GRAMAS NO DIA DA OPERAÇÃO. CONFORME OS GRUPOS: CHOQUE TÉRMICO (CT), TEMPERATURA ELEVADA (TE), TEMPERATURA CORPORAL (TC), TEMPERATURA 0°C (TZ), SHAM (SH) E GRUPO CONTROLE (GC)

Animal	CT	TE	TC	TZ	SH	GC
1	353,69	391,09	389,82	388,11	386,67	351,57
2	384,24	367,17	354,75	394,51	381,53	399,00
3	376,64	376,27	400,07	376,34	405,57	359,96
4	378,53	394,29	356,49	360,43	355,65	381,12
5	378,10	384,07	392,10	404,22	390,41	399,21
6	401,74	406,34	366,69	390,01	387,76	387,63
7	378,15	380,29	386,77	399,77	356,46	340,55
8	387,72	401,30	366,85	400,84	405,23	349,35
9	398,76	380,89	358,21	395,13	361,33	378,80
10	396,08	402,15	398,22	401,91	385,54	366,52

TABELA 2 – PESOS DOS ANIMAIS EM GRAMAS NO DIA DA REOPERAÇÃO CONFORME OS GRUPOS: CHOQUE TÉRMICO (CT), TEMPERATURA ELEVADA (TE), TEMPERATURA CORPORAL (TC), TEMPERATURA 0°C (TZ), SHAM (SH) E GRUPO CONTROLE (GC)

Animal	CT	TE	TC	TZ	SH	GC
1	343,78	377,75	377,91	362,83	379,33	345,76
2	378,54	349,55	344,38	384,56	372,31	384,56
3	374,30	369,41	387,16	360,33	385,63	353,70
4	395,60	383,33	354,48	358,71	350,58	378,82
5	365,48	380,24	378,76	391,47	375,04	388,25
6	383,24	397,92	362,23	381,31	377,74	383,21
7	368,37	374,33	369,09	397,07	339,77	331,29
8	382,30	397,47	357,90	398,77	401,02	348,62
9	393,85	368,06	347,65	391,87	352,23	371,55
10	383,64	387,28	389,13	379,30	375,19	388,92

**APÊNDICE 2 – EDEMA, CONGESTÃO VASCULAR, EXTRAVASAMENTO  
DE HEMÁCIAS, DESTRUIÇÃO DE MESOTÉLIO E NECROSE.**

TABELA 1 – OCORRÊNCIA DE EDEMA, CONGESTÃO VASCULAR, EXTRAVASAMENTO DE HEMÁCIAS, DESTRUIÇÃO DE MESOTÉLIO E NECROSE NAS AMOSTRAS DE CADA ANIMAL SEGUNDO OS GRUPOS A QUE PERTENCE CHOQUE TÉRMICO (CT), TEMPERATURA ELEVADA (TE), TEMPERATURA CORPORAL (TC), TEMPERATURA 0°C (TZ), SHAM (SH) E GRUPO CONTROLE (GC) NOS GRAUS AUSENTE, DISCRETO, MODERADO E INTENSO.

TABELA 1 – OCORRÊNCIA DE EDEMA, CONGESTÃO VASCULAR, EXTRAVASAMENTO DE HEMÁCIAS, DESTRUIÇÃO DE MESOTÉLIO E NECROSE NAS AMOSTRAS DE CADA ANIMAL SEGUNDO OS GRUPOS A QUE PERTENCE CHOQUE TÉRMICO (CT), TEMPERATURA ELEVADA (TE), TEMPERATURA CORPORAL (TC), TEMPERATURA 0°C (TZ), SHAM (SH) E GRUPO CONTROLE (GC) NOS GRAUS\* AUSENTE, DISCRETO, MODERADO E INTENSO.

								continua
Grupo	Código da lâmina	Animal	Edema	Congestão vascular	Extravasamento de Hemácias	Destruição do Mesotélio	Necrose focal	
CT								
	1	1	1		2	0	1	1
	7	2	1		0	0	1	0
	13	3	1		0	0	2	0
	19	4	1		1	0	2	1
	25	5	1		0	0	2	0
	31	6	0		0	0	2	0
	37	7	1		0	0	1	0
	43	8	1		0	0	1	0
	49	9	0		0	0	2	1
	55	10	1		0	0	2	0
TE								
	2	1	1		1	1	1	0
	8	2	1		1	1	2	0
	14	3	1		0	0	2	0
	20	4	1		0	1	1	1
	26	5	0		0	0	2	0
	32	6	1		0	1	1	1
	38	7	1		2	1	1	0
	44	8	0		0	0	2	0
	50	9	0		0	0	1	0
	56	10	0		0	1	1	0
TC								
	4	1	1		1	0	1	1
	10	2	1		0	0	2	0
	16	3	0		0	0	2	0
	22	4	0		0	0	2	0
	28	5	2		0	0	2	0
	34	6	0		0	0	2	0
	40	7	0		0	0	1	0
	46	8	0		0	0	1	0
	52	9	0		0	0	2	0
	58	10	0		0	0	2	0
TZ								
	3	1	2		1	0	1	0
	9	2	0		0	0	2	0
	15	3	1		0	0	1	0
	21	4	1		0	0	2	0
	27	5	1		0	0	1	0
	33	6	1		0	0	2	0
	39	7	0		0	0	2	0
	45	8	2		1	0	1	0
	51	9	1		0	0	1	0
	57	10	0		0	0	1	0



