

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA – UNESP
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA
CAMPUS DE BOTUCATU**

JULIANA DE MOURA ALONSO

**AVALIAÇÃO DA REATIVIDADE PERITONEAL DE EQUINOS
SUBMETIDOS À ENTEROTOMIA DE CÓLON MENOR E TRATADOS COM
HEPARINA PELA VIA SUBCUTÂNEA**

BOTUCATU - SP

2013

JULIANA DE MOURA ALONSO

**AVALIAÇÃO DA REATIVIDADE PERITONEAL DE EQUINOS
SUBMETIDOS À ENTEROTOMIA DE CÓLON MENOR E TRATADOS COM
HEPARINA PELA VIA SUBCUTÂNEA**

Dissertação apresentada junto ao
Programa de Pós-Graduação em
Medicina Veterinária para a obtenção do
título de Mestre.

Orientador: Prof. Dr. Carlos Alberto
Hussni

BOTUCATU - SP

2013

Nome do autor: Juliana de Moura Alonso

Título: AVALIAÇÃO DA REATIVIDADE PERITONEAL DE EQUINOS SUBMETIDOS À ENTEROTOMIA DE CÓLON MENOR E TRATADOS COM HEPARINA PELA VIA SUBCUTÂNEA

COMISSÃO EXAMINADORA

Professor **Carlos Alberto Hussni**

Presidente e Orientador

Departamento de Cirurgia e Anestesiologia Veterinária

FMVZ – UNESP - Botucatu

Professor **Armen Thomassian**

Membro

Departamento de Cirurgia e Anestesiologia Veterinária

FMVZ – UNESP – Botucatu

Professor **Luis Cláudio Lopes Corrêia da Silva**

Membro

Departamento de Cirurgia Veterinária

FMVZ – USP – São Paulo

Data de defesa: 04 de Julho de 2013

DEDICATÓRIA

Aos meus pais Eloi e Fátima, que dedicaram suas vidas para a educação e crescimento das filhas, sendo os principais responsáveis pelas minhas conquistas.

À minha irmã Roberta, pela amizade e carinho.

Ao Rodrigo, pelo companheirismo e apoio.

Aos meus mestres, pela doação em tornar ideais e conhecimentos em ensinamentos.

Aos animais: Pirata, Macabéia, Raia, Paçoca, Cocada, Fubá, Filó, Tóquio, Gaia e Ópera, sem os quais não seria possível a realização desta pesquisa.

A todos outros que, ainda que não mais deixem pegadas na areia do tempo, deixaram pegadas em minha história.

Agradecimentos

Ao professor Carlos Alberto Hussni pela disponibilidade de orientação, amizade e confiança.

Aos professores titulares componentes da banca examinadora: Luis Cláudio Lopes Corrêa da Silva e Armen Thomassian e aos suplentes: Elizabeth Moreira dos Santos Schimdt e José Jurandir Fagliari pela disponibilidade em ceder seu tempo e contribuir com meu aprendizado.

Aos professores Ana Liz Garcia Alves, Celso Antonio Rodrigues e Marcos Jun Watanabe pelo apoio e disponibilidade.

Às professoras Elizabeth Moreira dos Santos Schimdt e Regina Kiomi Takahira pelo apoio na análise dos exames laboratoriais.

Ao professor José Jurandir Fagliari por ceder as instalações de seu laboratório para execução de parte das análises laboratoriais.

À professora Ângela Maria Victoriano de Campos Soares e sua aluna de pós-graduação Tatiane Bachiega pelo apoio na execução dos testes ELISA

Ao professor Antônio Aguiar e seu aluno de pós-graduação Ademir Cassiano pela contenção química dos animais e disponibilidade.

Aos professores José Bonifácio, Brunna Patricia da Fonseca e Luis Cláudio Lopes Corrêa da Silva pela disponibilidade em auxiliar no meu treinamento em videocirurgia.

Ao professor José Carlos de Figueiredo Pantoja pela execução da análise estatística.

Às amigas Karoline Alves Rodrigues e Ana Lúcia Yamada pelo auxílio na prática experimental e companheirismo.

À funcionária do Serviço de Cirurgia de Grandes Animais, Clotilde Gonçalves pela contribuição na organização do centro cirúrgico e amizade e ao funcionário José Jairo Zucari pelo auxílio com o manejo dos animais.

À aluna de graduação Débora Kauer pelo auxílio no manejo e aclimação dos animais ao ambiente de pesquisa.

Ao funcionário Daniel Ornelas pela disponibilidade em fotografar os procedimentos cirúrgicos.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo – FAPESP pela bolsa de estudos e financiamento da pesquisa.

E a todos que contribuíram para o cumprimento desta etapa da minha carreira.

LISTA DE TABELAS

TABELA 1 - Comparação da frequência cardíaca (FC), frequência respiratória (FR) e temperatura retal (°C) entre o grupo controle (GC) e o grupo tratado (GT) associando-se todos os momentos.	56
TABELA 2 - Comparação dos valores da temperatura retal (°C) entre o Grupo Controle (GC) e o Grupo Tratado (GT) nos diferentes momentos.....	57
TABELA 3 - Comparação dos valores do volume corpuscular médio (VCM) entre o grupo controle (GC) e o grupo tratado (GT) associando-se todos os momentos.	58
TABELA 4 - Comparação dos valores de hemácias, hemoglobina, hematócrito e VCM entre o grupo controle (GC) e o grupo tratado (GT) nos diferentes momentos.	59
TABELA 5 - Comparação da contagem de plaquetas entre o Grupo Controle (GC) e o Grupo Tratado (GT) associando-se todos os momentos.	61
TABELA 6 - Comparação da contagem de plaquetas entre o Grupo Controle (GC) e o Grupo Tratado (GT) nos diferentes momentos.....	61
TABELA 7 - Comparação dos valores séricos das proteínas totais entre o Grupo Controle (GC) e o Grupo Tratado (GT) associando-se todos os momentos.	62
TABELA 8 - Comparação dos valores séricos da proteína total entre o Grupo Controle (GC) e o Grupo Tratado (GT) nos diferentes momentos.....	63
TABELA 9 - Comparação do tempo de tromboplastina parcial ativado (TTPa) entre o grupo controle (GC) e o grupo tratado (GT) associando-se todos os momentos.	64
TABELA 10 - Comparação do tempo de tromboplastina parcial ativado (TTPa) entre o grupo controle (GC) e o grupo tratado (GT) nos diferentes momentos.	64
TABELA 11 - Comparação das concentrações séricas da proteína C reativa, proteína não identificada nominalmente de 23kDa e da haptoglobina entre o Grupo Controle (GC) e o Grupo Tratado (GT) em mg/dL, associando-se todos os momentos.....	65
TABELA 12 - Comparação das concentrações séricas da Haptoglobina e Proteína C reativa entre o Grupo Controle (GC) e o Grupo Tratado (GT) nos diferentes momentos em mg/dL.....	66
TABELA 13 - Comparação da contagem total de hemácias no líquido peritoneal entre o grupo controle (GC) e o grupo tratado (GT) associando-se todos os momentos.	69
TABELA 14 - Comparação da contagem total de hemácias no líquido peritoneal entre o grupo controle (GC) e o grupo tratado (GT) nos diferentes momentos.	70

TABELA 15 - Comparação do ativador do plasminogênio tecidual (tPA) e dímero D entre o grupo controle (GC) e o grupo tratado (GT) associando-se todos os momentos.	72
TABELA 16 - Comparação das concentrações peritoneais da $\alpha 1$ antitripsina entre o Grupo Controle (GC) e o Grupo Tratado (GT) associando-se todos os momentos.	72
TABELA 17 - Comparação das concentrações peritoneais da $\alpha 1$ anti tripsina, $\alpha 1$ glicoproteína, ceruloplasmina e proteína não identificada entre o Grupo Controle (GC) e o Grupo Tratado (GT) nos diferentes momentos.....	73
TABELA 18 - Evolução da ecogenicidade do líquido peritoneal ao exame ultrassonográfico baseado no sistema de <i>scores</i> (porcentagem de animais).	77
TABELA 19 - Comparação da frequência cardíaca e frequência respiratória entre o Grupo Controle (GC) e Grupo Tratado (GT) nos diferentes momentos.	118
TABELA 20 - Comparação dos valores de hemácias, hemoglobina, hematócrito e CHCM entre o grupo controle (GC) e o grupo tratado (GT).....	119
TABELA 21 - Comparação dos valores do fibrinogênio entre o Grupo Controle (GC) e o Grupo Tratado (GT).....	119
TABELA 22- Comparação dos valores do fibrinogênio entre o Grupo Controle (GC) e o Grupo Tratado (GT) nos diferentes momentos.....	119
TABELA 23 - Comparação dos valores do leucograma entre o Grupo Controle (GC) e o Grupo Tratado (GT).....	120
TABELA 24 - Comparação dos valores do leucograma entre o Grupo Controle (GC) e o Grupo Tratado (GT) nos diferentes momentos.....	120
TABELA 25 - Comparação do tempo de protrombina (TP) entre o grupo controle (GC) e o grupo tratado (GT).	122
TABELA 26 - Comparação do tempo de protrombina (TP) entre o grupo controle (GC) e o grupo tratado (GT) nos diferentes momentos.	122
TABELA 27 - Comparação das concentrações séricas (mg/dL) das proteínas de fase aguda entre o Grupo Controle (GC) e o Grupo Tratado (GT).....	123
TABELA 28 - Comparação das concentrações séricas (mg/dL) das proteínas de fase aguda entre o Grupo Controle (GC) e o Grupo Tratado (GT) nos diferentes momentos.	123
TABELA 29 - Comparação das características físico-químicas do líquido peritoneal entre o grupo controle (GC) e o grupo tratado (GT).	125

TABELA 30 - Comparação das características físico-químicas do líquido peritoneal entre o grupo controle (GC) e o grupo tratado (GT) nos diferentes momentos.	125
TABELA 31 - Comparação da citologia do líquido peritoneal entre o grupo controle (GC) e o grupo tratado (GT).....	127
TABELA 32 - Comparação da citologia do líquido peritoneal entre o grupo controle (GC) e o grupo tratado (GT) nos diferentes momentos.....	127
TABELA 33 - Comparação dos valores do inibidor do ativador do plasminogênio (PAI-1) entre o grupo controle (GC) e o grupo tratado (GT).	130
TABELA 34 - Comparação do ativador do plasminogênio tecidual (tPA), inibidor do ativador do plasminogênio (PAI-1) e dímero D entre o grupo controle (GC) e o grupo tratado (GT) nos diferentes momentos.	130
TABELA 35 - Comparação das concentrações peritoneais (mg/dL) das proteínas de fase aguda entre o Grupo Controle (GC) e o Grupo Tratado (GT).....	131
TABELA 36 - Comparação das concentrações peritoneais (mg/dL) das proteínas de fase aguda entre o Grupo Controle (GC) e o Grupo Tratado (GT) nos diferentes momentos.	132

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1- Interação entre a resposta inflamatória peritoneal, o sistema de coagulação e de fibrinólise.	25
FIGURA 2 - Esquema demonstrativo da fibrinólise no processo de reparação peritoneal. Sendo o estímulo inflamatório peritoneal o desencadeador da ativação ou inibição do plasminogênio tecidual. O fator ativador do plasminogênio atua clivando o plasminogênio em plasmina que por sua vez degrada o coágulo de fibrina, produzindo seus produtos de degradação.	27
FIGURA 3- Animal preparado para laparotomia. Presença de tricotomia na região abdominal direita e aplicação de atadura crepe na cauda para proteção da área cirúrgica.	39
FIGURA 4 - Animal recebendo sedação por infusão contínua com cloridrato de detomidina e tartarato de butorfanol.....	39
FIGURA 5 – Acesso à cavidade abdominal. A- incisão de pele; B- divulsão do tecido subcutâneo; C- secção da musculatura; D- visão da cavidade abdominal após a perfuração do peritônio.....	40
FIGURA 6 - Sequência do acesso laparoscópico. A- incisão de pele; B- introdução da cânula EndoTIP; C- acesso videoassistido; D- EndoTIP e óptica inseridos na cavidade abdominal; E- localização dos demais portais acesso; F- Visão da localização dos portais e manipulação visceral.....	42
FIGURA 7- Esquema demonstrativo do local de inserção das cânulas no exame laparoscópico. Acesso 1 – EndoTIP para inserção da óptica, Acessos 2 e 3- Cânulas de 11 mm para inserção das pinças atraumáticas para manipulação do cólon menor.....	42
FIGURA 8 - Sequência do procedimento cirúrgico de enterotomia. A- exposição do segmento localizado mais aboralmente de cólon menor; B- aplicação das pinças de coprostase intestinal; C- aplicação de pinças do tipo Allis; D- realização da enterotomia; E- sutura em pontos simples separados; F- aspecto do segmento após a finalização da sutura; G- abrasão da camada serosa com gaze seca; H- aspecto do segmento após enterotomia e abrasão; I- lavagem da região da enterotomia com solução fisiológica para posterior reposicionamento.....	44
FIGURA 9 - Proteínas de fase aguda. A- materiais utilizados para a confecção do gel de poliacrilamida; B- aparência do gel após a corrida e coloração com azul de <i>Comassie</i> ;	

C- leitura do gel em vídeo densitômetro; D- confecção dos gráficos baseados nos pesos moleculares das proteínas fracionadas.	47
FIGURA 10 - Líquido peritoneal A- colheita; B- amostra fracionada nos tubo com EDTA, seco e com citrato (da esquerda para direita).....	48
FIGURA 11 - Aspecto ultrassonográfico do cólon menor.	50
FIGURA 12- Imagem ultrassonográfica da parede abdominal na região ventral do abdômen, em detalhe realizava-se a mensuração do peritônio.....	50
FIGURA 13- Esquema de graduação da quantidade de líquido peritoneal livre no abdômen em cruzes. Representando: - (reduzida), + (normalidade), ++ (discretamente aumentado), +++ (moderadamente aumentado), ++++ (intensamente aumentado).	51
FIGURA 14- Esquema demonstrativo da graduação da ecogenicidade do líquido peritoneal. Sendo, 0- (normalidade), 1 (discreto aumento), 2 (leve aumento), 3 (moderado aumento associado à presença de debris celulares).....	52
FIGURA 15- Equipamento utilizado para a execução da vídeo-cirurgia. A- rack contendo monitor de TV, computador portátil e placa de captura, câmera, luz de xenon, insuflador de CO ₂ , no break e cilindro de CO ₂	54
FIGURA 16 - Sistema de graduação da reatividade peritoneal difusa, sendo 0 (ausência de reatividade difusa), 1 (discreta reatividade difusa), 2 (moderada reatividade difusa).	54
FIGURA 17 - Comparação das medianas do hematócrito entre os grupos nos diferentes momentos. As barras de erro representam o primeiro e terceiro quartil.	60
FIGURA 18 - Comparação das medianas do número de plaquetas entre os grupos nos diferentes momentos. As barras de erro representam o primeiro e terceiro quartil.....	62
FIGURA 19 - Comparação das medianas para o TTPa. As barras de erro representam o primeiro e terceiro quartil.	65
FIGURA 20 - Comparação das medianas das concentrações séricas da haptoglobina. As barras de erro representam o primeiro e terceiro quartil.	67
FIGURA 21 - Imagem ultrassonográfica de região ventral do abdômen, sendo possível observar a presença de edema no subcutâneo.	67
FIGURA 23 - Evolução da coloração e aspecto do líquido peritoneal para o GT. A- prévio à cirurgia; B- 12 horas após a cirurgia; C- 2 dias após a cirurgia; D- 4 dias após a cirurgia; E- 6 dias após a cirurgia; F- 10 dias após a cirurgia; G- 14 dias após a cirurgia.	68

FIGURA 24 - Citologia do líquido peritoneal de equino do GT. A - Grande quantidade de hemácias livres e íntegras e moderada quantidade de células nucleadas no 4º dia de pós-operatório (Aumento de 400x). B - 6º dia de pós-operatório: moderada quantidade de hemácias livres e íntegras, presença de neutrófilo; célula mononuclear; linfócito e macrófago apresentando leucofagocitose (aumento de 1000x).....	70
FIGURA 25 - Líquido peritoneal de equino do GC ao 6º dia de pós-operatório. Presença de célula mononuclear e macrófagos apresentando eritrofagocitose (aumento de 1000x).	71
FIGURA 26 - Comparação das medianas das concentrações peritoneais dos dímeros D entre os grupos nos diferentes momentos. As barras de erro representam o primeiro e terceiro quartil.....	72
FIGURA 27 - Comparação das medianas das concentrações peritoneais de ceruloplasmina entre os grupos nos diferentes momentos. As barras de erro representam o primeiro e terceiro quartil.	75
FIGURA 28 - Comparação das medianas das concentrações peritoneais da $\alpha 1$ antitripsina entre os grupos nos diferentes momentos. As barras de erro representam o primeiro e terceiro quartil.	75
FIGURA 29 - Comparação das medianas das concentrações peritoneais da $\alpha 1$ glicoproteína ácida entre os grupos nos diferentes momentos. As barras de erro representam o primeiro e terceiro quartil.	76
FIGURA 30 - líquido peritoneal livre no abdômen A- animal apresentando grande volume de líquido livre, porém com pouca turbidez (a- parede abdominal, b – baço, c – intestino delgado); B- animal apresentando grande volume de líquido, escurecido e com elevada turbidez (a – parede abdominal, b – baço, c – intestino delgado).	78
FIGURA 31 - Imagem laparoscópica da região cólon menor submetida à enterotomia. A, B, C- Grupo controle (região da enterotomia em cólon menor recoberta por fibrina) ; D, E, F- Grupo tratado (região da enterotomia em cólon menor recoberta por fibrina; segmento apresentando serosa hemorrágica após breve manipulação).....	79
FIGURA 32 - Imagens laparoscópicas do animal 1 do GC. A- deposição de fibrina sobre o peritônio parietal na região da laparotomia na parede abdominal direita; B- líquido peritoneal com elevada turbidez; C- formação de aderência fibrinosa entre segmentos do cólon ventral direito e cólon menor próximo à região da laparotomia; D- reatividade peritoneal difusa e sobre segmento do cólon dorsal direito.	80

LISTA DE ABREVIATURAS

µL - microlitro
ASA - Amilóide sérico A
Cm - Centímetro
CO₂ - Dióxido de Carbono
EGF - Fator de crescimento epidermal
EIC - Espaço intercostal
Fator II - Protrombina
Fator IIa - Trombina
Fator XII - Hageman
FC - Frequência cardíaca
FGF - Fator de crescimento de fibroblastos
FR - Frequência respiratória
g - Grama
GAG - Glicosaminoglicanos
GC - Grupo controle
GT - Grupo tratado
Hb - Hemoglobina
He - Hemácia
Hg - Mercúrio
Hp - Haptoglobina
Ht - Hematócrito
IF - Imunofiltração
IGF - Fator de crescimento semelhante à insulina
IL-1 - Interleucina 1
IL-6 - Interleucina 6
IM - Intramuscular
IV - Intravenoso
kDa - Kilodáltons
Kg - Quilogramas
M0 - Momento prévio à enterotomia
M1 - Momento 12 horas após a enterotomia
M2 - Momento 1 dia após a enterotomia

M3 - Momento 2 dias após a enterotomia
M4 - Momento 4 dias após a enterotomia
M5 - Momento 6 dias após a enterotomia
M6 - Momento 10 dias após a enterotomia
M7 - Momento 14 dias após a enterotomia
MEC - Matriz extra celular
mg - Miligramas
MHz - Megahertz
mm - Milímetros
 mm^3 - Milímetro cúbico
ng - Nanogramas
PAI - Inibidor da ativação do plasminogênio tecidual
PCR - Proteína C reativa
PDF - Produto de degradação da fibrina
PDGF - Fator de crescimento derivado de plaquetas
PFA - Proteínas de fase aguda
PGE2 - Prostaglandina E2
SC - Subcutâneo
TGF- β - Fator transformador do crescimento
TNF- α - Fator de necrose tumoral
TP - Tempo de protrombina
tPA - Ativador do plasminogênio tecidual
TPC - Tempo de preenchimento capilar
TTPa - Tempo de ativação da tromboplastina parcial ativada
UI - Unidades internacionais
VEGF – Fator de crescimento vascular endotelial
W – Watts

SUMÁRIO

RESUMO	17
ABSTRACT	19
1. INTRODUÇÃO	21
2. REVISÃO DE LITERATURA	23
2.1 Morfologia peritoneal	23
2.2 Resposta peritoneal ao trauma cirúrgico	23
2.3 Heparina: mecanismo de ação e utilização após laparotomia	27
2.4 Métodos de análise da reatividade peritoneal	30
2.4.1 Exames laboratoriais	30
2.4.2 Exame ultrassonográfico	34
2.4.3 Exame laparoscópico	35
3 OBJETIVOS	37
3.1 Objetivos gerais	37
3.2 Objetivos específicos	37
4 MATERIAIS E MÉTODOS	38
4.1 Fase I - Projeto piloto	38
4.1.1 Experimento 1	38
4.1.2 Experimento 2	43
4.2 Fase II – Projeto de pesquisa	44
4.2.1 Animais e grupos	45
4.2.2 Enterotomia e abrasão peritoneal	45
4.2.3 Exame físico	46
4.2.4 Avaliações hematológicas	46
4.2.5 Avaliações do líquido peritoneal	48
4.2.6 Avaliação ultrassonográfica	49
4.2.7 Avaliação laparoscópica	53
4.2.8 Apoio Técnico	55

4.2.9	Análise estatística.....	55
5	RESULTADOS.....	56
5.1	Projeto Piloto	56
5.2	Exame Físico.....	56
5.3	Avaliações hematológicas.....	57
5.3.1	Eritrograma.....	57
5.3.2	Contagem de plaquetas, proteínas totais e fibrinogênio.....	60
5.3.3	Leucograma.....	63
5.3.4	Coagulograma	64
5.3.5	Concentrações séricas das proteínas de fase aguda.....	65
5.4	Avaliações do líquido peritoneal	67
5.4.1	Avaliação macroscópica e físico-química.....	68
5.4.2	Citologia.....	69
5.4.3	tPA, PAI-1 e Dímero D	71
5.4.4	Concentrações peritoneais das proteínas de fase aguda	72
5.5	Avaliação ultrassonográfica.....	76
5.6	Avaliação laparoscópica	77
5.7	Complicações decorrentes da enterotomia do cólon menor	79
6	DISCUSSÃO.....	81
6.1	Projeto piloto.....	81
6.2	Enterotomia e abração peritoneal.....	81
6.3	Exame físico	82
6.4	Avaliações hematológicas.....	84
6.4.1.	Eritrograma.....	84
6.4.2.	Plaquetas, Proteínas totais e fibrinogênio	86
6.4.3.	Leucograma.....	87
6.4.4.	Proteínas séricas de fase aguda	89
6.4.5.	Coagulograma	92

6.5	Líquido peritoneal.....	93
6.5.1	Avaliação macroscópica e físico-química.....	93
6.5.2	Citologia.....	94
6.5.3	tPA, PAI-1 e Dímero D.....	96
6.5.4	Concentrações peritoneais das proteínas de fase aguda.....	97
6.6	Exame ultrassonográfico.....	99
6.7	Exame laparoscópico	100
7	CONCLUSÕES.....	102
8	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	103
9	ANEXOS.....	118

ALONSO, J.M. Avaliação da reatividade peritoneal de equinos submetidos à enterotomia de cólon menor e tratados com heparina pela via subcutânea.

[Evaluation of peritoneal reactivity after small colon enterotomy in horses treated with subcutaneous heparin] – Botucatu 2013. 121p. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária)- Departamento de Cirurgia e Anestesiologia Veterinária, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista – UNESP.

RESUMO

As afecções do cólon menor são causas frequentes de síndrome cólica, sendo a enterotomia rotineiramente empregada para a remoção de fecalitos, enterólitos e corpos estranhos. O trauma cirúrgico resulta em inflamação difusa e ocorrência de peritonite asséptica devido à manipulação e ao acesso cirúrgico. Objetivou-se estudar a reatividade peritoneal após a realização de enterotomia e abrasão do cólon menor em equinos tratados ou não com heparina sistêmica. Foram utilizados dez equinos com idade média de $9 \pm 3,87$ anos e $358 \pm 30,28$ Kg de massa corporal, divididos em dois grupos de cinco animais, sendo um grupo o controle (GC) e o outro tratado (GT). Ambos os grupos foram submetidos à laparotomia e enterotomia de cólon menor através da via paralombar direita em posição quadrupedal e receberam flunixin meglumine, gentamicina e associação de penicilinas. Ao GT, acrescentou-se heparina (150 UI/Kg SC, BID, 5 dias). Os animais foram avaliados quanto ao exame físico; hemograma; fibrinogênio; coagulograma; proteínas de fase aguda, séricas e peritoneais; características macroscópicas, físico-químicas e citológicas do líquido peritoneal; concentrações peritoneais do ativador e inibidor do plasminogênio tecidual e dímero D. Para tanto, pracionaram-se os seguintes momentos de avaliação: M0-prévio à enterotomia; M1-12 horas; M2 - 1dia, M3- 2dias, M4- 4dias e M5- 6 dias; M6- 10 dias e M7- 14 dias após a enterotomia. Observou-se que a heparina resultou em anemia e diminuição da contagem de plaquetas, aumento do tempo de tromboplastina parcial ativada e aumento nas concentrações séricas e peritoneais das proteínas de fase aguda, entretanto diminuiu a formação de dímeros D, sugerindo diminuição da formação de coágulos de fibrina. Após 15 dias da enterotomia, realizou-se o exame laparoscópico, que não demonstrou diferença na deposição de fibrina entre os grupos, entretanto evidenciou uma discreta maior reatividade peritoneal difusa para os animais do grupo tratado. A heparina na dose utilizada apresentou como efeito negativo o

desenvolvimento de anemia, diminuição significativa do número de plaquetas e atuação como agente pró-inflamatório, entretanto demonstrou reduzir a taxa de formação de dímeros d após a laparotomia, sugerindo menor deposição de fibrina, fato diretamente relacionado com a diminuição de complicações pós-operatórias como a formação de aderências e estabelecimento de melhor prognóstico. É necessária a realização de estudos que estabeleçam uma dose que melhor equilibre a redução da deposição de fibrina bem como seja capaz de minimizar a ocorrência de efeitos adversos.

PALAVRAS CHAVE: fibrinólise, heparina, inflamação, laparoscopia, laparotomia.

ALONSO, J.M. **Evaluation of peritoneal reactivity after small colon enterotomy in horses treated with subcutaneous heparin** [Avaliação da reatividade peritoneal pós enterotomia de cólon menor em equinos tratados com heparina] – Botucatu 2013. 121p. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária)- Departamento de Cirurgia e Anestesiologia Veterinária, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista – UNESP.

ABSTRACT

Small colon affections are frequent causes of abdominal pain, and enterotomy is routinely employed for removal of fecalith, enteroliths and foreign bodies. Surgical trauma results in diffuse inflammation and aseptic peritonitis occurrence due to handling and surgical access. The aim of this study was to evaluate peritoneal reactivity after small colon enterotomy and abrasion in horses treated or not with systemic heparin. Were used ten horses with a mean age of 9 ± 3.87 years and $358 \pm 30,28$ body weight, divided into two groups of five animals: one control group (CG) and the other treated (TG). Both groups underwent laparotomy and small colon enterotomy via right paralumbar flank in standing position and received flunixin meglumine, gentamicin and penicillin association. TG received also heparin (150 IU / kg SC BID, 5 days). Animals were evaluated for physiological parameters, hemogram, fibrinogen, coagulation markers, serum and peritoneal acute phase proteins, peritoneal fluid macroscopic, physico-chemical and cytological characteristics, peritoneal concentrations of tissue plasminogen activator and inhibitor and d-dimer. Assessments were performed prior to enterotomy-M0, M1-12 hours after enterotomy; M2 - 1 day, M3 - 2days; M4 - 4days; M5 - 6 days; M6-10 days and M7 - 14 days after the enterotomy. Heparin resulted in anemia and decreased platelet counts, increased in partial thromboplastin activated time and increased serum and peritoneal acute phase proteins, however, resulted in decreased formation of fibrin clots and d dimer formation. After 15 days of enterotomy, laparoscopic examination showed no difference in fibrin deposition between the groups, and a slight diffuse peritoneal reactivity higher to treated group. So, heparin showed as negative effect the development of anemia, significant decrease in platelet count and acting as a proinflammatory agent, however shown to reduce fibrin deposition and formation rate of d dimers after laparotomy, this fact is directly related to complications decrease, such as postoperative adhesion formation and establishment of better

prognosis. It is necessary studies that establish a better dose balance, that reduces fibrin deposition and minimize the occurrence of adverse effects.

KEY WORDS: fibrinolysis, inflammation, laparoscopy, laparotomy, ultrasonograph.

1. INTRODUÇÃO

A síndrome cólica é responsável por 20% dos internamentos hospitalares em equinos, sendo considerada a maior causa de óbito nessa espécie. Apesar dos avanços em relação aos métodos de diagnóstico, às técnicas anestésicas e cirúrgicas e ao acompanhamento intensivo no pós-operatório, a mortalidade permanece elevada (DIFILIPPO, *et al.* 2009).

Dentre as causas de síndrome cólica, as afecções do cólon menor perfazem 3 a 18 % dos casos (WHITE, 2009). A maioria das afecções que acometem o cólon menor requer intervenção cirúrgica (MONTELLO, *et al* 2004), sendo as enterotomias rotineiramente realizadas para remoção de enterólitos, corpos estranhos e material alimentar compactado (DUARTE, *et al* 2002).

O trauma cirúrgico resulta em inflamação peritoneal. A resposta genérica do peritônio a estímulos de caráter inflamatório, de gênese infecciosa ou não, é denominada peritonite, e envolve, inicialmente, a liberação de substâncias vasoativas que induzem vasodilatação seguida por transudação, com perda vascular de proteína e estímulo quimiotático para a migração de leucócitos para a cavidade abdominal (TRENT, 1995).

Sabe-se que após o trauma cirúrgico, a ocorrência da inflamação peritoneal se dá concomitantemente ao processo de coagulação com intuito reparatório tecidual. A trombina é a principal ligação entre o sistema de coagulação e inflamação, visto que a é a enzima responsável pela clivagem do fibrinogênio solúvel circulante em coágulo insolúvel de fibrina (MITCHELL, *et al.*, 2005). O processo de coagulação é contrabalanceado pelo sistema fibrinolítico, em que o ativador do plasminogênio (secretado pelas células mesoteliais, leucócitos e tecidos) atua clivando o plasminogênio, proteína plasmática que se liga ao coágulo de fibrina para gerar a plasmina, protease que atua na lise da fibrina (MITCHELL, *et al.*, 2005; HOLMDAHL, *et al*, 1997a; IVARSSON *et al*, 2001).

Na decorrência do trauma cirúrgico, isquemia, hemorragia, infecção e reações a corpos estranhos como talco de luvas e fios de sutura, pode haver uma intensidade de estímulo inflamatório ou manutenção do mesmo, que propicia o desbalanço entre a lise e a formação de fibrina, podendo o processo reparatório desencadear a formação de aderências fibrinosas que, posteriormente, darão origem às aderências fibrosas

abdominais propriamente ditas (CHEONG, *et al.*, 2001; IMUDIA *et al.*, 2008; WARD & PANITCH, 2011).

Neste sentido, a utilização de fármacos anticoagulantes com objetivo de prevenir a formação de coágulos de fibrina possivelmente inibe a formação de aderências (EGGLESTON & MUELLER, 2003; WARD & PANITCH, 2011). A heparina é um proteoglicano ácido sulfatado com peso molecular variável, que possui uma pequena fração responsável pelo efeito anticoagulante principal. Ela se liga a antitrombina III, que por sua vez é um inibidor lento da trombina, plasmina e fatores de coagulação. A heparina catalisa a reação de inibição realizada pela antitrombina III (BORGHESAN, 2010), estimulando o ativador do plasminogênio tecidual (tPA) e aumentando a ativação do plasminogênio, que resulta em fibrinólise (ANDRADE & STRICKLAND, 1986; MOORE & HINCHCLIFF, 1994).

Propõe-se avaliar o efeito da heparina sobre a reatividade peritoneal após a laparotomia e enterotomia de cólon menor, visto que tal fármaco é rotineiramente empregado no pós-operatório de cirurgias abdominais como estratégia profilática para inibição da formação de aderências sem a existência de resultados consistentes de sua efetividade (CLAUNCH & MUELLER, 2012).

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Morfologia peritoneal

A membrana serosa peritoneal é embriologicamente derivada de células mesoteliais que se encontram ancoradas em uma membrana basal, e cuja camada submesotelial consiste de matriz extracelular (MEC), formada por colágeno, glicoproteínas, glicosaminoglicanos e proteoglicanos. As células mesoteliais são sensíveis a traumas mínimos e possuem habilidade em secretar IL-1 e 6, TNF- α , TGF- β , além de contribuir com o processo fibrinolítico através da secreção de ativadores do plasminogênio tecidual (tPA) e inibidores do ativador do plasminogênio tecidual (PAI) (CHEONG *et al.*, 2001).

Na cavidade abdominal, a serosa que reveste os órgãos é denominada peritônio visceral e está em continuidade com o mesentério e com o peritônio parietal, que é a membrana serosa que reveste a parede da cavidade abdominal (JUNQUEIRA & CARNEIRO, 2004).

O suprimento sanguíneo do peritônio visceral é fornecido pela artéria mesentérica cranial, e o do peritônio parietal, pelas artérias que irrigam a parede abdominal, sendo que a drenagem circulatória de ambos é realizada pela veia porta e pelo ducto linfático (LUNA, 1994). O peritônio parietal é innervado por ramos do nervo espinal e o peritônio visceral é innervado pelo sistema nervoso simpático, reagindo a estímulos causados por distensão, tensão, isquemia e inflamação (BOWMAN, 1990).

2.2 Resposta peritoneal ao trauma cirúrgico

A resposta genérica do peritônio a estímulos de caráter inflamatório, de gênese infecciosa ou não, é denominada peritonite e envolve, inicialmente, liberação de substâncias vasoativas que induzem vasodilatação seguida por transudação e perda vascular de proteína, estímulo quimiotático para a migração de leucócitos, macrófagos e ,ainda, perda potencial de hemácias para a cavidade peritoneal (TRENT, 1995).

A peritonite é definida como a inflamação da membrana peritoneal e pode ocorrer em resposta a uma variedade de estímulos, tanto infecciosos (bactérias, vírus, fungos e parasitas), quanto não infecciosos (traumas cirúrgicos, agentes químicos e neoplasias). Independentemente da causa, a inflamação do peritônio provoca sensíveis alterações no exame do fluido peritoneal e no hemograma (TRENT, 1995). É caracterizada por hiperemia, exsudação, supuração, atividade fagocitária e deposição de

fibrina na superfície peritoneal associada ao aumento da permeabilidade a toxinas e efusão peritoneal (HILLYER & WRIGHT, 1997). Pode ser classificada de acordo com sua origem (primária ou secundária), grau de envolvimento peritoneal (localizada ou difusa), presença de bactéria (séptica ou asséptica), severidade e duração dos sinais (aguda ou crônica) ou por uma combinação desses (BOWMAN, 1990; MAIR et al., 1990; HILLYER & WRIGHT, 1997).

A peritonite pós operatória, na ausência de contaminação, é classificada como asséptica e difusa, induzida pela manipulação e acesso cirúrgico. O peritônio inflamado apresenta permeabilidade aumentada, o que resulta no aumento do volume do fluido peritoneal e da concentração de proteínas. A liberação local de substâncias quimiotáticas promove a migração de leucócitos para a cavidade peritoneal (TRENT, 1995).