Grupo	Código da lâmina	Animal	Edema	Congestão vascular	Extravasamento de Hemácias	Destruição do Mesotélio	conclusão	
							Necrose focal	
SH	5	1	0	0	0	0	2	0
	11	2	1	0	0	1	1	0
	17	3	0	0	0	0	2	0
	23	4	0	0	0	0	2	0
	29	5	0	0	0	0	2	0
	35	6	0	0	0	0	1	0
	41	7	1	0	0	0	1	0
	47	8	0	0	0	0	2	0
	53	9	1	0	0	0	1	0
	59	10	1	0	0	0	2	0
GC	6	1	0	0	0	0	2	0
	12	2	0	0	0	0	2	0
	18	3	1	0	0	0	1	0
	24	4	1	0	0	0	2	0
	30	5	0	0	0	0	0	0
	36	6	0	0	0	0	2	0
	42	7	0	0	0	0	2	0
	48	8	1	0	0	0	2	0
	54	9	0	0	0	0	1	0
	60	10	0	0	0	0	2	0

- Graus: Ausente = 0, Discreto = 1, Moderado = 2 e Intenso = 3.

### **APÊNDICE 3 – ESPESSURA DO PERITÔNIO**

TABELA 1 – ESPESSURA DO PERITÔNIO AFERIDA EM DEZ DIFERENTES CAMPOS DAS AMOSTRAS RETIRADAS DOS ANIMAIS DO GRUPO CT

TABELA 2 – ESPESSURA DO PERITÔNIO AFERIDA, EM DEZ DIFERENTES CAMPOS DAS AMOSTRAS RETIRADAS DOS ANIMAIS DO GRUPO TE

TABELA 3 – ESPESSURA DO PERITÔNIO AFERIDA, EM DEZ DIFERENTES CAMPOS DAS AMOSTRAS RETIRADAS DOS ANIMAIS DO GRUPO TC

TABELA 4 – ESPESSURA DO PERITÔNIO AFERIDA EM DEZ DIFERENTES CAMPOS DAS AMOSTRAS RETIRADAS DOS ANIMAIS DO GRUPO TZ

TABELA 5 – ESPESSURA DO PERITÔNIO AFERIDA EM DEZ DIFERENTES CAMPOS DAS AMOSTRAS RETIRADAS DOS ANIMAIS DO GRUPO SH

TABELA 6 – ESPESSURA DO PERITÔNIO AFERIDA EM DEZ DIFERENTES CAMPOS DAS AMOSTRAS RETIRADAS DOS ANIMAIS DO GRUPO GC

TABELA 1 – ESPESSURA DO PERITÔNIO, EM  $\mu\text{m}$ , EM DEZ DIFERENTES CAMPOS DAS AMOSTRAS RETIRADAS DOS ANIMAIS DO GRUPO CHOQUE TÉRMICO (CT)

Animal	Campos										Média
	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	
1	45,80	47,35	48,09	57,31	47,33	31,18	44,27	43,52	51,15	41,98	45,80
2	31,31	29,01	28,41	43,51	38,99	31,33	35,11	54,98	18,32	42,75	35,37
3	16,79	30,35	29,77	22,90	16,03	17,31	19,31	23,57	22,88	32,65	23,16
4	18,34	7,67	19,08	26,73	32,07	14,68	13,07	32,83	16,81	34,35	21,56
5	32,06	50,16	22,91	11,48	12,31	10,85	8,43	7,78	12,31	18,90	18,72
6	20,61	17,56	26,62	42,01	17,74	18,38	25,95	18,32	17,57	20,62	22,54
7	38,42	30,89	14,58	32,82	3,29	25,65	31,31	16,10	26,45	34,44	25,40
8	34,36	37,40	55,73	54,96	31,31	44,27	61,83	48,85	59,54	51,07	47,93
9	14,52	19,10	47,33	35,11	31,31	25,19	12,98	23,66	19,10	20,61	24,89
10	22,15	33,16	17,57	16,05	24,26	18,85	32,82	43,52	24,62	38,96	27,20

TABELA 2 – ESPESSURA DO PERITÔNIO, EM  $\mu\text{m}$ , EM DEZ DIFERENTES CAMPOS DAS AMOSTRAS RETIRADAS DOS ANIMAIS DO GRUPO TEMPERATURA ELEVADA (TE)