Após a lesão tecidual, a resposta vascular ao trauma é a vasoconstrição breve, seguida da liberação de histamina e prostaglandina E_2 (PGE_2), que resulta em vasodilatação local e influxo de células que modificam o ambiente, proporcionando a atração de fatores inflamatórios e pró-coagulantes direcionados através da vasculatura local e do líquido peritoneal. Neste exsudato inflamatório estão presentes as plaquetas, que se aderem ao leito da lesão e sofrem degranulação de seus corpúsculos alfa, assim liberando o fator de crescimento derivado de plaquetas (PDGF) e $TGF-\beta$; e de corpúsculos densos, que liberam epinefrina e serotonina, contribuindo para a liberação de prostaglandinas e leucotrienos (BOLAND & WEIGEL, 2006; ERGUL & KORUKLUOGLU, 2008).

A liberação local de citocinas estimula a migração celular ao leito da lesão, enquanto que a agregação plaquetária contribui para a ativação da cascata da coagulação e formação do coágulo inicial de fibrina, iniciando o processo de coagulação. A deposição de fibrina atua como uma matriz provisória sinalizando moléculas e células inflamatórias, sendo temporariamente uma ponte de união entre os tecidos (BOLAND & WEIGEL, 2006).

O sistema de coagulação e a inflamação estão intimamente relacionados. O sistema de coagulação está dividido em duas vias que convergem para uma via comum, culminando na ativação da trombina e na formação de fibrina. A via intrínseca é composta de diversas proteínas que podem ser ativadas pelo fator de Hageman (XII) na presença de dano da membrana basal e exposição do colágeno, resultando no estímulo das demais vias da coagulação através da ativação de diversas proteínas, dentre elas, a

pro-trombina (fator II), precursora da trombina (fator IIa). A trombina é a principal ligação entre o sistema de coagulação e inflamação, visto que a é a enzima responsável pela clivagem do fibrinogênio solúvel circulante em coágulo insolúvel de fibrina (MITCHELL, *et al.*, 2005).

Ao mesmo tempo em que o fator XII estimula a formação do coágulo, ativa também o sistema fibrinolítico, principal modulador da formação de aderências, que contrabalança a coagulação através da clivagem da fibrina (figura 1). O ativador do plasminogênio (secretado pelas células mesoteliais, leucócitos e tecidos) atua clivando o plasminogênio, proteína plasmática que se liga ao coágulo de fibrina para gerar a plasmina, protease que atua na lise da fibrina, transformando-a em produtos de degradação da fibrina (PDF). A fibrinólise é regulada pelos inibidores do plasminogênio tecidual do tipo 1 (PAI-1) e do tipo 2 (PAI-2), que são estimulados na presença de trauma, infecção, ou endotoxina (MITCHELL, *et al.*, 2005; (HOLMDAHL, *et al.*, 1997a; IVARSSON *et al.*, 2001; CALDWELL & MUELLER, 2010).

A plasmina atua também na ativação da cascata do sistema complemento, estimulando a liberação de cininas que atuam no aumento da permeabilidade vascular, permitindo o influxo de mais células inflamatórias à cavidade abdominal após o trauma cirúrgico (MITCHELL *et al.*, 2005).

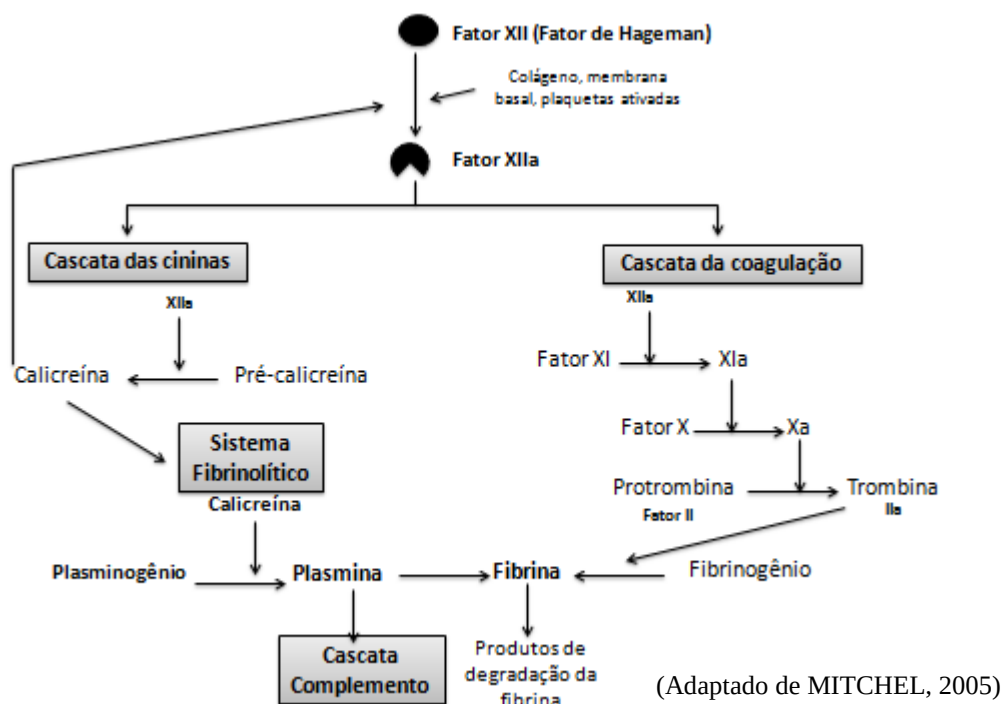


FIGURA 1- Interação entre a resposta inflamatória peritoneal, o sistema de coagulação e de fibrinólise.

As células recrutadas nas primeiras 12-24 horas são as polimorfonucleares (PMNs), predominantemente neutrófilos. Com a evolução do processo inflamatório, após 24 horas, o exsudato torna-se predominantemente dominado por macrófagos, células que atuam no debridamento e fagocitose de patógenos e no direcionamento do processo de cicatrização através da liberação de cicloxigenases, lipoxigenases, ativadores de plasminogênio, inibidores dos ativadores do plasminogênio, collagenase, IL-1 e IL-6, fator de necrose tumoral, leucotrienos e prostaglandinas, além de atuar sobre as células mesoteliais, endoteliais e fibroblastos. Aproximadamente no terceiro dia, as células mesoteliais e fibroblastos começam a recobrir os macrófagos na área de injúria tecidual; os macrófagos se infiltram na área afetada fazendo com que a área da lesão regride, sendo reestabelecida e recoberta por uma camada contínua de células mesoteliais em sete a dez dias (DIZERGA, 1990; BOLAND & WEIGEL, 2006; ERGUL & KORUKLUOGLU, 2008; MACIVER et al, 2011).

A deposição de MEC ocorre simultaneamente à migração e proliferação celular, é mediada por fibroblastos e, possivelmente, direcionada por macrófagos. A constituição da MEC é resultante da interação de fatores de crescimento (TGF- β , EGF, IGF, FGF e VEGF) e moléculas bioativas. O fator de transformação do crescimento (TGF- β) é produzido localmente e está intimamente ligado à quimiotaxia de neutrófilos, células T, monócitos, fibroblastos e indução da produção de diversas proteínas constituintes da MEC como a fibronectina, glicosaminoglicanos (GAGs) e colágeno, além de inibir a degradação da MEC através da alteração da taxa de proteases e inibidores de proteases (BOLAND & WEIGEL, 2006).

Nos casos onde a cicatrização peritoneal não ocorre normalmente, as células mesoteliais, fibroblastos e macrófagos peritoneais sinalizam a deposição de matriz extracelular excessiva. Os fibroblastos e miofibroblastos secretam grande quantidade dos componentes da MEC como fibronectina, ácido hialurônico, glicosaminoglicanos e proteoglicanos, estabelecendo a formação de uma ponte fibrosa entre os tecidos. A vascularização, deposição de colágeno e a lenta reabsorção da água fortalece a ponte formada, conferindo maior tensão e dando origem as aderências abdominais (BOLAND & WEIGEL, 2006; WARD & PANITCH, 2011).

A fibrinólise ocorre de maneira variada entre as espécies (PUGATCH & POOLE, 1969). Em equinos existem poucos estudos realizados a fim de se acessar a atividade fibrinolítica no líquido peritoneal. Os equinos, quando comparados aos humanos, possuem níveis aumentados de proteínas inibidoras da coagulação

(antitrombina e proteína C) e de componentes fibrinolíticos (*plasminogênio* e produtos de degradação da fibrina/fibrinogênio - PDFs) após cirurgias abdominais (DELGADO *et al.*, 2009).

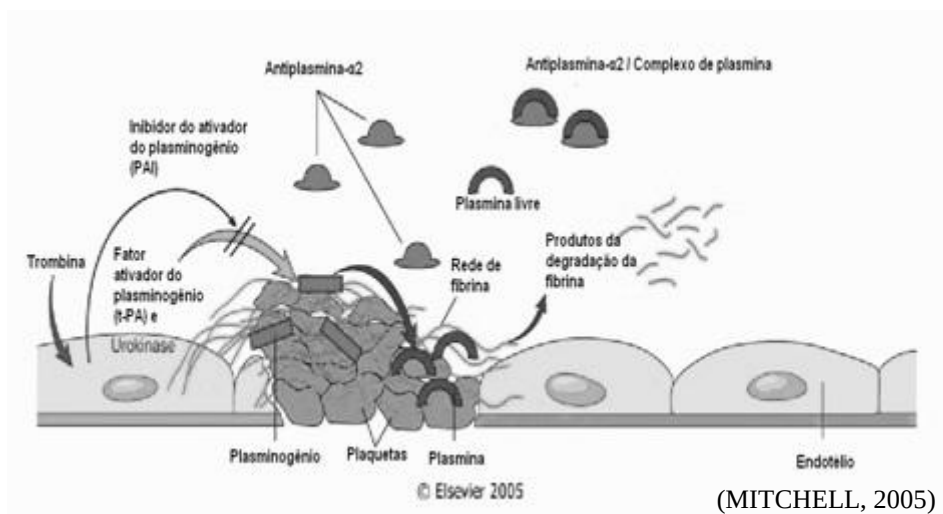


FIGURA 2 - Esquema demonstrativo da fibrinólise no processo de reparação peritoneal. Sendo o estímulo inflamatório peritoneal o desencadeador da ativação ou inibição do plasminogênio tecidual. O fator ativador do plasminogênio atua clivando o plasminogênio em plasmina que por sua vez degrada o coágulo de fibrina, produzindo seus produtos de degradação.

Se a fibrinólise local é adequada, as aderências fibrinosas são lisadas. Entretanto, se a fibrinólise é insuficiente, as aderências de fibrina são perpetuadas e infiltradas com fibroblastos e capilares, dando origem a aderências fibrosas (CALDWELL & MUELLER, 2010).

2.3 Heparina: mecanismo de ação e utilização após laparotomia

Os fármacos mais comumente utilizados no pós-operatório de cirurgias abdominais são os anti-inflamatórios esteroidais ou não esteroidais, antibióticos e agentes anticoagulantes (EGGLESTON & MUELLER, 2003; CLAUNCH & MUELLER, 2012). A utilização de antibióticos de amplo espectro, anti-inflamatórios e dimetilsulfóxido (DMSO) diminuem a inflamação e a carga bacteriana, resultando em diminuição da reatividade peritoneal pós-operatória (BAXTER, 1991; EGGLESTON & MUELLER, 2003; SULLINS *et al.*, 2004; CLAUNCH & MUELLER, 2012).

Os fármacos anticoagulantes são utilizados com o objetivo de prevenir a formação de coágulos de fibrina e consequentemente, inibir a formação de aderências

(EGGLESTON & MUELLER, 2003; WARD & PANITCH, 2011). A heparina representa um dos mais antigos anticoagulantes conhecidos. Em 1916, um estudante de medicina chamado McLean, ao investigar a natureza dos pró-coagulantes solúveis em éter, descobriu um anti-coagulante fosfolípídico, posteriormente nomeado por Howell, em 1922, de heparina devido a sua abundância no tecido hepático (MAJERUS, 2006).

A heparina é um glicosaminoglicano encontrado nas granulações secretoras dos mastócitos. Contém cerca de 10-15 cadeias de glicosaminoglicanos, cada uma com 200 a 300 unidades monossacarídicas, constituindo-se em um proteoglicano de 700 a 1000 kDa. É comumente extraída da mucosa intestinal suína e do pulmão bovino, e apesar da heterogenicidade da composição das diferentes preparações comerciais, suas atividades biológicas são semelhantes (MAJERUS, 2006).

A farmacocinética da heparina não é totalmente elucidada. A heparina pode ser administrada pela via intravenosa ou subcutânea, sendo que por via intravenosa tem ação imediata, enquanto por via subcutânea, inicia seu efeito em 1-2 horas. A meia vida da heparina no plasma depende da dose administrada.

Em 1939, foi descoberto que o efeito anticoagulante da heparina era mediado por um componente endógeno do plasma, denominado co-fator da heparina. Trinta anos depois, a antitrombina III foi purificada do plasma e demonstrou apresentar atividade de co-fator da heparina. A antitrombina inibe rapidamente a trombina na presença da heparina, é sintetizada no fígado e circula no plasma, inibindo os fatores de coagulação das vias comuns e intrínseca, inclusive a trombina, os fatores Xa, IXa, XIa, XIIa e calicreína (MAJERUS, 2006).

Uma pequena fração da molécula de heparina é responsável pelo efeito anticoagulante principal. Ela se liga à antitrombina III, que, por sua vez, é um inibidor lento da trombina, plasmina e de fatores de coagulação. A heparina catalisa em pelo menos mil vezes a reação de inibição realizada pela antitrombina III, estimulando o ativador do plasminogênio tecidual (tPA) e aumentando a ativação do plasminogênio, que resulta em fibrinólise. Promove ainda uma alteração conformacional na antitrombina, que torna o sítio reativo mais acessível à protease (ANDRADE & STRICKLAND, 1986; MOORE & HINCHCLIFF, 1994; MAJERUS, 2006).

Quando a concentração da heparina no plasma é de 0,1 a 1 U/mL, a trombina, o fator IXa e o fator Xa são rapidamente inibidos pela antitrombina (meia vida inferior a 0,1 segundos). Este efeito resulta no prolongamento do TTPa e no tempo de trombina, ou seja, o tempo necessário para o plasma coagular quando acrescentada trombina

exógena. O tempo de protrombina é afetado em escala menor. O fator Xa ligado a plaquetas no complexo de protrombinase e a trombina ligada à fibrina são protegidos da inibição antitrombina em presença de heparina (MAJERUS, 2006).

Na presença de concentrações elevadas de heparina, a trombina é inibida pelo co-fator II da heparina. Além disso, a heparina estimula a inibição da trombina pelo inibidor 1 do plasminogênio tecidual (PAI-1) e pelo inibidor da proteína C (MAJERUS, 2006).

Além da sua ligação de alta afinidade pela antitrombina III, a heparina, devido à sua natureza aniônica, é capaz de se ligar a diversas proteínas plasmáticas, incluindo fatores de crescimento, proteínas da matriz extracelular e mediadores da resposta imune (YOUNG, 2008; ARIMATEIA, 2011). A heparina pode afetar a resposta imune tanto com ação anti-inflamatória como pró-inflamatória, sendo referida como um imunomodulador pleiotrópico, ou seja, capaz de atuar na inflamação de variadas maneiras (ARIMATEIA, 2011).

Os efeitos anti-inflamatórios da heparina estão relacionados com a sua atuação sobre os neutrófilos e o endotélio vascular, resultando em menor migração leucocitária para o foco inflamatório. Já os efeitos pró-inflamatório não são bem esclarecidos, porém sabe-se que a heparina aumenta a expressão de citocinas diretamente relacionadas ao processo inflamatório (TNF- α e IL-1 β) e estas, por sua vez, influenciam na indução de moléculas de adesão, na produção de quimiocinas pelas células endoteliais e macrófagos, e no estímulo à síntese de PFA no fígado (ARIMATEIA, 2011).

A infiltração neutrofílica é um dos componentes críticos na resposta inflamatória durante a peritonite. Estudos com heparina têm demonstrado sucesso na inibição da migração leucocitária nas primeiras 2-3 horas da inflamação (ARIMATEIA, 2011). BRITO, et AL (2008) relatam diminuição de 80% da migração leucocitária após tratamento com heparina em ratos, na dose de 5 μ g/Kg de animal.

Não há um consenso na literatura indicando que a utilização da heparina promova uma inibição da formação de aderências (CLAUNCH & MUELLER, 2012), porém PARKER *et al.* (1987) utilizaram a heparina em pôneis submetidos a aderências experimentalmente induzidas e observaram significativa diminuição da formação de aderências quando utilizada a dose de 40 UI/Kg a cada 12 horas, durante 48 horas. YOUNG *et al.* (1989) avaliaram o efeito da utilização da heparina de baixo peso molecular na dose de 66 UI/KG a cada 12 horas durante 5 dias, em reduzir as

complicações pós operatórias e na taxa de sobrevivência de equinos submetidos à laparotomia, não sendo observado efeito favorável da utilização da mesma.

Em ratos, alguns autores utilizam a heparina isoladamente (KUTLAY *et al.*, 2004; BAHADIR *et al.*, 2007; KEMENT *et al.*, 2011) ou associada a outras terapias profiláticas (KUTLAY *et al.*, 2004; AYSAN *et al.*, 2010), obtendo resultados favoráveis. Porém, há autores que utilizaram o tratamento em ratos (KAPTANOGLU *et al.*, 2008) ou humanos (JANSEN, 1998; OPITIZ *et al.*, 2003; WATSON *et al.*, 2000) e não obtiveram inibição da formação de aderências.

A dose recomendada e a via de administração da heparina se mantêm controversa. A dose sistêmica descrita varia de 20 a 150 UI/ Kg a cada 6-12 horas durante 2-5 dias (GERHARDS & KIETZMAN, 1988; GERHARDS, 1991; MOORE & HINCHCLIFF, 1994; FEIGE, 2003; EGGLESTON & MUELLER, 2003). A administração intraperitoneal da heparina tem demonstrado reduzir a formação de aderências em ratos. Apesar de não haver estudos em equinos, a aplicação de 30.000 UI de heparina diluída em solução fisiológica é rotineiramente utilizada nesta espécie e informalmente descrita como eficaz (EGGLESTON & MUELLER, 2003).

Após terapia prolongada com a heparina, podem haver complicações como anemia, hemorragia, trombocitopenia e sensibilidade dolorosa no local da aplicação (MAHAFFEY & MOORE, 1986; MOORE & HINCHCLIFF 1994). Associada a estas complicações está o fato de a heparina apresentar aumento crescente na concentração sérica com o tratamento em equinos, sendo recomendado por MOORE & HINCHCLIFF (1994) que se realize uma diminuição progressiva da dosagem de 150 UI/Kg para 125UI após três dias de tratamento e para 100 UI/kg após o sétimo dia de tratamento.

2.4 Métodos de análise da reatividade peritoneal

2.4.1 Exames laboratoriais

Os resultados do hemograma, isoladamente, são inespecíficos, mas sua combinação com outros exames laboratoriais auxiliam na caracterização da natureza do distúrbio e na elaboração do prognóstico, considerando-se o estado de hidratação, o tipo e a duração do processo inflamatório (FAGLIARI & SILVA, 2002).

Devido ao trauma cirúrgico e à ocorrência de peritonite, pode-se observar, nos estágios iniciais, leucopenia devido à efusão celular para a cavidade abdominal e,

posteriormente, leucocitose (HODGSON & ROSE 1993; MENDES, 2000). Dentre os exames laboratoriais considerados indicadores de prognóstico para abdômen agudo de equinos, destacam-se as contagens de polimorfonucleares e de bastonetes (FAGLIARI *et al.* 2008).

Nos casos de inflamação severa, o sequestro protéico para a cavidade abdominal pode desencadear hipoproteinemia e desidratação. Outros achados laboratoriais incluem linfocitose e monocitose. (MENDES, *et al.*, 2000).

Os estágios iniciais da reação inflamatória incluem alterações denominadas resposta de fase aguda (FAGLIARI, *et al.* 2008), que proporcionam respostas sistêmicas, como febre e leucocitose, e favorecem a liberação de citocinas que atuam como mensageiros entre o local da lesão e os hepatócitos para a síntese das proteínas de fase aguda (PETERSEN, *et al.*, 2004).

A quantificação das proteínas de fase aguda (PFA) pode possibilitar o acesso a estados infecciosos, inflamatórios e trauma nos animais (ECKERSALL, 2008). Essas proteínas atuam restaurando a homeostase e limitando o crescimento bacteriano (MURATA, *et al.*, 2004).

A resposta de fase aguda é parte de um mecanismo de defesa à lesão (PETERSEN, *et al.*, 2004). Após intervenções cirúrgicas, as concentrações das PFA modificam-se dramaticamente (PETERSEN, *et al.*, 2004; JACOBSEN, *et al.*, 2009) e podem ser classificadas de acordo com a sua magnitude, sendo divididas em proteínas maiores, moderadas e menores (ECKERSALL, 2008). As proteínas maiores são encontradas em níveis plasmáticos menores que 0,1 µg/dL, porém, após estímulo, seja ele inflamatório ou infeccioso, estas alcançam níveis 100-1000 vezes maiores em 24-48 horas: já as proteínas moderadas estão presentes no plasma do animal hígido e aumentam 5-10 vezes com estímulo em 2-3 dias e diminuem mais lentamente. As proteínas menores aumentam cerca de 50-100% (ECKERSALL, 2008).

São consideradas positivas as proteínas que aumentam após a lesão, como a haptoglobina (Hp), proteína c reativa (PCR) e o amiloide sérico A (ASA); e negativas, as que diminuem, como a albumina (PETERSEN, *et al.*, 2004).

Devido à relativa meia vida sérica curta e à alta resposta em animais doentes, as proteínas de fase aguda constituem um importante indicador de mensuração da resposta sistêmica e de extensão da afecção. De acordo com a magnitude e duração da resposta de fase aguda, pode-se avaliar a severidade da lesão (ECKERSALL, 2008; FAGLIARI, *et al.*, 2008).

Como a concentração plasmática das proteínas de fase aguda é diretamente proporcional ao grau de lesão tecidual e/ou de inflamação (KENT & GOODALL, 1991; FAGLIARI, *et al*, 2008), espera-se que animais portadores de complicações pós-operatórias apresentem maior teor protéico.

O fibrinogênio é a proteína plasmática mais frequentemente analisada, porém, não é a principal proteína de fase aguda dos animais (GODSON, *et al*, 1996; ECKERSALL, *et al*, 2008). O fibrinogênio é uma proteína produzida pelos hepatócitos, possui meia vida de 2-3 dias e é consumido durante a coagulação à medida que é convertido em fibrina pela trombina (LOPES, *et al*, 2007). A concentração do fibrinogênio plasmático é um indicador não específico de diagnóstico e prognóstico de processos inflamatórios em equinos, sendo que elevações são expressões sensíveis da ocorrência de agressão tecidual e podem revelar alterações dissociadas de participação infecciosa (CAMPBELL, *et al*, 1981).

Diversos estudos têm incluído variáveis hemostáticas para acessar o prognóstico de animais com cólica, sendo estas frequentemente descritas como variáveis preditivas das taxas de recuperação e sobrevida (CESARINI, *et al*, 2010). Os testes comumente utilizados para avaliação da resposta hemostática são a contagem de plaquetas, tempo de protrombina (TP), tempo de tromboplastina parcial ativada (TTPa), fibrinogênio, fibrina e seus produtos de degradação (CESARINI, *et al*, 2010).

O tempo de tromboplastina parcial ativada (TTPa) ou tempo de cefalina é o tempo que o plasma leva para formar coágulo de fibrina após a mistura com cefalina (tromboplastina parcial), caolim (ativa fator XII) e cálcio. A cefalina é um substituto do fator plaquetário. Avalia o sistema intrínseco e comum da cascata da coagulação. Os valores normais de TTPa para equinos estão entre 21 e 45 segundos (LOPES, *et al*, 2007; PARRY, 2009).

O tempo de protrombina (TP) avalia o sistema extrínseco e comum através da adição de um fator tecidual, estimulando a coagulação pela via extrínseca. Os procedimentos com a amostra são semelhantes aos do TTPa, em que adiciona-se tromboplastina tecidual (fator tecidual extrínseco) e recalcifica-se a amostra, cronometrando o tempo até a formação do coágulo de fibrina. Os valores normais de TP para equinos estão entre 8,2 e 11,5 segundos (LOPES, *et al*, 2007; PARRY, 2009).

Pode-se ainda utilizar um marcador de acesso da atividade fibrinolítica e da coagulação, o dímero D, um fragmento liberado exclusivamente pela lise da fibrina pela

plasmina, correlacionando-se sericamente com a destruição da fibrina após estados de hipercoagulabilidade e hiperfibrinogênese.

A determinação das concentrações plasmáticas de dímero D é considerada o teste mais sensível para diagnóstico de doenças tromboembólicas e CID em humanos, e também se enquadra como um bom preditor de mortalidade. Em equinos, tem-se demonstrado uma ferramenta para a detecção de estados de hipercoagulabilidade em animais com cólica, e concentrações marcadamente elevadas são encontradas em equinos com distúrbios gastrointestinais associadas à isquemia e inflamação, especialmente em animais com peritonite (STOKOL, *et al*, 2005; CESARINI, *et al*, 2010).

Poucos estudos foram desenvolvidos no líquido peritoneal, sendo a maioria em humanos e poucos em modelos animais. Delgado *et al* (2009) avaliaram a concentração de dímeros D no líquido peritoneal de equinos com cólica e observou que a análise de suas concentrações é útil no acesso da atividade fibrinolítica e que equinos com distúrbios gastrointestinais severas apresentam marcante hiperfibrinólise relacionada ao aumento na formação e degradação de fibrina (DELGADO, *et al*, 2009).

Para análise do dímero D, utilizam-se anticorpos contra os produtos de degradação da fibrina humana. Estes estão disponíveis em kits comerciais de ELISA, imunofiltração (IF), imunoturbidimetria e aglutinação em látex, recebendo este último destaque em relação aos demais, devido a sua disponibilidade, facilidade de uso, rápido resultado e sensibilidade do teste (STOKOL, *et al*, 2005).

O padrão de normalidade para o plasma de equinos, determinado através de ELISA, é de 1000ng/mL (STOKOL, *et al*, 2005). Segundo DELGADO *et al*. (2009), os valores de dímero D obtido através de aglutinação em látex no líquido peritoneal de equinos não afetados por afecções GI variam de 4.0- 88.0 ng/mL.

Há muito tempo é reconhecida a importância da paracentese e avaliação do fluido peritoneal (HODGSON & ROSE 1993), sendo apontada como exame de escolha para a investigação de afecções peritoneais apresentando facilidade de execução, segurança e riqueza de informações (TULLENERS, 1983).

A obtenção do líquido peritoneal por meio da paracentese abdominal, considerada uma prática fácil, segura para o animal e de baixo custo, é o teste laboratorial mais esclarecedor para auxiliar na classificação do tipo de doença e também para determinar a severidade da lesão abdominal (TULLENERS, 1983), tornando a análise de líquido peritoneal um exame importante e útil não só para o diagnóstico, mas

também para o prognóstico e direcionamento da conduta clínica em equinos (MESSER, 1995; NEVES, *et al*, 2000).

O líquido peritoneal normal apresenta-se: inodoro, incolor límpido, sem coagulação, com densidade inferior a 1019, pH alcalino, proteína inferior a 1,6 g/dL e fibrinogênio inferior a 50 mg/dL (THOMASSIAN, 2005).

Para a citologia, são descritos como valores de referência para equinos sem raça definida contagem total de leucócitos $< 3567 \pm 3280/\text{mm}^3$ e diferencial de leucócitos: neutrófilos $< 1841 \pm 831$; linfócitos $< 375 \pm 21,4$; basófilos $< 4 \pm 12$; eosinófilos $< 107 \pm 303$; mononucleares $< 1206 \pm 902$ (NEVES, *et al*, 2000).

A classificação das efusões peritoneais incluem transudato (proteína e contagem de células nucleadas normais), transudato modificado (proteína elevada com contagem total de células nucleadas normal) e exsudato (proteína e contagem de células elevadas) (VAN HOOGMOED, *et al*, 1999).

A contagem leucocitária peritoneal após a laparotomia pode ser superior a 150.000/ μL e, se realizada a enterotomia, estes valores possivelmente se apresentarão maiores. No pós-operatório, a contagem continua a declinar e volta a níveis normais após 5-7 dias. A ausência de diminuição da contagem sugere peritonite resultante de uma complicação pós-operatória (MURRAY, 2000).

2.4.2 Exame ultrassonográfico

O exame ultrassonográfico pode ser utilizado como modalidade de diagnóstico de alterações agudas e crônicas gastrointestinais (DESROCHERS, 2005). Na presença de peritonite, observa-se aumento no volume e ecogenicidade do fluido peritoneal devido ao aumento da celularidade. A caracterização do líquido peritoneal pode ser realizada na região ventral do abdômen com transdutor de 6-10 MHz. Na presença de grande quantidade de líquido, pode se utilizar um transdutor de 5 MHz ou de frequência inferior.

O líquido peritoneal pode ser avaliado quanto à quantidade, ecogenicidade, homogeneidade, floculação e à presença de fibrina. Na presença de peritonite séptica, podem- se encontrar abscessos ou áreas desvitalizadas, hipomotilidade ou atonia intestinal e espessamento de parede abdominal decorrente da inflamação peritoneal, caso haja ruptura visceral, observa-se gás livre na cavidade abdominal (REEF, *et al*, 2004; DESROCHERS, 2005). No hemoperitônio, observa-se líquido homogêneo,

hipoecóico a ecogênico e celular, podendo evoluir para coágulos hiperecoícos (REEF, *et al*, 2004; DESROCHERS, 2005).

Para localização do cólon menor, utiliza-se como referência o rim esquerdo e o baço, estando o cólon menor localizado caudalmente ao rim, e visualizado no quadrante caudo dorsal esquerdo, dorsalmente a flexura pélvica (DESROCHERS, 2005).

O rim esquerdo está localizado adjacente ao baço e a presença de gás nos segmentos intestinais pode dificultar a visualização do mesmo (REEF, *et al*, 2004). O baço é o órgão mais ecogênico do abdômen, normalmente visualizado no lado esquerdo, ventral às margens pulmonares do 7 e 8º EIC, se estendendo à fossa paralombar. É identificado por seu aspecto granular, textura homogênea e presença de poucos vasos (REEF, *et al*, 2004).

As imagens ultrassonográficas do intestino grosso são identificadas pela sua aparência saculada e semicurvada, com exceção do colon dorsal direito. A parede intestinal é hipoecóica à ecogênica com espessura aproximada é de 3 mm e presença de uma camada de gás em sua superfície mucosa (REEF, *et al*, 2004; DESROCHERS, 2005).

Em cavalos adultos, as imagens ultrassonográficas do cólon menor são obtidas mais frequentemente pelo exame transretal, sendo o exame através de flanco reservado para pôneis e potros (REEF, *et al*, 2004).

2.4.3 Exame laparoscópico

Os primeiros relatos da utilização da laparoscopia foram publicados no início dos anos 70 (WITHERSPOON & TALBOT, 1970; HEINZE *et al*, 1972; WITHERSPOON *et al*, 1972). Nas duas últimas décadas, a técnica tem sido melhor investigada e aplicada com intuito diagnóstico, terapêutico e prognóstico (FISCHER *et al*, 1986; GALUPPO, *et al*, 1995; WALMSLEY, 1999; SMITH *et al*, 2005).

A laparoscopia apresenta como vantagens em relação à cirurgia aberta o fato de necessitar de menores incisões, diminuindo as complicações incisionais; diminuição do período de convalescência pós-operatório; o acesso a estruturas não visualizadas na cirurgia aberta; e a possibilidade de ser realizada com o animal em posição quadrupedal (SILVA, 1995; WALMSLEY, 1999; MUELLER & EPSTEIN, 2009).

Segundo RAGLE *et al* (1997); SILVA *et al*, (2000); SILVA *et al*, (2008); MUELLER & EPSTEIN (2009), o exame laparoscópico permite o diagnóstico de cólicas recorrentes e afecções crônicas, podendo ainda ser utilizado para a detecção de

peritonite de causa desconhecida. É citado ainda que a laparoscopia possa ser indicada para avaliação abdominal após laparotomia em casos cujo resultado clínico evolua de forma insatisfatória (SILVA *et al*, 2008).

Baseado na indicação da laparoscopia para avaliação da região submetida ao trauma cirúrgico e peritonite pós laparotomia e na possibilidade de acesso do cólon menor através do acesso abdominal esquerdo (GALUPPO, *et al*, 1995; SILVA, 1995; NÓBREGA, 2010), a laparoscopia pode ser empregada para avaliação da reatividade peritoneal pós enterotomia de cólon menor.

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivos gerais

Avaliar a reatividade peritoneal de equinos submetidos à enterotomia de cólon menor e tratados com heparina.

3.2 Objetivos específicos

Comparar a resposta peritoneal ao trauma cirúrgico (enterotomia de cólon menor) do grupo controle e do grupo tratado com heparina através de:

- Exame físico diário;
- Avaliação do perfil hematológico (hemograma, fibrinogênio e coagulograma);
- Avaliação da resposta de fase aguda através da mensuração das concentrações séricas e peritoneais das proteínas de fase aguda;
- Avaliação macroscópica, físico-química e citológica do líquido peritoneal;
- Avaliação quantitativa dos mediadores fibrinolíticos (tPA e PAI-1) contidos no líquido peritoneal;
- Avaliação semi-quantitativa dos produtos de degradação da fibrina (dímeros D);
- Exame ultrassonográfico;
- Exame laparoscópico.

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 Fase I - Projeto piloto

Esta etapa visou avaliar se o exame laparoscópico permitiria a identificação do segmento de cólon menor submetido à intervenção cirúrgica.

4.1.1 Experimento 1

Utilizaram-se dois equinos adultos, hígidos, sem raça definida, machos, com média de 350 Kg de massa corpórea, alojados no Hospital Veterinário da FMVZ-UNESP, Botucatu. Os animais foram alimentados com feno de capim *coast cross*, capim elefante triturado, ração comercial para manutenção de equinos¹, compreendendo 1% do peso vivo, fornecidos fracionados em duas porções ao dia, sal mineral² e água tratada³ *ad libitum*.

Realizou-se jejum alimentar de 24 horas; o campo operatório foi delimitado por tricotomia na região do abdômen direito, compreendendo como limite cranial a 17^o costela, caudal, a tuberosidade coxal e, dorsalmente, as apófises transversas (Figura 3). Aproximadamente 30 minutos antes da intervenção cirúrgica, foi administrado Penicilina Potássica⁴ (30000 UI/Kg IV), Gentamicina⁵ (7,5 mg/Kg IV) e Flunixin Meglumine⁶ (1,1 mg/Kg IV). A cauda foi protegida por atadura de crepe e fixada ao animal impossibilitando o contato com a área cirúrgica (Figura 3). Realizou-se a palpação transretal previamente ao procedimento cirúrgico a fim de se delimitar a topografia visceral, facilitar o acesso cirúrgico e torná-lo mais seguro.

¹ Triumph- Socil Evalis Nutrição Animal Indústria e Comércio Ltda.

² Agrocerec Multimix Nutrição Animal Ltda

³ Sabesp - Companhia de Saneamento Básico do Estado de São Paulo

⁴ Penicilina G Potássica - Ariston ind. Química e farmacêutica Ltda.