Animal	Campos										Média
	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	
1	42,75	45,83	119,08	147,33	60,31	33,65	74,05	67,18	35,12	55,53	68,08
2	25,22	22,19	20,74	20,62	21,39	14,52	11,48	26,73	14,58	27,35	20,48
3	72,52	33,59	51,91	62,60	35,89	28,50	43,51	42,75	43,51	51,91	46,67
4	34,36	45,83	77,40	40,72	19,85	27,48	44,27	38,17	13,00	9,95	35,10
5	28,24	37,40	26,00	27,36	74,81	29,78	20,77	16,81	22,91	21,37	30,55
6	38,94	36,65	23,66	25,95	35,46	30,57	20,62	22,19	37,41	26,73	29,82
7	58,78	66,41	75,58	35,15	48,88	71,76	125,19	97,71	70,99	77,86	72,83
8	22,90	29,01	38,81	19,10	9,16	19,85	22,14	37,41	20,61	27,48	24,65
9	19,85	32,06	19,11	19,91	25,21	25,20	28,25	19,80	20,61	25,95	23,60
10	26,72	18,34	14,52	41,98	24,20	30,54	21,22	22,91	19,98	21,86	24,23

TABELA 3 – ESPESSURA DO PERITÔNIO, EM  $\mu\text{m}$ , EM DEZ DIFERENTES CAMPOS DAS AMOSTRAS RETIRADAS DOS ANIMAIS DO GRUPO TEMPERATURA CORPORAL (TC)

Animal	Campos										Média
	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	
1	83,98	95,47	45,81	83,21	99,24	100,77	97,71	90,84	121,38	115,27	93,37
2	41,98	59,54	63,38	35,89	30,53	35,11	23,66	26,72	54,20	35,12	40,61
3	16,79	25,19	14,50	10,80	19,08	9,16	16,79	20,62	14,50	16,51	16,39
4	11,48	29,78	20,62	26,73	19,85	24,62	19,98	13,76	20,61	21,39	20,88
5	29,78	11,45	16,79	23,68	64,89	56,51	20,01	35,12	22,90	32,82	31,40
6	20,62	16,79	20,54	14,58	12,98	22,52	22,26	14,66	11,48	22,95	17,94
7	19,40	16,95	26,72	42,78	14,50	21,37	21,39	20,62	19,91	18,32	22,20
8	39,70	30,57	16,79	9,95	16,81	14,50	16,03	9,16	10,71	14,50	17,87
9	26,98	42,71	31,47	36,29	26,72	32,82	19,70	20,08	26,98	23,68	28,74
10	32,02	25,95	36,65	28,25	11,95	18,45	20,67	23,86	9,66	15,57	22,30

TABELA 4 – ESPESSURA DO PERITÔNIO, EM  $\mu\text{m}$ , EM DEZ DIFERENTES CAMPOS DAS AMOSTRAS RETIRADAS DOS ANIMAIS DO GRUPO TEMPERATURA 0°C (TZ)

Animal	Campos										Média
	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	
1	137,40	138,22	33,67	58,04	42,75	41,22	24,43	45,35	47,33	25,95	59,44
2	8,40	19,56	21,37	32,06	26,72	18,34	35,11	26,73	23,58	26,72	23,86
3	36,64	43,51	44,27	74,05	48,85	35,88	97,71	61,83	26,72	35,11	50,46
4	25,22	32,86	14,20	31,00	19,86	25,19	16,03	32,07	46,79	35,55	27,88
5	39,72	39,69	35,12	44,27	34,35	41,23	49,97	24,48	45,81	77,87	43,25
6	34,43	51,15	28,24	31,38	32,07	37,56	44,28	44,12	70,23	58,80	43,23
7	12,31	18,38	16,03	5,34	10,69	9,19	27,49	18,34	16,05	6,29	14,01
8	63,40	65,58	39,69	45,04	150,38	125,95	64,89	68,70	67,18	79,39	77,02
9	65,65	48,15	26,72	15,34	52,69	36,65	30,53	35,91	33,60	16,79	36,20
10	46,62	41,25	74,84	67,96	59,61	47,60	36,72	35,15	31,31	31,85	47,29

TABELA 5 – ESPESSURA DO PERITÔNIO. EM  $\mu\text{m}$ , EM DEZ DIFERENTES CAMPOS DAS AMOSTRAS RETIRADAS DOS ANIMAIS DO GRUPO SHAM (SH)

Animal	Campos										Média
	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	
1	20,61	27,52	19,08	29,02	14,52	10,65	29,22	21,39	27,48	26,73	22,62
2	41,98	28,24	31,31	36,65	35,91	19,91	21,19	13,00	24,43	38,18	29,08
3	16,79	15,27	46,92	45,81	45,04	42,75	18,34	18,32	24,49	47,35	32,11
4	18,34	26,73	35,88	33,60	44,73	32,70	28,24	30,53	32,82	21,37	30,49
5	17,56	25,95	19,85	13,74	21,37	23,66	25,95	26,73	19,85	25,19	21,99
6	13,76	8,43	9,16	13,76	16,86	12,59	14,50	9,16	29,79	25,20	15,32
7	48,85	38,93	16,79	16,61	51,15	32,07	36,64	35,12	18,35	16,05	31,06
8	26,72	14,50	19,86	13,00	13,76	22,14	13,74	31,31	52,67	49,24	25,69
9	45,80	47,35	48,10	39,00	38,17	36,55	29,01	22,19	30,53	32,07	36,88
10	25,29	29,01	29,78	18,34	33,62	22,91	19,10	27,25	39,70	45,86	29,09

TABELA 6 – ESPESSURA DO PERITÔNIO, EM  $\mu\text{m}$ , EM DEZ DIFERENTES CAMPOS DAS AMOSTRAS RETIRADAS DOS ANIMAIS DO GRUPO GC

Animal	Campos										Média
	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	
1	14,50	13,83	20,74	19,86	23,66	24,43	14,41	19,91	22,90	11,45	18,57
2	23,68	38,17	35,11	25,95	36,65	44,28	22,90	25,95	37,40	31,30	32,14
3	16,79	19,91	18,71	21,50	34,35	30,53	12,24	16,05	22,14	18,38	21,06
4	36,64	35,11	25,95	25,19	21,37	16,03	18,45	19,08	13,74	28,25	23,98
5	19,83	25,19	15,03	24,48	22,91	23,77	19,24	9,92	20,67	14,58	19,56
6	18,32	15,29	22,14	19,86	9,16	13,76	23,66	18,32	7,63	19,11	16,73
7	9,92	13,00	34,72	22,14	6,87	16,81	60,31	33,15	26,00	17,57	24,05
8	58,02	45,81	58,02	50,38	67,18	61,85	51,20	40,47	19,10	22,91	47,49
9	22,14	25,97	18,32	14,26	13,74	19,86	32,06	17,57	24,43	33,60	22,20
10	32,07	31,31	44,51	38,26	52,69	65,65	50,38	32,83	19,08	17,56	38,43