⁵ Gentatec - Chemitec, Agro-veterinária Ltda

⁶ Flunixin injetável- Chemitec, Agro-veterinária Ltda.



FIGURA 3- Animal preparado para laparotomia. Presença de tricotomia na região abdominal direita e aplicação de atadura crepe na cauda para proteção da área cirúrgica.

Os procedimentos cirúrgicos foram realizados com os animais em posição quadrupedal, contidos em tronco e sob sedação através de infusão intravenosa contínua de cloridrato de detomidina⁷ (bolus de 5µg/kg seguido de infusão contínua de 20µg/kg/h) associada ao tartarato de butorfanol⁸ (bolus de 20µg/kg seguido de infusão contínua de 13µg/kg/h) (figura 4).



FIGURA 4 - Animal recebendo sedação por infusão contínua com cloridrato de detomidina e tartarato de butorfanol.

⁷ Dormium V- Agener União Ltda.

⁸ Torbugesic- Fort Dodge Ltda.

Foi realizada anestesia local na região cirúrgica com Lidocaína⁹ a 2% associada a vasoconstrictor, através da deposição na linha de incisão e planos profundos adjacentes. Após antissepsia com digluconato de clorexidine degermante a 2% e alcoólico a 0,5%¹⁰, foi realizada incisão de pele de aproximadamente 10 cm na fossa paralombar direita; o tecido subcutâneo foi divulsionado e a musculatura seccionada; o peritônio perfurado e a cavidade abdominal acessada (figura 5).

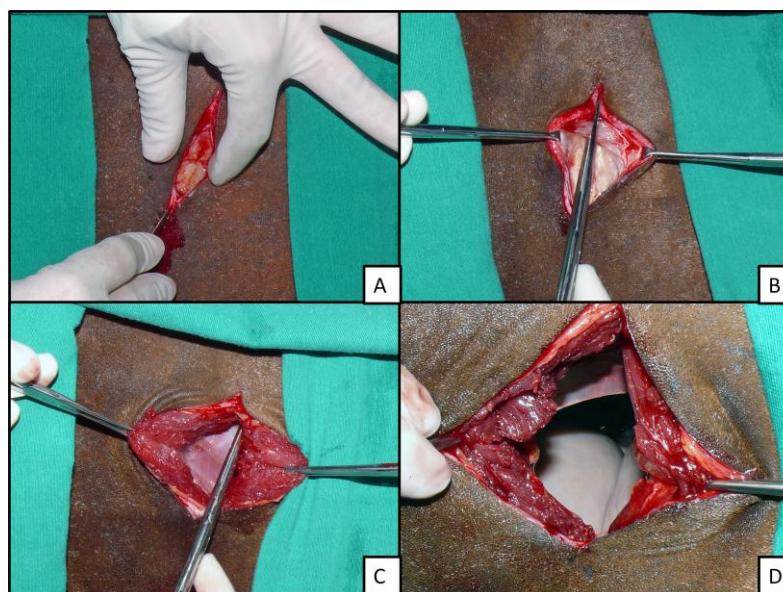


FIGURA 5 – Acesso à cavidade abdominal. A- incisão de pele; B- divulsão do tecido subcutâneo; C- secção da musculatura; D- visão da cavidade abdominal após a perfuração do peritônio.

Procedeu-se a identificação do cólon menor através de palpação direta, exteriorizou-se o segmento localizado mais aboralmente, em seguida realizou-se a abrasão da camada serosa com gaze seca em 50 movimentos repetidos para cada porção adjacente a tência, tornando a região hemorrágica. Após a abrasão, o segmento foi reposicionado e a síntese da parede abdominal foi realizada em padrão *Sultan* com fio Catgut cromado número 4¹¹ e da pele em pontos simples separados com fio de nylon monofilamentar 0,60 mm¹².

⁹ Xylestesin- Cristália, produtos químicos e farmacêuticos Ltda.

¹⁰ Riohex- Rioquímica, Ltda.

¹¹ Brasuture Ind Com Imp Exp - Indústrias

¹² Dourado - Nylon monofilamentar.

No pós-operatório foi administrado penicilina benzatina¹³ (30.000 UI/Kg IM, a cada 72 horas, durante 10 dias), gentamicina (7,5 mg/Kg IV, a cada 24 horas, durante 05 dias), flunixin meglumine (1,1 mg/kg, IM a cada 24 horas, durante 5 dias), soro antitetânico¹⁴ (10.000UI, SC em aplicação única) e curativo local na ferida cirúrgica com digluconato de Clorexidine alcoólico a 0,5% duas vezes ao dia, até a retirada da sutura no 15º dia.

Após 15 dias do procedimento cirúrgico inicial, o animal realizou nova preparação cirúrgica, consistindo de jejum alimentar de 24 horas com intuito de esvaziamento do cólon menor a fim de proporcionar maior facilidade de manuseio das alças. Previamente ao ato cirúrgico, realizou-se tricotomia na região do abdômen esquerdo, tendo como limite caudal a tuberosidade coxal, cranial, a 15º costela, e dorsal, as apófises transversas. Procedeu-se a palpação por via retal a fim de se avaliar a topografia anatômica no local de interesse da inserção das cânulas.

A região do acesso cirúrgico foi submetida à anestesia local com Lidocaína a 2% associada a vasoconstrictor. A antissepsia foi realizada com digluconato de clorexidine degermante a 2% e alcoólico a 0,5%. A incisão de pele foi de aproximadamente 2 cm; o acesso videoassistido através da introdução da cânula EndoTIP TM com endoscópio rígido em seu interior. Através da cânula, foi induzido o pneumoperitônio com CO₂. A pressão abdominal durante o procedimento foi mantida entre 12 e 15 mmHg, variando conforme o volume suportado por cada animal (figura 6).

Após a avaliação da cavidade abdominal como um todo, realizaram-se dois novos bloqueios anestésicos e incisões de aproximadamente 1,5 cm por onde foram introduzidas duas cânulas de 11 mm e duas pinças atraumáticas de manipulação intestinal do tipo *Babcock*¹⁵ (figura 7).

¹³ Mogipen - Bimeda, Mogivet Farmacêutica S.A.

¹⁴ Vencosat - Laboratórios Vencofarma do Brasil Ltda.

¹⁵ Babcock - Karl Storz Endoskope - Alemanha

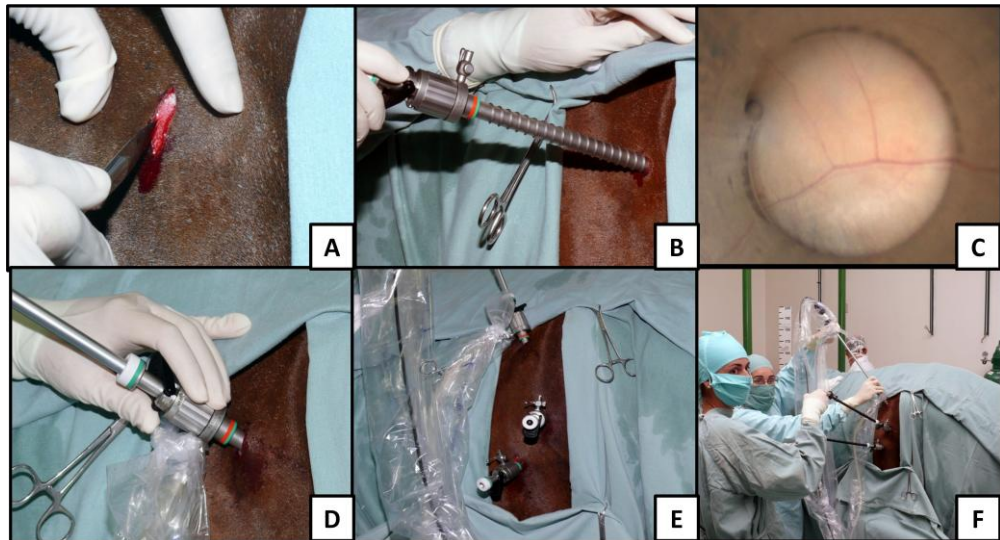


FIGURA 6 - Sequência do acesso laparoscópico. A- incisão de pele; B- introdução da cânula EndoTIP; C- acesso videoassistido; D- EndoTIP e óptica inseridos na cavidade abdominal; E- localização dos demais portais acesso; F- Visão da localização dos portais e manipulação visceral.

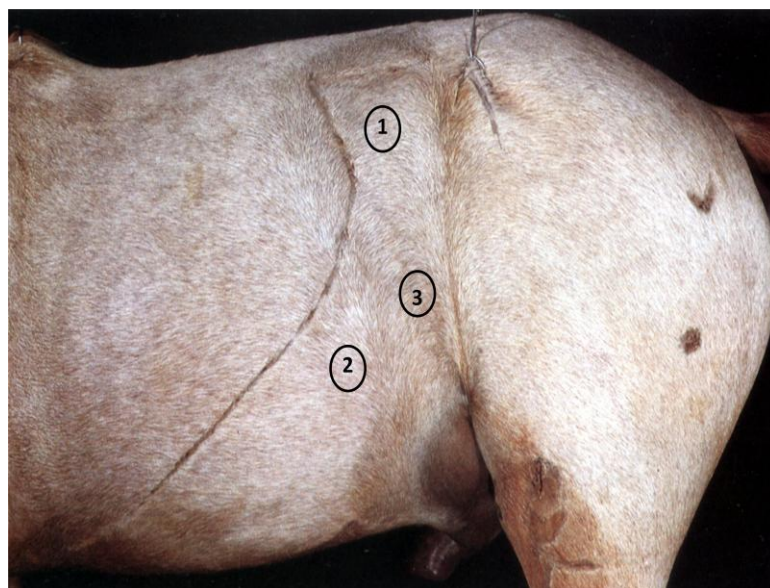


FIGURA 7- Esquema demonstrativo do local de inserção das cânulas no exame laparoscópico. Acesso 1 – EndoTIP para inserção da óptica, Acessos 2 e 3- Cânulas de 11 mm para inserção das pinças atraumáticas para manipulação do cólon menor.

Realizou-se uma avaliação detalhada do cólon menor, buscando-se a região submetida a abrasão com gaze. As imagens foram armazenadas para posterior avaliação.

As pinças foram retiradas e as válvulas de segurança das cânulas foram abertas permitindo a liberação do CO₂ contido na cavidade abdominal. As cânulas foram retiradas e, por último, retirou-se o EndoTIP através da realização de movimentos giratórios que promoveram a aproximação das camadas musculares. Em seguida, realizou-se a síntese de pele em padrão simples separado com fio nylon 0¹⁶.

4.1.2 Experimento 2

Foram utilizados 2 equinos, adultos hígidos, sendo um macho e uma fêmea, com média de 370 Kg. Os animais foram submetidos a mesma metodologia aplicada no experimento 1, acrescentando-se que na laparotomia foi realizada enterotomia do cólon menor. Após a exetriorização do segmento localizado mais aboralmente, e esvaziamento das fezes aplicaram-se duas pinças de coprostase a fim de se interromper o fluxo fecal delimitar a região da enterotomia. Posteriormente, aplicaram-se duas pinças do tipo *Allis* para o posicionamento do segmento e realização da enterotomia de 10 cm sobre a região da *tenia coli*. Com o intuito de aumentar a reatividade da área cirúrgica optou-se pela aplicação da sutura em pontos simples separados com fio *catgut* agulhado 3-0, seguida de abrasão da camada serosa com gaze seca em 50 movimentos repetidos para cada porção adjacente a tênia, tornando a região hemorrágica (figura 8). Após a abrasão, o segmento foi reposicionado e a síntese da parede abdominal foi realizada em padrão *Sultan* com fio *Catgut* cromado número 4¹⁷ e da pele em pontos simples separados com fio de Nylon monofilamentar 0,60 mm.

¹⁶ Mononylon 0 – Brasuture suturas cirurgicas

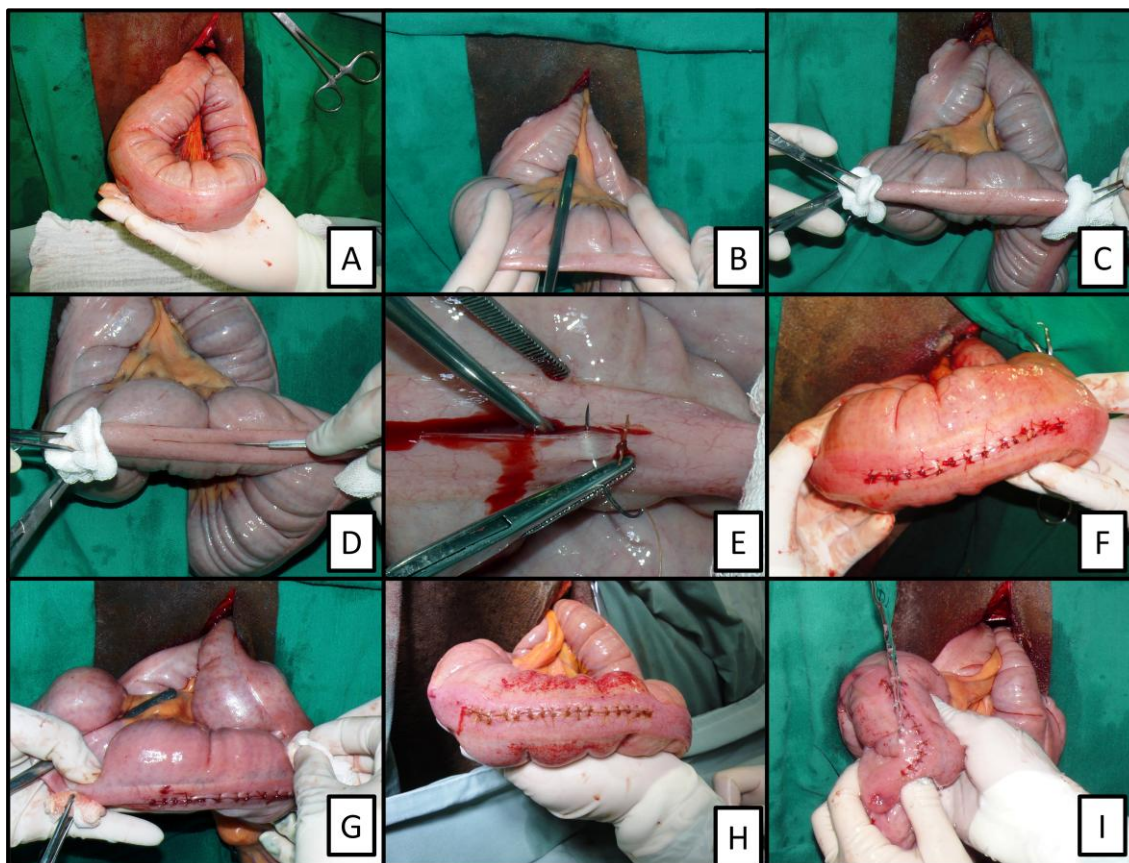


FIGURA 8 - Sequência do procedimento cirúrgico de enterotomia. A- exposição do segmento localizado mais aboralmente de cólon menor; B- aplicação das pinças de coprostase intestinal; C- aplicação de pinças do tipo Allis; D- realização da enterotomia; E- sutura em pontos simples separados; F- aspecto do segmento após a finalização da sutura; G- abrasão da camada serosa com gaze seca; H- aspecto do segmento após enterotomia e abrasão; I- lavagem da região da enterotomia com solução fisiológica para posterior reposicionamento.

Após 15 dias do procedimento cirúrgico inicial procedeu-se a laparoscopia utilizando-se a mesma técnica descrita no experimento 1, acrescentando-se a identificação e avaliação da reatividade peritoneal do segmento submetido a enterotomia.

4.2 Fase II – Projeto de pesquisa

O projeto foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) sob o número 274/2011.

4.2.1 Animais e grupos

Utilizaram-se dez equinos adultos ($9 \pm 3,87$ anos), hípidos, sem raça definida, machos e fêmeas, com média de $358 \pm 50,96$ Kg de massa corpórea, alojados no Hospital Veterinário da FMVZ-UNESP, Botucatu e adquiridos através do auxílio à pesquisa. Os animais foram alimentados com feno de capim *coast cross*, capim elefante triturado, ração comercial para manutenção de equinos¹⁸, compreendendo 1% do peso vivo, fornecidos fracionados em duas porções ao dia, sal mineral¹⁹ e água tratada *ad libitum*.

Previamente à inclusão nos grupos experimentais, os animais foram avaliados através de exame físico, hemograma completo e fibrinogênio, concentrações séricas e peritoneais das proteínas de fase aguda, análises laboratoriais do líquido peritoneal, incluindo macroscopia, físico-química, citologia, concentração peritoneal do ativador (tPA) e inibidor do plasminogênio tecidual (PAI-1) e dímeros D, além do exame coproparasitológico.

A vermifugação foi realizada aproximadamente 30 dias antes do início do experimento nos animais cuja contagem de ovos por grama de fezes ultrapassou 300, sendo a mesma repetida após 21 dias da primeira administração.

Na ausência de alterações nos exames de inclusão e após vermifugação, os equinos foram divididos aleatoriamente em dois grupos de cinco animais: o **grupo controle (GC)**, em que foram realizadas a enterotomia e a abrasão do cólon menor; e o **grupo tratado (GT)**, em que foram realizadas a enterotomia, a abrasão do cólon menor e administração de heparina²⁰ na dose de 150 UI/Kg por via subcutânea imediatamente após o término da cirurgia e a cada 12 horas, totalizando 05 dias de tratamento.

4.2.2 Enterotomia e abrasão peritoneal

A preparação operatória e o procedimento cirúrgico de enterotomia e abrasão peritoneal foram realizados conforme descrito no projeto piloto. Entretanto no primeiro animal pesquisado foi verificada complicação com a ferida cirúrgica optando-se por alterar o material de sutura da musculatura e a técnica de síntese de pele. Substitui-se o fio catgut cromado número 4 utilizado na síntese muscular por fio de poligalactina 910

¹⁸ Triumph- Socil Evialis Nutrição Animal Indústria e Comércio Ltda.