#### **APÊNDICE 4 – ESQUEMAS GRÁFICOS DOS EVENTOS OPERATÓRIOS**

FIGURA 1 – ESQUEMA GRÁFICO REPRESENTATIVO DA SEQÜÊNCIA DE EVENTOS OPERATÓRIOS REALIZADOS NOS ANIMAIS DO GRUPO CT

FIGURA 2 – ESQUEMA GRÁFICO REPRESENTATIVO DA SEQÜÊNCIA DE EVENTOS OPERATÓRIOS REALIZADOS NOS ANIMAIS DO GRUPO TE

FIGURA 3 – ESQUEMA GRÁFICO REPRESENTATIVO DA SEQÜÊNCIA DE EVENTOS OPERATÓRIOS REALIZADOS NOS ANIMAIS DO GRUPO TC

FIGURA 4 – ESQUEMA GRÁFICO REPRESENTATIVO DA SEQÜÊNCIA DE EVENTOS OPERATÓRIOS REALIZADOS NOS ANIMAIS DO GRUPO TZ

FIGURA 5 – ESQUEMA GRÁFICO REPRESENTATIVO DA SEQÜÊNCIA DE EVENTOS OPERATÓRIOS REALIZADOS NOS ANIMAIS DO GRUPO SH

FIGURA 6 – ESQUEMA GRÁFICO REPRESENTATIVO DA SEQÜÊNCIA DE EVENTOS OPERATÓRIOS REALIZADOS NOS ANIMAIS DO GRUPO GC

FIGURA 1 – ESQUEMA GRÁFICO REPRESENTATIVO DA SEQÜÊNCIA DE EVENTOS OPERATÓRIOS REALIZADOS NOS ANIMAIS DO GRUPO CT

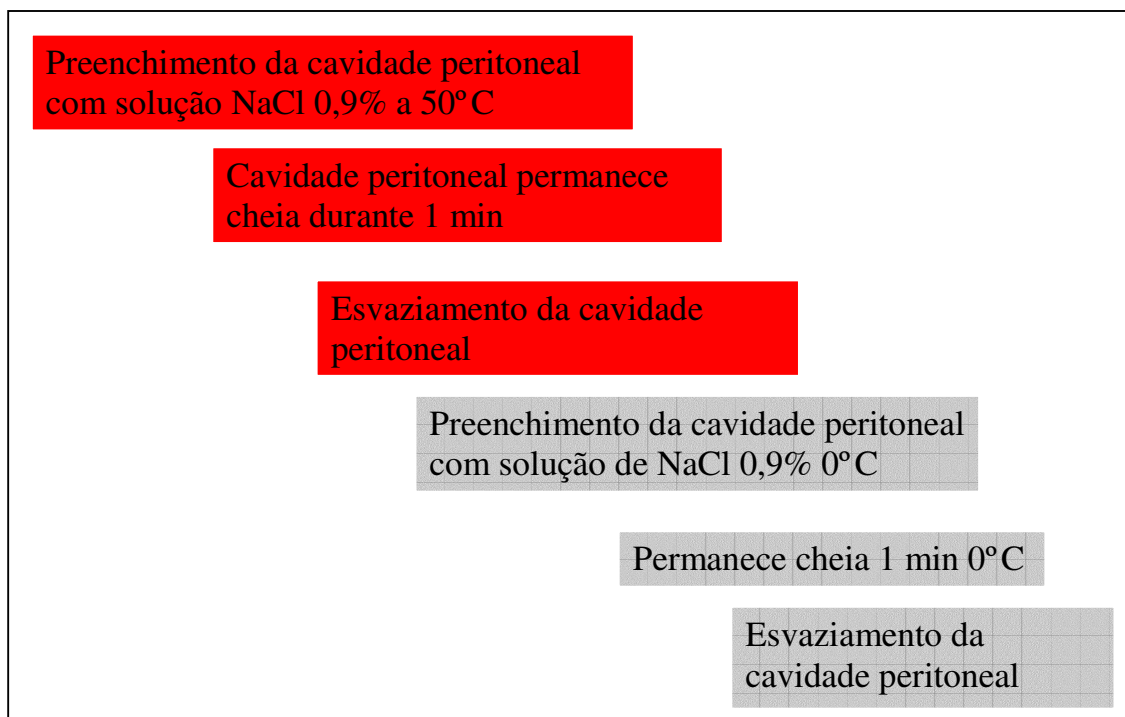


FIGURA 2 – ESQUEMA GRÁFICO REPRESENTATIVO DA SEQÜÊNCIA DE PROCEDIMENTOS OPERATÓRIOS REALIZADOS NOS ANIMAIS DO GRUPO TE

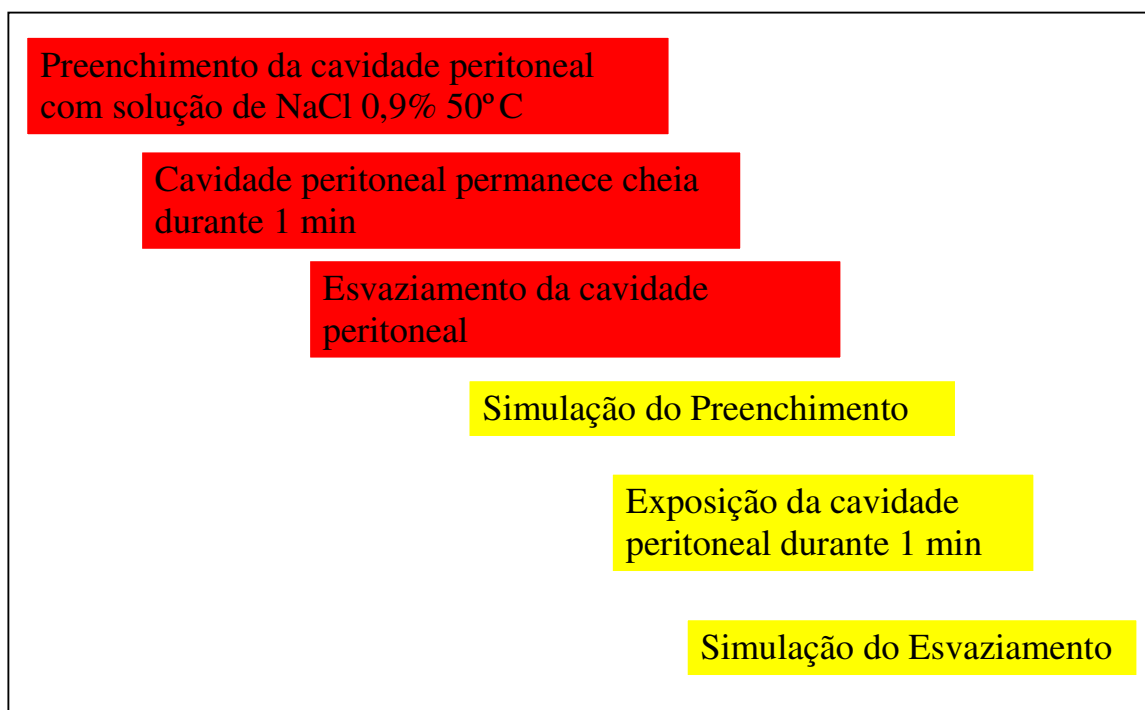