¹⁹ Agroceres Multimix Nutrição Animal Ltda

²⁰ Hepamax-S® - heparina sódica. Blasiesgel Ind. e Com. Ltda.

número 2²¹ mantendo-se o padrão *Sultan* em dois planos de sutura e na pele manteve-se o fio de Nylon, entretanto alteraram-se os pontos simples separados por padrão *Wolff*.

A medicação pós-operatória foi realizada conforme descrito no projeto piloto.

4.2.3 Exame físico

Os animais foram submetidos diariamente a duas avaliações físicas, sendo esta constituída pela avaliação da frequência cardíaca (FC), frequência respiratória (FR), coloração de mucosas ocular, oral e vaginal nas fêmeas, tempo de preenchimento capilar (TPC), temperatura retal (°C) e motilidade intestinal.

4.2.4 Avaliações hematológicas

As avaliações hematológicas (hemograma, fibrinogênio plasmático, coagulograma e mensuração das PFA) foram realizadas de maneira padronizada nos dois grupos.

Momentos de avaliação:

M0: previamente à cirurgia;

M1: 12 horas após a cirurgia;

M2: 1 dia após a cirurgia;

M3: 2 dias após a cirurgia;

M4: 4 dias após a cirurgia;

M5: 6 dias após a cirurgia;

M6: 10 dias após a cirurgia;

M7: 14 dias após a cirurgia.

O hemograma e fibrinogênio foram processados imediatamente após a colheita. As amostras de soro para avaliação das proteínas de fase aguda e coagulograma foram refrigeradas a -20°C para posterior avaliação.

Para o fracionamento das proteínas séricas, utilizou-se a técnica de eletroforese em gel de poliacrilamida contendo dodecil sulfato de sódio (SDS-PAGE), proposto por WEBER & OSBORN (1969). O gel foi corado durante 2 horas em solução de Azul de Comassie 0,2 % e, em seguida, mergulhado em solução de ácido acético a 7% para retirar o excesso de corante, até que as frações protéicas se apresentassem nítidas. Os

²¹ Vicryl 2- Johnson & Johnson Ltda.

pesos moleculares e as concentrações das frações protéicas foram determinados em vídeo densitômetro computadorizado²². Para a identificação das proteínas, utilizou-se uma solução marcadora de referência²³ com diferentes pesos moleculares de 20 kilodáltons (20kD), 24 kD, 29 kD, 45 kD, 55 kD, 66 kD, 97 kD, 116 kD e 205 kD e por comparação pela mobilidade eletroforética da albumina purificada, IgG, haptoglobina, transferrina, ceruloplasmina e alfa-1 antitripsina. Para a avaliação densitométrica das bandas protéicas, serão confeccionadas curvas de referência a partir da leitura do marcador padrão, bem como da mobilidade eletroforética supracitada (figura 9).

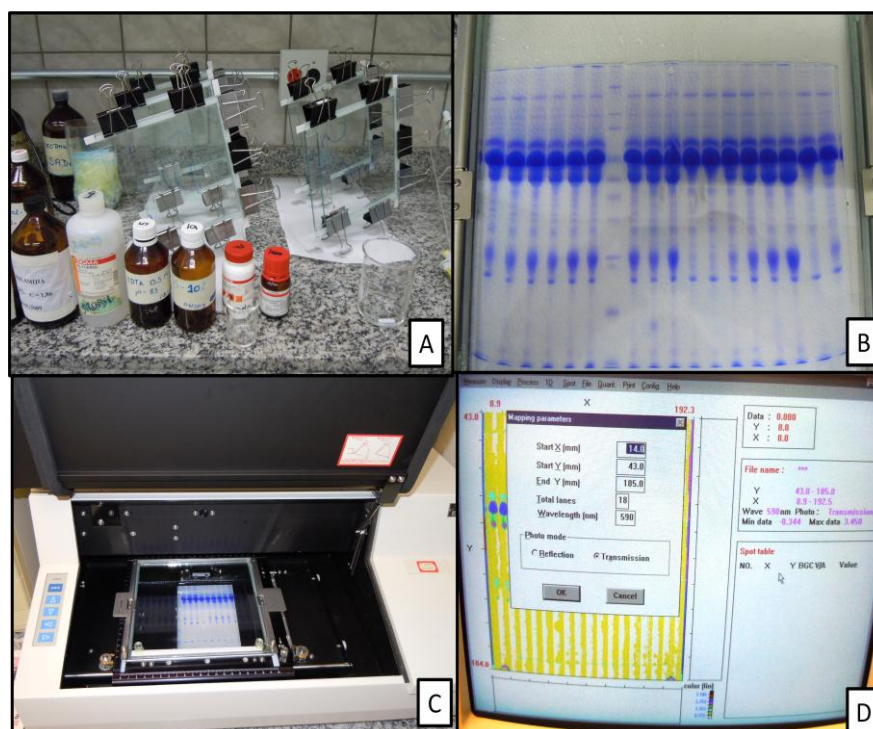


FIGURA 9 - Proteínas de fase aguda. A- materiais utilizados para a confecção do gel de poliacrilamida; B- aparência do gel após a corrida e coloração com azul de *Comassie*; C- leitura do gel em vídeo densitômetro; D- confecção dos gráficos baseados nos pesos moleculares das proteínas fracionadas.

²² Shimadzu® CS9301, Tóquio, Japão

²³ Sigma® S8445, St. Louis, EUA

4.2.5 Avaliações do líquido peritoneal

A colheita de líquido peritoneal foi realizada na região da linha média, local previamente submetido à tricotomia para exame ultrassonográfico. Optou-se por realizar a primeira tentativa de punção na região mais ventral do abdômen. Caso fosse improdutiva, buscava-se outro ponto da linha alba, ou utilizava-se como opção a colheita guiada por ultrassom. Utilizaram-se para a colheita agulhas 40 x12 mm, tubo seco, tubo contendo EDTA e tubo contendo citrato (figura 10).

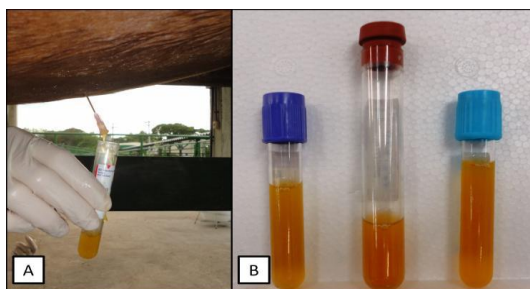


FIGURA 10 - Líquido peritoneal A- colheita; B- amostra fracionada nos tubo com EDTA, seco e com citrato (da esquerda para direita).

As amostras de líquido peritoneal foram submetidas à avaliação macroscópica, físico-química, citológica, teste ELISA para mensuração dos valores de tPA²⁴ e PAI-1²⁵, aglutinação em látex para aferição dos valores do dímero D²⁶ e análise eletroforética para as PFA. As avaliações do líquido peritoneal foram realizadas nos mesmos momentos dos exames hematológicos e ultrassonográficos, sendo:

- M0:** previamente a cirurgia;
- M1:** 12 horas após a cirurgia;
- M2:** 1 dia após a cirurgia;
- M3:** 2 dias após a cirurgia;
- M4:** 4 dias após a cirurgia;
- M5:** 6 dias após a cirurgia;
- M6:** 10 dias após a cirurgia;
- M7:** 14 dias após a cirurgia.

As amostras do líquido peritoneal foram coletadas em tubos contendo citrato de sódio a 3,8% na proporção de 9 volumes de líquido para 1 volume de anticoagulante.

²⁴ Human tPA activity assay, Molecular Innovations SPSS Inc, Chicago, IL

²⁵ Human PAI-1 activity assay, Molecular Innovations SPSS Inc, Chicago, IL

²⁶ D Dimer test – Horiba medical Ltd.

Para avaliação dos dímeros d, tPA e PAI foram imediatamente centrifugadas, respectivamente em 1000G, 2500G e 3000G durante 15 minutos.

Após a centrifugação as amostras eram fracionadas em tubos *ependorf*, sendo as referentes ao dímero D refrigeradas à -20°C, respeitando-se o limite de um mês para o processamento da amostra, as referentes ao tPA foram refrigeradas durante quatro meses à -70°C e as referentes ao PAI-1 foram refrigeradas durante um mês a -70°C.

As análises do dímero D foram realizadas através do teste de aglutinação do látex (D Dimer test¹³), conforme as orientações do fabricante, e as concentrações do tPA e PAI-1 foram determinadas através de teste ELISA (Human tPA activity assay¹⁴ e Human PAI-1 activity assay¹⁵), conforme as orientações do fabricante.

4.2.6 Avaliação ultrassonográfica

Realizou-se a tricotomia da região abdominal com máquina de tosquia²⁷ acoplada à lâmina número 40. A tricotomia compreendeu a região abdominal esquerda, da região caudal do pulmão até a tuberosidade coxal, tendo como limite dorsal as apófises vertebrais e ventral, a linha média. Posteriormente, realizaram-se a limpeza da pele e a aplicação do gel.

Utilizou-se o aparelho de ultrassom²⁸ com transdutor convexo para avaliação do cólon menor, com frequência de 4,5 MHz e ganho entre 25-35 %. Para avaliação do peritônio, utilizou-se o transdutor linear com frequência de 13 MHz e ganho entre 80-90%.

No exame ultrassonográfico, avaliou-se o cólon menor (figura 11), peritônio e líquido livre. Para tanto, se utilizou como ponto de referência o rim esquerdo, visto que o cólon menor normalmente se localiza caudal ao mesmo e dorsal à flexura pélvica. O cólon menor foi avaliado quanto a sua localização topográfica, arquitetura do órgão e espessamento de parede.

²⁷ Golden A5- Oster, Jarden corporation, USA.

²⁸ My Lab 70 Vet® - ESAOTE, Italia.

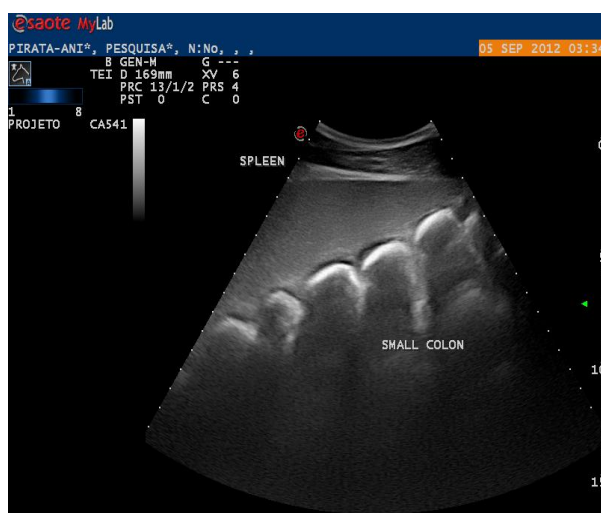


FIGURA 11 - Aspecto ultrassonográfico do cólon menor.

O peritônio parietal foi avaliado na porção ventral do abdômen, na linha média (figura 12). Avaliou-se a presença de irregularidades, deposição de fibrina e espessamentos em decorrência do quadro inflamatório peritoneal. Na mesma região, avaliou-se a presença de líquido livre no abdômen, quanto à quantidade, ecogenicidade e presença de debris.

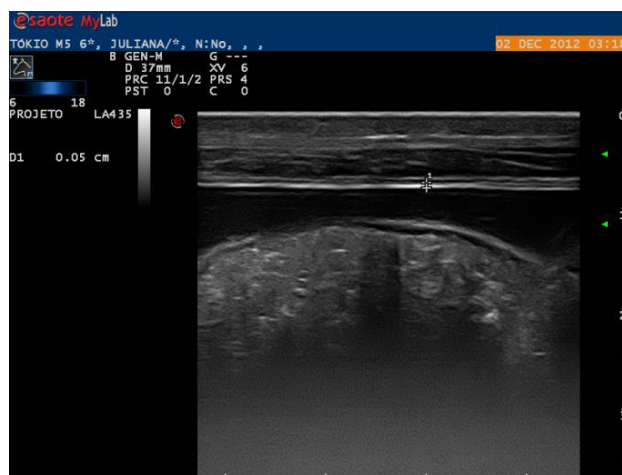


FIGURA 12- Imagem ultrassonográfica da parede abdominal na região ventral do abdômen, em detalhe realizava-se a mensuração do peritônio.

O exame ultrassonográfico da região da região ventral do abdômen visou ainda, avaliar a região da musculatura e subcutâneo adjacentes à linha média para detectar a presença de edema e celulite ou infecção do subcutâneo em decorrência das punções repetidas e/ou punções intestinais acidentais.

Para padronização dos achados ultrassonográficos realizou-se um esquema de graduação para quantificação do líquido peritoneal e avaliação de sua ecogenicidade.

Graduação da quantidade de líquido peritoneal livre:

Devido ao fato de o exame ultrassonográfico ser um exame dinâmico, observou-se que durante o peristaltismo intestinal havia variação na distância preenchida por líquido entre o peritônio e a víscera adjacente a região ventral, optando-se por não utilizar esta distância como medida de quantificação do mesmo e sim a associação dos achados dos vídeos, anotações e imagens obtidas no exame ultrassonográfico.

Dessa forma, baseado nos achados de exame dinâmico das seguintes imagens, padronizou-se:

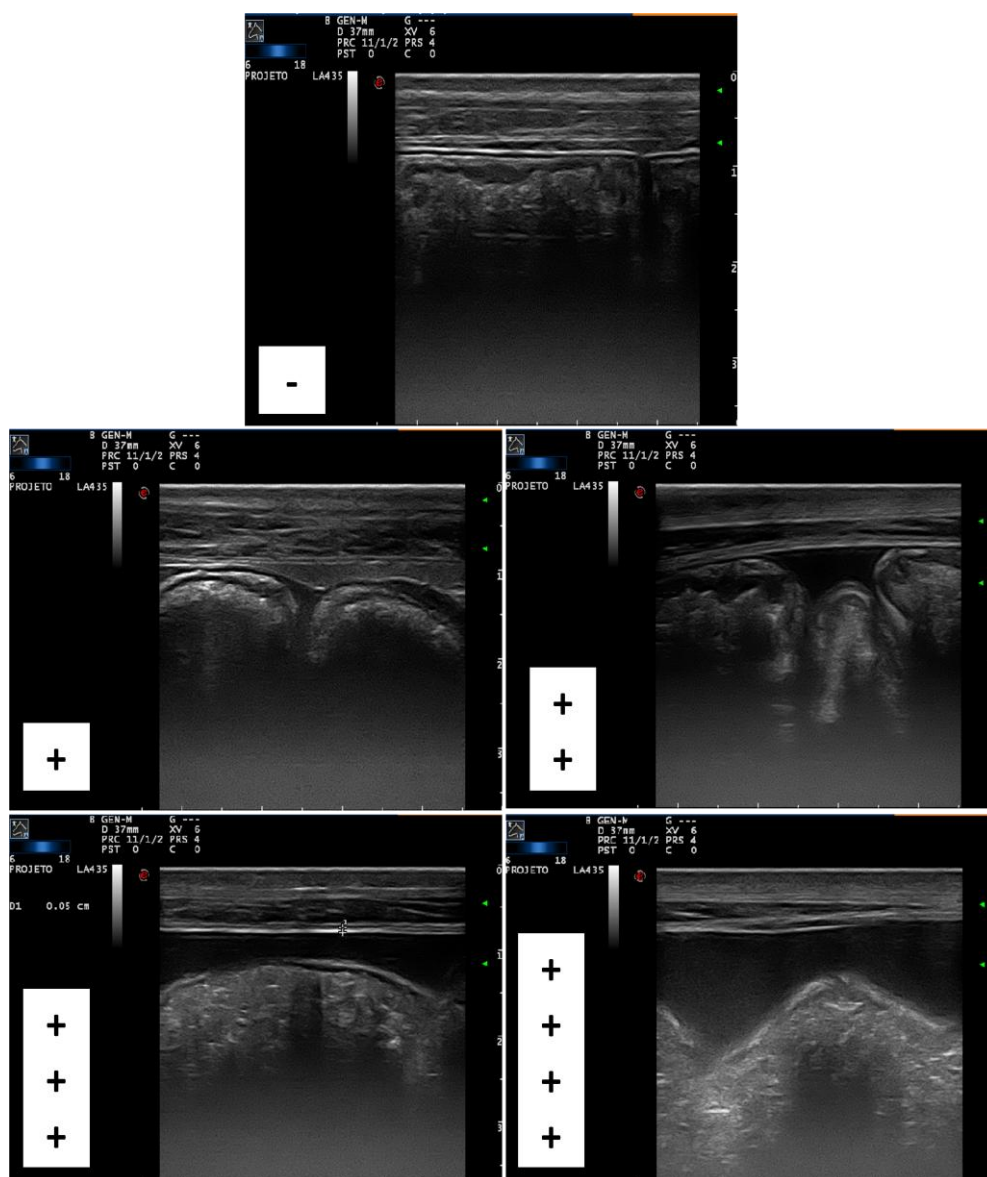


FIGURA 13- Esquema de graduação da quantidade de líquido peritoneal livre no abdômen em cruzes. Representando: - (reduzida), + (normalidade), ++ (discretamente aumentado), +++ (moderadamente aumentado), ++++ (intensamente aumentado).

A normalidade foi padronizada como a imagem mais frequentemente observada nos animais previamente a intervenção cirúrgica.

Gradação da ecogenicidade do líquido peritoneal livre:

A ecogenicidade foi graduada em sistema de *score* (figura 14), sendo a normalidade estabelecida como o aspecto do líquido peritoneal previamente ao procedimento cirúrgico.