FIGURA 3 – ESQUEMA GRÁFICO REPRESENTATIVO DA SEQÜÊNCIA DE EVENTOS OPERATÓRIOS REALIZADOS NOS ANIMAIS DO GRUPO TC

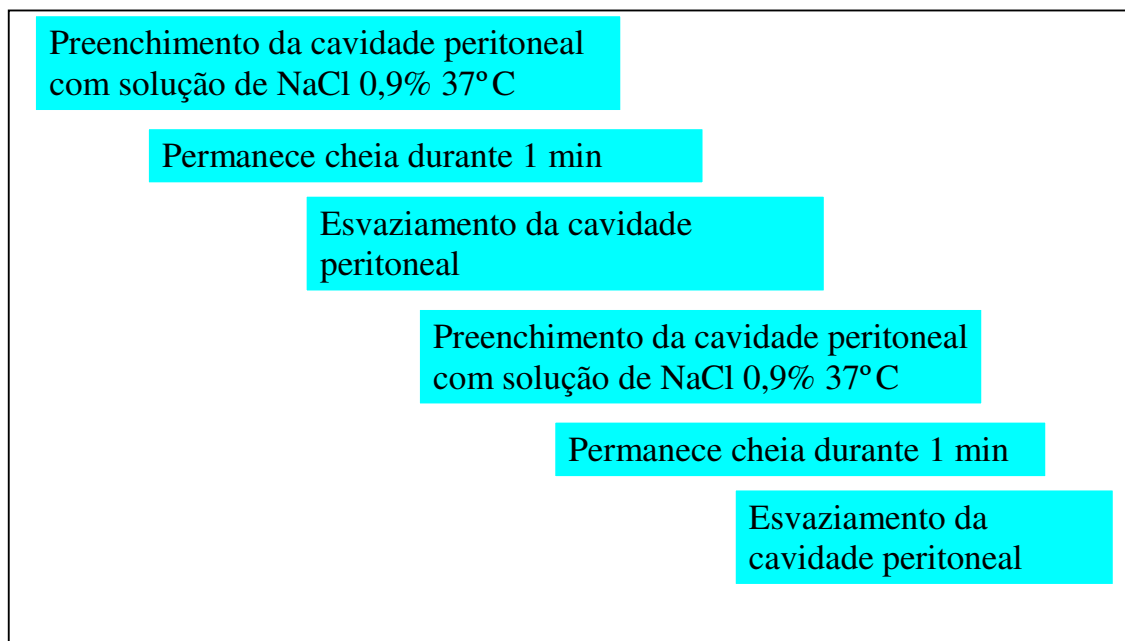


FIGURA 4 – ESQUEMA GRÁFICO REPRESENTATIVO DA SEQÜÊNCIA DE EVENTOS OPERATÓRIOS REALIZADOS NOS ANIMAIS DO GRUPO TZ

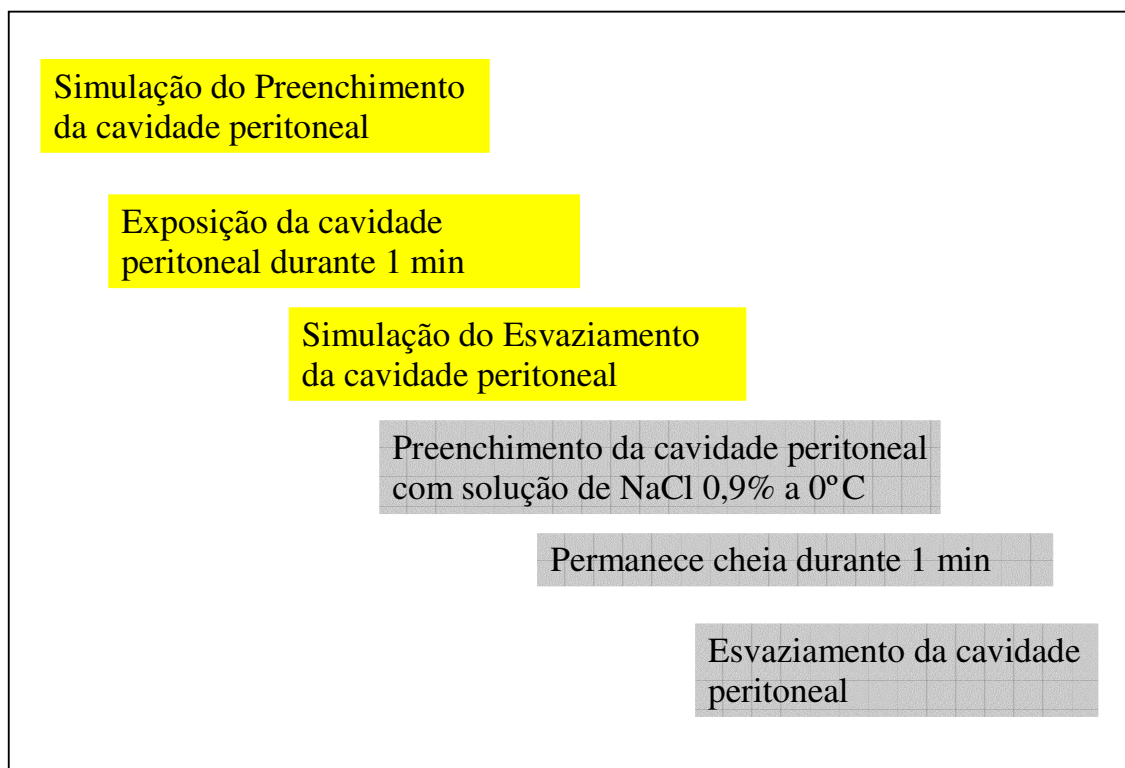


FIGURA 5 – ESQUEMA GRÁFICO REPRESENTATIVO DA SEQÜÊNCIA DE EVENTOS OPERATÓRIOS REALIZADOS NOS ANIMAIS DO GRUPO SH

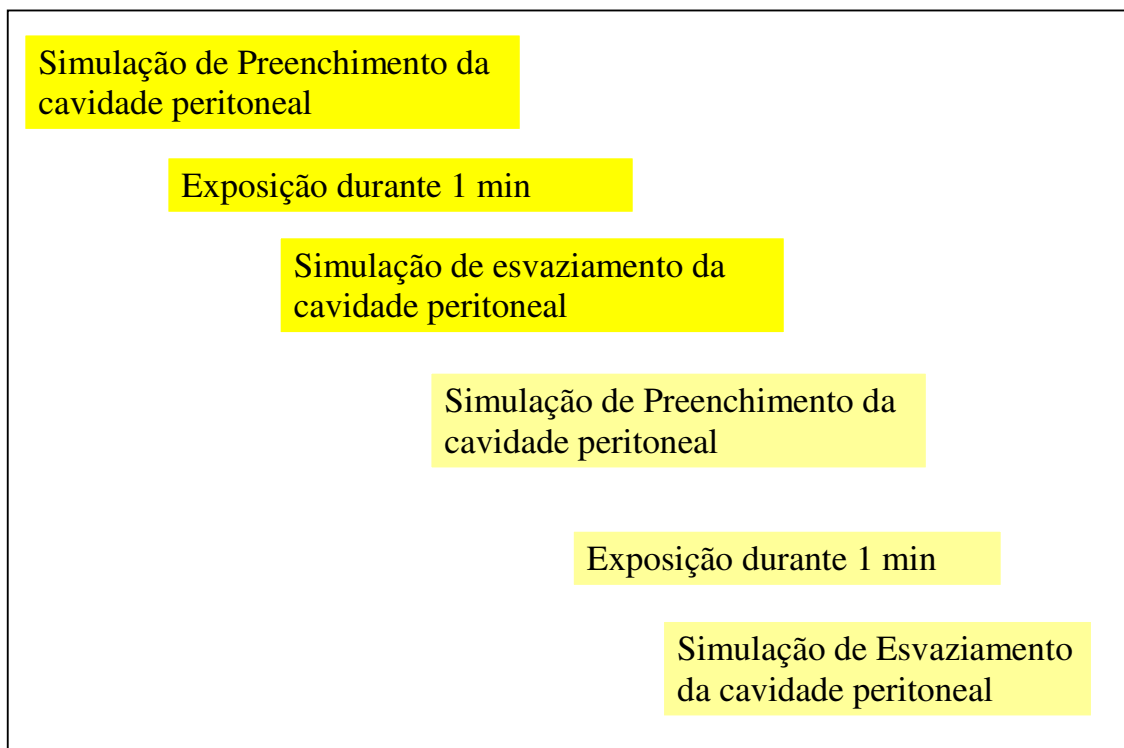
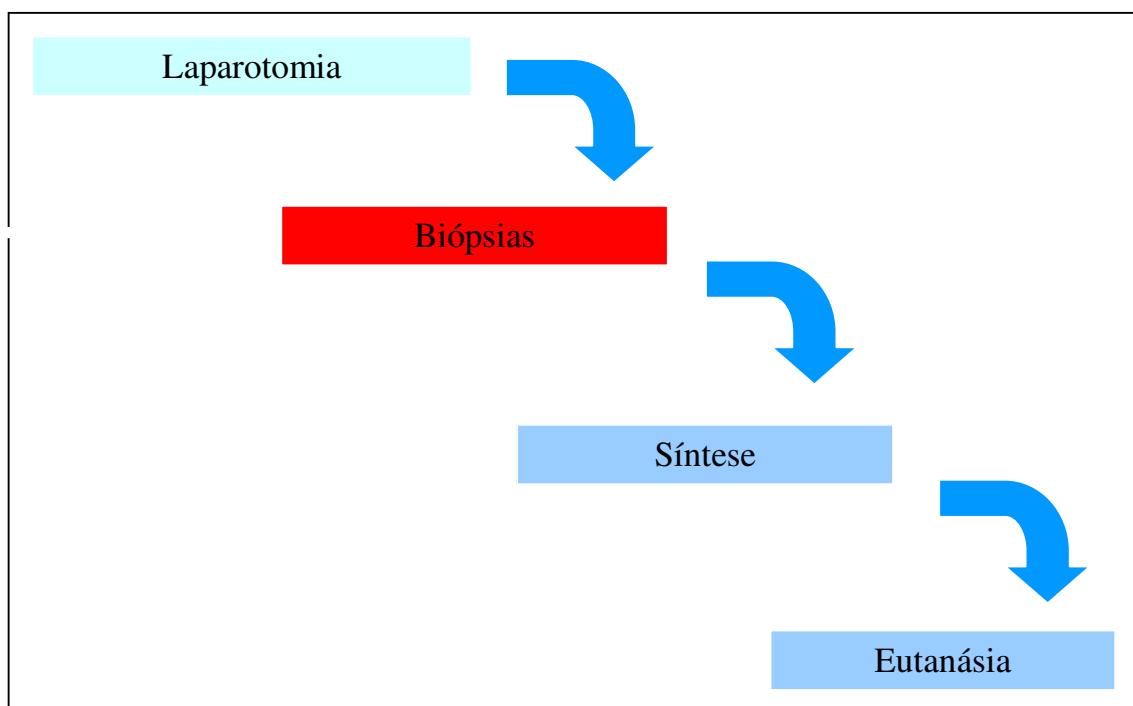