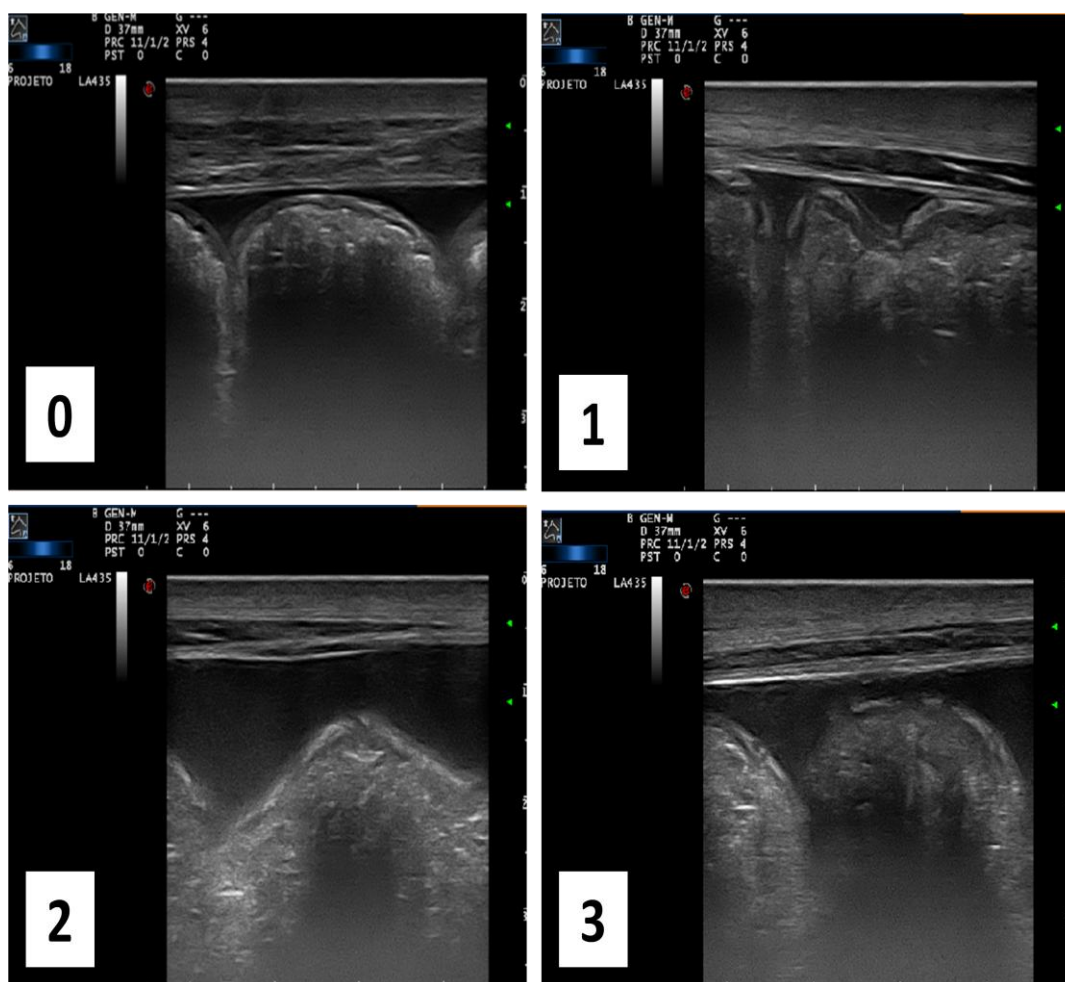


FIGURA 14- Esquema demonstrativo da gradação da ecogenicidade do líquido peritoneal. Sendo, 0- (normalidade), 1 (discreto aumento), 2 (leve aumento), 3 (moderado aumento associado à presença de debris celulares).

Momentos avaliados:

M0: previamente à cirurgia;

M1: 12 horas após a cirurgia;

M2: 1 dia após a cirurgia;

M3: 2 dias após a cirurgia;

M4: 4 dias após a cirurgia;

M5: 6 dias após a cirurgia;

M6: 10 dias após a cirurgia;

M7: 14 dias após a cirurgia.

4.2.7 Avaliação laparoscópica

Após 15 dias do procedimento cirúrgico inicial, o animal realizou nova preparação cirúrgica, consistindo na administração de 700g de Sulfato de Magnésio²⁹ 36 horas antes do procedimento e jejum de 24 horas com intuito de esvaziamento do cólon menor a fim de proporcionar maior facilidade de manuseio das alças. Previamente ao ato cirúrgico, realizou-se tricotomia na região do abdômen esquerdo, tendo como limite caudal a tuberosidade coxal, cranial, a 15º costela, e dorsal, as apófises transversas. Procedeu-se a palpação por via retal a fim de se avaliar a topografia anatômica no local de interesse da inserção das cânulas. A cauda foi protegida por atadura crepe e procedimento foi realizado com o animal em estação quadrupedal com protocolo de sedação idêntico ao utilizado na laparotomia.

Para avaliação da cavidade abdominal, o equipamento laparoscópico foi composto por: insuflador eletrônico de CO₂³⁰, fonte de luz de Xenon de 180 W³¹, cabo de iluminação³², microcâmera com processador³³, endoscópio rígido de 10 mm de diâmetro, 57 cm de comprimento de 0 e 30º de angulação³⁴, cânula EndoTIP TM de 10 mm para acesso videoassistido³⁵, instrumental cirúrgico laparoscópico e instrumental cirúrgico convencional, monitor TV³⁶, sistema de gravação de imagens composto por placa de captura³⁷ e computador portátil³⁸ (figura 15).

²⁹ Vetec- Sigma Aldrich Co.

³⁰ Insuflador eletrônico - Astustec

³¹ Fonte de Luz, Nova 175, Karl Storz Endoskope

³² Cabo de Luz, Karl Storz Endoskope

³³ Micricâmera Karl Storz Endoskope

³⁴ Óptica Karl Storz Endoskope

³⁵ EndoTIP - Karl Storz Endoskope

³⁶ Monitor TV Phillips, 21,5"

³⁷ Placa de captura USB, Pixel View.

³⁸ Acer 4250-0806



FIGURA 15- Equipamento utilizado para a execução da vídeo-cirurgia. A- rack contendo monitor de TV, computador portátil e placa de captura, câmera, luz de xenon, insuflador de CO₂, no break e cilindro de CO₂.

O exame foi procedido conforme descrito no projeto piloto. Foi estabelecida uma sequência sistemática de avaliação da cavidade abdominal a fim de se realizar uma exploração completa das estruturas passíveis de observação através do acesso esquerdo.

Realizou-se uma avaliação detalhada do cólon menor e da região da enterotomia através da manipulação dos segmentos. Após a identificação da região da enterotomia, realizou-se uma alavanca com as pinças *Babcock*, dando suporte ao mesocólon na região dorsal e possibilitando o avanço da óptica ao lado direito do abdômen a fim de se observar a região da ferida cirúrgica da laparotomia. As imagens foram armazenadas para posterior avaliação.

Após a retirada das cânulas procedeu-se a síntese de pele conforme descrito no piloto em padrão simples separado com fio nylon 0³⁹.

Com objetivo de facilitar a avaliação das imagens obtidas padronizou-se *scores* de reatividade peritoneal difusa, sendo 0 (ausência de reatividade difusa), 1 (discreta reatividade difusa), 2 (moderada reatividade difusa) (figura 16).

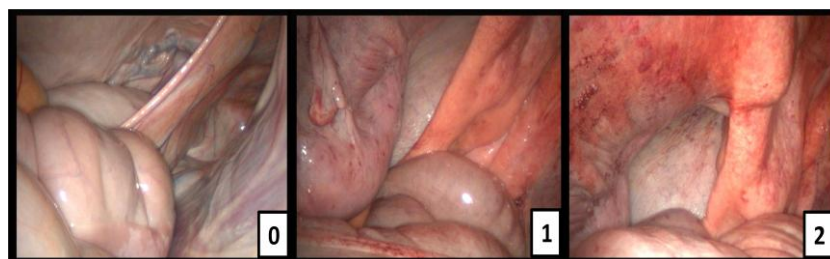


FIGURA 16 - Sistema de graduação da reatividade peritoneal difusa, sendo 0 (ausência de reatividade difusa), 1 (discreta reatividade difusa), 2 (moderada reatividade difusa).

³⁹ Mononylon 0 – Brasuture suturas cirúrgicas

4.2.8 Apoio Técnico

As avaliações de hemograma, fibrinogênio, coagulograma, macroscopia, físico-química e citologia do líquido peritoneal foram realizadas no Laboratório Clínico Veterinário da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia - UNESP, Botucatu – SP com a colaboração da Prof. Adj. Dr. Regina Kiomi Takahira.

As análises das proteínas de fase aguda foram realizadas no Laboratório Clínico Veterinário do Departamento de Clínica Veterinária da FMVZ – Unesp, Campus Botucatu, com a colaboração da Profa. Ass. Dra Elizabeth Moreira dos Santos Schmidt e no Laboratório de Pesquisa do Departamento de Clínica e Cirurgia Veterinária da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – Unesp, Campus Jaboticabal, com a colaboração do Prof. Titular Dr. José Jurandir Fagliari.

Os testes ELISA foram realizados com a colaboração da Prof. Tit. Dra. Ângela Maria Victoriano de Campos Soares, docente do Departamento de Microbiologia e Imunologia do Instituto de Biociências da UNESP, Campus de Botucatu.

4.2.9 Análise estatística

A distribuição das variáveis-resposta foi analisada como um dos critérios para escolha do método analítico. Devido à presença de graus variados de assimetria e desvios de um padrão Gaussiano de distribuição, o teste de Wilcoxon (PAGANO & GAUVREAU, 2000) foi utilizado para comparar a mediana de cada variável-resposta entre os grupos de estudo. Posteriormente, a comparação entre grupos foi realizada em cada momento. Para cada grupo, o teste de Wilcoxon para amostras pareadas (PAGANO & GAUVREAU, 2000) foi usado para comparar a mediana de cada variável entre cada momento e o momento inicial. A análise estatística foi realizada com o procedimento PROC NPAR1WAY (SAS Institute, 2009) e a significância estatística foi definida como $P < 0.05$.

5 RESULTADOS

5.1 Projeto Piloto

No experimento 1 do projeto piloto houve dificuldade de identificação da região submetida a abrasão peritoneal, optando-se pela realização do experimento 2, onde acrescentou-se a enterotomia, resultando em maior reatividade peritoneal.

A realização da enterotomia propiciou fácil identificação do segmento e desencadeou maior reatividade peritoneal. Desta forma delineou-se que no projeto de pesquisa os animais seriam submetidos não somente a abrasão mas também a enterotomia de cólon menor.

5.2 Exame Físico

Houve diferença significativa entre os grupos quando compararam se todos os momentos associados para os parâmetros de frequência cardíaca ($p < 0,0002$), sendo os valores do GT maiores que os do GC e ligeiramente acima da normalidade (28-40 bpm – FEITOSA, 2008) (tabela 1). Para a frequência respiratória ($p < 0,0254$), observou-se comportamento semelhante, sendo os valores do GT maiores que os do GC e ligeiramente acima da normalidade (8-16 mpm- FEITOSA, 2008) (tabela 1). A temperatura retal ($p < 0,0002$) apresentou-se significativamente mais elevada no GT, entretanto, dentro da normalidade para ambos os grupos (tabela 1).

TABELA 1 - Comparação da frequência cardíaca (FC), frequência respiratória (FR) e temperatura retal (°C) entre o grupo controle (GC) e o grupo tratado (GT) associando-se todos os momentos.

Grupos	FC (bpm)			FR (mpm)			Temperatura (° C)		
	Mediana	Q1	Q3	Mediana	Q1	Q3	Mediana	Q1	Q3
GC	36*	36	40	16*	16	20	37,3*	37,1	37,8
GT	44*	38	44	20*	16	22	37,8*	37,5	38,4

* diferença significativa entre os grupos ($p < 0,05$). Q1= primeiro quartil; Q3= terceiro quartil.

Não se observou diferença significativa entre os grupos no M1, entretanto ocorreu hipertermia (temperatura $> 38,3$ °C – FREEMAN, *et al*, 2012) nos animais de ambos os grupos. Observou-se ainda que a temperatura corporal apresentou diferença

significativa entre os grupos no M5 ($p < 0,0347$), porém dentro do padrão de normalidade (tabela 2).

TABELA 2 - Comparação dos valores da temperatura retal (°C) entre o Grupo Controle (GC) e o Grupo Tratado (GT) nos diferentes momentos.

Temperatura retal (°C)						
Momento	Grupo Controle			Grupo Tratado		
	Mediana	Q1	Q3	Mediana	Q1	Q3
M0	37,3	37,3	37,5	37,8	37,5	37,8
M1	38,3	38,1	38,8	38,8	38,4	38,9
M2	37,2	37,1	38,3	38,1	37,5	38,4
M3	37,8	37,5	37,8	38,4	37,6	38,5
M4	37,2	37,2	37,2	38,1	37,7	38,3
M5	36,8*	36,8	37	37,5*	37,5	37,7
M6	37,2	37,1	37,2	37,5	37,4	37,5
M7	37,2	37,1	37,4	37,5	37,4	37,6

* diferença significativa entre os grupos ($p < 0,05$). Q1= primeiro quartil; Q3= terceiro quartil.

Os valores de FC e FR não diferiram entre os grupos nos diferentes momentos (tabela 18).

A coloração de mucosas para ambos os grupos apresentou-se ictérica entre 24-48h de pós-operatório. Os animais do grupo tratado com heparina apresentaram mucosas pálidas a partir do 4º dia até o 7-8º dia de pós-operatório.

Não houve diferença significativa de motilidade pós-operatória entre os grupos, sendo observada para ambos, uma diminuição da motilidade nas primeiras 12 horas após a cirurgia.

5.3 Avaliações hematológicas

5.3.1 Eritrograma

O volume corpuscular médio apresentou-se significativamente mais elevado no GT ($p < 0,0002$) quando compararam-se todos os momentos associados, entretanto

manteve-se no intervalo de normalidade (37-58 fl- FELDMAN, 2000) para ambos os grupos (tabela 3).

TABELA 3 - Comparação dos valores do volume corpuscular médio (VCM) entre o grupo controle (GC) e o grupo tratado (GT) associando-se todos os momentos.

Grupos	VCM (fl)		
	Mediana	Q1	Q3
GC	46,7*	45,7	47,4
GT	51,5*	47,5	56,7

* diferença significativa entre os grupos ($p < 0,05$). Q1= primeiro quartil; Q3= terceiro quartil.

O número de hemácias e valor de hematócrito e hemoglobina apresentaram-se diminuídos para o grupo tratado, porém não houve diferença significativa entre os grupos quando se compararam todos os momentos combinados (tabela 19).

No M3 observou-se diferença significativa ($p < 0,0358$) entre os grupos para a variável hemácia (tabela 4), estando os animais do GT com contagem eritrocitária abaixo do padrão de normalidade ($6,8-12,9 \times 10^6$ hemácias/ μ L- FELDMAN, 2000). Os valores de hemoglobina do grupo tratado apresentaram-se abaixo do padrão de normalidade (11,0-19,0 g/dL- FELDMAN, 2000) e significativamente reduzidos em relação ao grupo controle no M4 ($p < 0,0160$) e M5 ($p < 0,0345$) (tabela 4).

Houve uma diferença significativa entre os grupos nos valores de hematócrito no M4, que se apresentaram abaixo da referência de normalidade (32-53 %- FELDMAN, 2000) e significativamente menores no GT ($p < 0,0216$) (tabela 4).

O VCM apresentou-se significativamente elevado no GT em relação ao GC no M2 ($p < 0,0369$) e M3 ($p < 0,0369$). Entretanto nestes momentos apresentou-se dentro do padrão de normalidade (37-58 fl- FELDMAN, 2000), fato não observado no M4 e M5, onde, porém não houve diferença significativa entre os grupos (tabela 4).

O CHCM não variou entre os grupos quando se combinaram os momentos ou nos diferentes momentos, permanecendo dentro do valor de normalidade (31-38 % - FELDMAN, 2000) (tabela 19).

Momento	Grupo Controle			Grupo Tratado		
	Mediana	Q1	Q3	Mediana	Q1	Q3
M0	45,4	45,2	47,6	47,5	46,4	48,0
M1	46,7	46,4	46,9	48,0	47,9	51,6
M2	46,9*	44,5	47,0	52,0*	49,8	58,0
M3	46,2*	45,5	47,2	56,7*	53,1	64,6
M4	46,0	45,0	46,7	400,2	69,4	731,0
M5	46,8	46,0	48,5	60,8	53,3	68,2
M6	47,8	47,4	47,8	46,8	44,0	48,7
M7	46,2	45,7	46,7	48,3	47,0	49,9

* diferença significativa entre os grupos ($p < 0,05$). Q1= primeiro quartil; Q3= terceiro quartil.

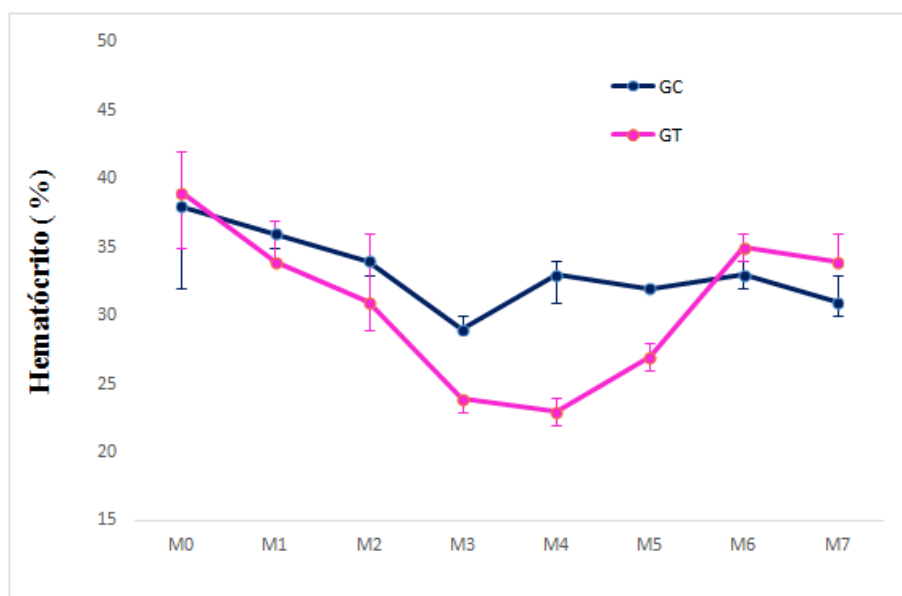


FIGURA 17 - Comparação das medianas do hematócrito entre os grupos nos diferentes momentos. As barras de erro representam o primeiro e terceiro quartil.