FIGURA 6 – ESQUEMA GRÁFICO REPRESENTATIVO DA SEQÜÊNCIA DE EVENTOS OPERATÓRIOS REALIZADOS NOS ANIMAIS DO GRUPO GC





## **ANEXOS**

ANEXO 1 - PARECER DO COMITÊ DE ÉTICA DE USO ANIMAL SOBRE O PROJETO

ANEXO 2 - DECLARAÇÃO DO PROF. DR. ALCINO LÁZARO DA SILVA

## **ANEXO 1 – PARECER DO COMITÊ DE ÉTICA DE USO ANIMAL**

### **PARECER DO COMITÊ DE ÉTICA DE USO ANIMAL SOBRE O PROJETO**

**"Avaliação histopatológica do peritônio parietal de ratos submetidos a choque térmico produzido por lavagens peritoneais com solução de NaCl a 0,9% em diferentes temperaturas", submetido pelo Prol. Dr. PAULO GONÇALVES DE OLIVEIRA e JOÃO VIEIRA LOPES.**

As justificativas em relação ao estudo proposto são detalhadas e esclarecedoras quanto ao uso de 60 ratos (*Rattus norvegicus*), subdivididos em grupos de dez, para experimentação de lavados de soro fisiológico em diversas temperaturas, no peritônio e possíveis alterações histopatológicas.

O número de animais está adequado aos objetivos e não pertencem a espécies com algum tipo de proteção por dano ambiental. A descrição de manejo e alojamento dos animais está rigorosamente dentro de padrões técnicos e éticos.

O protocolo anestésico é adequado para uma profunda analgesia em um procedimento (laparotomia) relativamente de curta duração. A não administração de antiflogísticos pós-operatórios parece fazer-se necessário devido à possível intervenção destes fármacos no processo histológico cicatricial ou degenerativo. Adicionalmente os animais serão mortos em 24 horas, com protocolo de eutanásia adequado. Em suma, não há evidências de dor ou estresse desnecessário. O método de eutanásia está de acordo com as normas cientificamente aceitas.

O presente estudo do potencial terapêutico ou patológico da lavagem peritoneal com soro fisiológico em diversas temperaturas pode contribuir para a compreensão dos mecanismos histopatológicos de procedimentos cirúrgicos abdominais de rotina e que são mal compreendidos

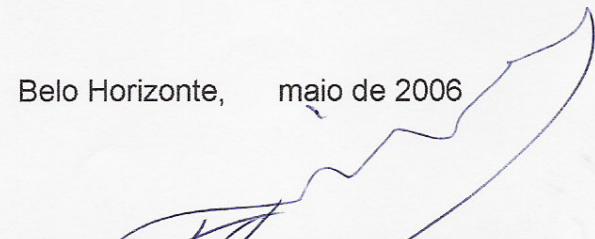
De acordo com estas breves considerações, do ponto de vista ético, sou plenamente favorável ao desenvolvimento do projeto.

Brasília, 19 de setembro, de 2005.

**ANEXO 2 – DECLARAÇÃO DO PROF. DR. ALCINO LÁZARO DA SILVA****AUTORIZAÇÃO**

Autorizo a reprodução para fins acadêmicos da figura nº 2 do artigo “Efeito histológico causado na parede posterior da cavidade abdominal pela lavagem com solução salina 0,9% aquecida a diferentes temperaturas: Estudo experimental em ratos. **Acta Cir Bras.** São Paulo, v. 16, n.1, p. 2001”, pelo João Vieira Lopes em sua Dissertação de Mestrado.

Belo Horizonte, maio de 2006

  
\_\_\_\_\_  
Prof. Dr. Alcino Lázaro da Silva