5.3.2 Contagem de plaquetas, proteínas totais e fibrinogênio

Foram observados valores significativamente ($p < 0,0043$) menores de plaquetas no GT (tabela 5), sendo esta diferença mais significativa no M3 ($p < 0,0749$) e no M4 ($p < 0,0216$) (tabela 6).

Apesar da diferença significativa da contagem plaquetária não se observaram valores abaixo da normalidade ($100-350 \times 10^3$ plaquetas – FELDMAN, 2000) para nenhum dos grupos.

TABELA 5 - Comparação da contagem de plaquetas entre o Grupo Controle (GC) e o Grupo Tratado (GT) associando-se todos os momentos.

Plaquetas ($\times 10^3$)			
Grupos	Mediana	Q1	Q3
GC	199*	156	239
GT	164*	133	198

* diferença significativa entre os grupos ($p < 0,05$). Q1= primeiro quartil; Q3= terceiro quartil.

TABELA 6 - Comparação da contagem de plaquetas entre o Grupo Controle (GC) e o Grupo Tratado (GT) nos diferentes momentos.

Plaquetas ($\times 10^3$)						
Grupo Controle				Grupo Tratado		
Momento	Mediana	Q1	Q3	Mediana	Q1	Q3
M0	159	154	191	200	192	214
M1	214	125	262	180	179	196
M2	201	143	227	166	165	175
M3	212	148	224	120	116	145
M4	219*	166	238	145*	142	154
M5	169	148	238	163	131	164
M6	197	174	237	204	150	204
M7	240	189	391	202	192	215

* diferença significativa entre os grupos ($p < 0,05$). Q1= primeiro quartil; Q3= terceiro quartil.

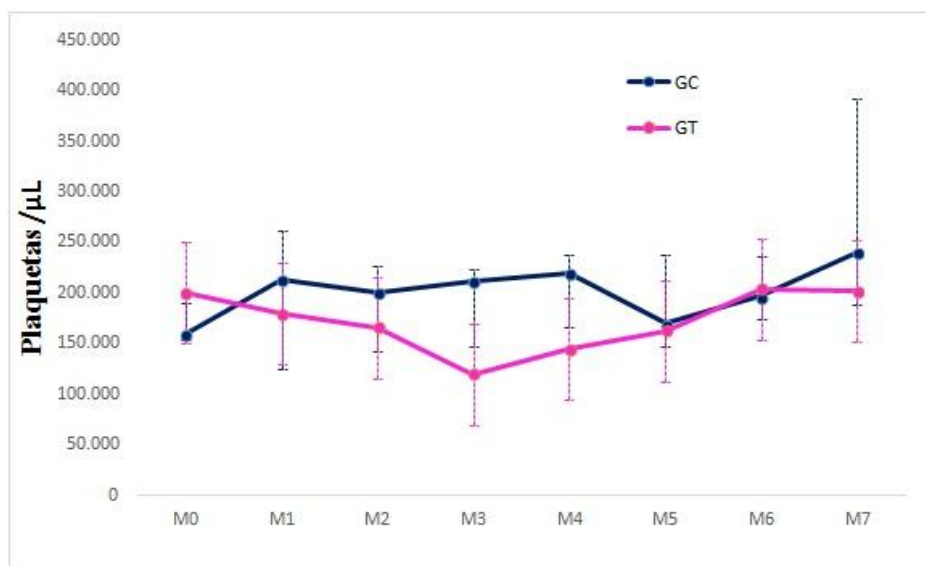


FIGURA 18 - Comparação das medianas do número de plaquetas entre os grupos nos diferentes momentos. As barras de erro representam o primeiro e terceiro quartil.

Houve diferença significativa entre os grupos quando se compararam todos os momentos associados para a proteína total ($p < 0,0001$), sendo os valores de PT maiores para o GT (tabela 7). No M5 observou-se diferença significativa entre os grupos ($p < 0,0486$ (tabela 8). Em nenhum momento a concentração de proteínas desviou-se do padrão de normalidade (5,8-8,7 g/dL– FELDMAN, 2000).

Não houve diferença estatística para o fibrinogênio, porém observou-se que o GT apresentou valores ligeiramente mais elevados (tabelas 20 e 21), extrapolando o padrão de normalidade (100-400 mg/dL FELDMAN, 2000) no M6 para o GC, e no M2, M3 e M5 para o GT.

TABELA 7 - Comparação dos valores séricos das proteínas totais entre o Grupo Controle (GC) e o Grupo Tratado (GT) associando-se todos os momentos.

Grupos	Proteína total (g/dL)		
	Mediana	Q1	Q3
GC	7,0*	6,8	7,4
GT	7,6*	7,2	7,8

* diferença significativa entre os grupos ($p < 0,05$). Q1= primeiro quartil; Q3= terceiro quartil.

TABELA 8 - Comparação dos valores séricos da proteína total entre o Grupo Controle (GC) e o Grupo Tratado (GT) nos diferentes momentos.

Momento	Proteína total (g/dL)					
	Grupo Controle			Grupo Tratado		
	Mediana	Q1	Q3	Mediana	Q1	Q3
M0	7,4	7,0	7,6	8,0	7,8	8,0
M1	7,2	7,0	7,4	7,8	7,6	7,8
M2	7,4	7,0	7,6	7,4	7,4	8,0
M3	7,0	6,8	7,0	7,2	7,2	7,2
M4	7,0	7,0	7,2	7,4	7,2	7,8
M5	6,8*	6,8	6,8	7,8*	7,0	7,8
M6	7,2	7,2	7,2	7,6	7,2	7,8
M7	6,8	6,6	7,2	7,4	7,2	7,6

* diferença significativa entre os grupos ($p < 0,05$). Q1= primeiro quartil; Q3= terceiro quartil.

5.3.3 Leucograma

Não foram observadas diferenças significativas entre os grupos para todas as variáveis avaliadas (tabela 22 e 23).

Entretanto, observou-se leucocitose (>14500 células – FELDMAN, 2000) para ambos os grupos após 12 horas de cirurgia, ocorrendo aumento da contagem de neutrófilos, excedendo o valor de normalidade (2260 a $8580\mu\text{l}/\%$ – FELDMAN, 2000), caracterizando neutrofilia discreta à moderada.

Observou-se maior quantidade de eosinófilos para os animais do GC, sendo tal diferença devida à presença de dois animais no GC que apresentaram elevada contagem de eosinófilos, ultrapassando o valor de normalidade (0 a $1.000\mu\text{l}/\%$ – FELDMAN, 2000).

Os monócitos apresentaram-se dentro da normalidade para ambos os grupos (0- $1000\mu\text{L}/\%$ - FELDMAN, 2000), entretanto apresentaram-se discretamente mais elevados para o GC.

A contagem de bastonetes, linfócitos e basófilos apresentaram dentro de padrão de normalidade de respectivamente: 0-100; 2260-8580; 0-290 $\mu\text{L}/\%$ - FELDMAN, 2000)

5.3.4 Coagulograma

O TP apresentou-se acima do valor basal de referência (9,5-11,5 segundos LOPES, *et al*, 2007; PARRY, 2009) desde o M0 para ambos os grupos e não apresentou diferença significativa entre os grupos ou momentos (tabela 24 e 25). Para o TTPa houve diferença significativa entre os grupos quando se compararam todos os momentos associados ($p < 0,0100$) (tabela 9).

TABELA 9 - Comparação do tempo de tromboplastina parcial ativado (TTPa) entre o grupo controle (GC) e o grupo tratado (GT) associando-se todos os momentos.

Grupos	TTPa (segundos)		
	Mediana	Q1	Q3
GC	52*	47	57
GT	57*	51	72

* diferença significativa entre os grupos ($p < 0,05$). Q1= primeiro quartil; Q3= terceiro quartil.

Observou-se que ao longo do tratamento com heparina os valores de TTPa eram maiores para o GT, havendo diferença significante no M3 (tabela 10), valor este 1,45 vezes maior que o basal e acima do valor de normalidade (21-45 segundos- LOPES, *et al*, 2007; PARRY, 2009)

TABELA 10 - Comparação do tempo de tromboplastina parcial ativado (TTPa) entre o grupo controle (GC) e o grupo tratado (GT) nos diferentes momentos.

Momento	TTPa (segundos)					
	Grupo Controle			Grupo Tratado		
	Mediana	Q1	Q3	Mediana	Q1	Q3
M0	56	45	60	60	55	62
M1	48	47	55	60	47	65
M2	57	55	60	80	53	98
M3	52*	50	55	87*	75	91
M4	52	50	56	54	51	80
M5	52	50	53	52	46	52
M6	52	47	58	57	51	62
M7	52	50	52	52	50	52

* diferença significativa entre os grupos ($p < 0,05$). Q1= primeiro quartil; Q3= terceiro quartil.



FIGURA 19 - Comparação das medianas para o TTPa. As barras de erro representam o primeiro e terceiro quartil.

5.3.5 Concentrações séricas das proteínas de fase aguda

Dentre as PFA avaliadas no soro, obteve-se diferença significativa entre os grupos para a PCR ($p < 0,0031$), haptoglobina ($p < 0,0016$) e proteína não identificada ($p < 0,0186$) quando se comparam todos os momentos associados (tabela 11).

TABELA 11 - Comparação das concentrações séricas da proteína C reativa, proteína não identificada nominalmente de 23kDa e da haptoglobina entre o Grupo Controle (GC) e o Grupo Tratado (GT) em mg/dL, associando-se todos os momentos.

Grupos	Proteína C Reativa			Proteína não identificada			Haptoglobina		
	Mediana	Q1	Q3	Mediana	Q1	Q3	Mediana	Q1	Q3
GC	15,3*	9,9	17,7	816,1*	648,1	974,3	11,7*	7,3	17,3
GT	9,9*	7,2	13,0	946,6*	827,5	1089,3	23,3*	10,6	38,6

* diferença significativa entre os grupos ($p < 0,05$). Q1= primeiro quartil; Q3= terceiro quartil.

Observou-se diferença significativa entre os grupos no M2 para a PCR ($p < 0,037$) e para haptoglobina no M6 ($p < 0,0367$) (tabela 12).

Não houve diferença significativa entre os grupos para as demais proteínas avaliadas (tabela 26) quando se associaram todos os momentos.

TABELA 12 - Comparação das concentrações séricas da Haptoglobina e Proteína C reativa entre o Grupo Controle (GC) e o Grupo Tratado (GT) nos diferentes momentos em mg/dL.

Momento	Haptoglobina (mg/dL)					
	Grupo Controle			Grupo Tratado		
	Mediana	Q1	Q3	Mediana	Q1	Q3
M0	9,6	9,1	19,2	26,3	22,5	33,0
M1	17,0	7,3	19,6	29,2	25,0	49,4
M2	13,8	12,3	27,7	29,4	23,5	46,0
M3	15,5	11,0	22,0	12,7	9,0	18,9
M4	8,6	6,8	9,3	23,1	10,7	32,8
M5	12,9	3,6	15,0	16,4	9,2	36,5
M6	9,6*	8,1	12,7	29,8*	22,2	45,1
M7	7,3	6,5	12,1	16,7	12,0	38,8

Momento	Proteína C Reativa (mg/dL)					
	Grupo Controle			Grupo Tratado		
	Mediana	Q1	Q3	Mediana	Q1	Q3
M0	17,4*	16,5	17,8	7,4*	4,6	11,8
M1	11,7*	8,7	16,6	10,4*	6,9	12,9
M2	15,3	9,5	15,4	7,6	4,6	8,4
M3	16,6	10,8	17,8	6,3	5,8	9,4
M4	13,6	12,7	17,3	11,6	9,8	13,5
M5	13,7	13,1	15,4	13,1	12,1	17,2
M6	18,1	12,1	19,6	9,8	9,0	12,2
M7	15,3	8,3	17,6	11,1	9,7	15,4

* diferença significativa entre os grupos ($p < 0,05$). Q1= primeiro quartil; Q3= terceiro quartil.



FIGURA 20 - Comparação das medianas das concentrações séricas da haptoglobina. As barras de erro representam o primeiro e terceiro quartil.

Não houve diferença significativa entre os grupos nos diferentes momentos para as demais proteínas de fase aguda (tabela 27).

5.4 Avaliações do líquido peritoneal

Nos animais cuja punção resultou em enterocentese acidental foi observada à ocorrência de edema na região ventral do abdômen sem sinais clínicos ou ultrassonográficos da ocorrência de infecção.

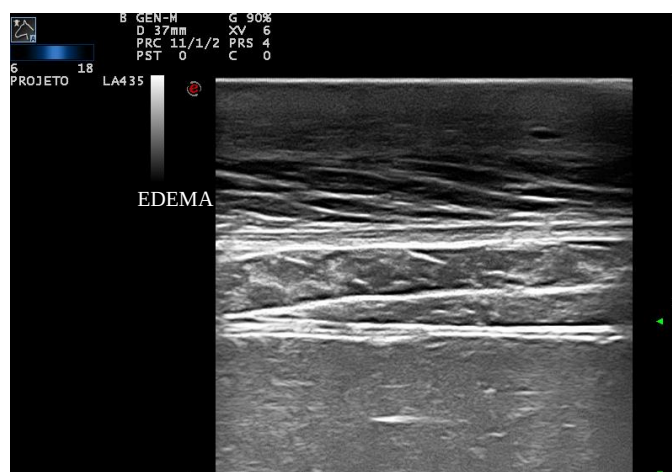


FIGURA 21 - Imagem ultrassonográfica de região ventral do abdômen, sendo possível observar a presença de edema no subcutâneo.

5.4.1 Avaliação macroscópica e físico-química

O fluido peritoneal colhido previamente à cirurgia apresentou-se dentro da normalidade: límpido à ligeiramente turvo.

Após 12 horas da cirurgia todas as amostras apresentaram se avermelhadas e, após sedimentação eritrocitária apresentavam a formação de uma camada de células nucleadas que se tornava ainda mais evidente após a centrifugação.

Para os animais do grupo tratado, observou-se a manutenção da coloração avermelhada ao longo do período de tratamento. Obtendo-se diferença significativa entre os grupos ($p < 0,0470$), sendo 48 % das amostras do GC avermelhadas e 72 % das amostras do GT avermelhadas. Nas análises subsequentes, o fluido peritoneal adquiriu gradativamente a diminuição da turbidez e coloração tendendo a normalidade (figura 23).

Observou-se a ocorrência de coagulação positiva em amostras de apenas um animal (8,57% das amostras), sendo este animal do grupo tratado.

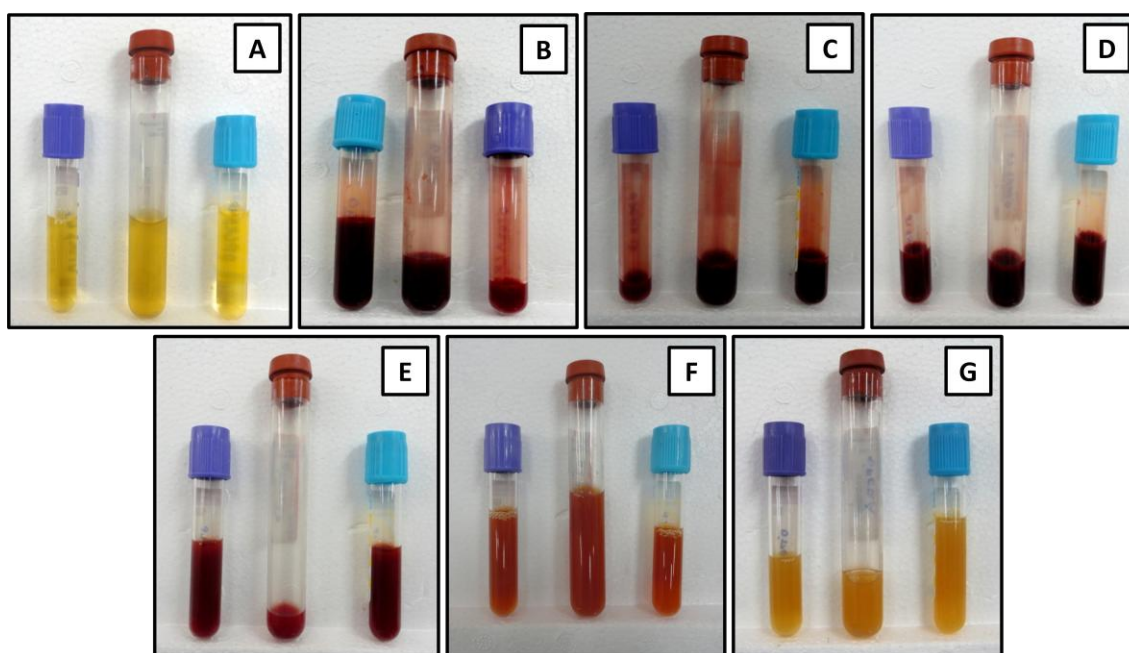


FIGURA 22 - Evolução da coloração e aspecto do líquido peritoneal para o GT. A- prévio à cirurgia; B- 12 horas após a cirurgia; C- 2 dias após a cirurgia; D- 4 dias após a cirurgia; E- 6 dias após a cirurgia; F- 10 dias após a cirurgia; G- 14 dias após a cirurgia.

Não houve diferença significativa entre os grupos quando se associaram todos os momentos ou quando se compararam os grupos nos diferentes momentos para as variáveis densidade, p.H., glicose, aspecto, proteína ou fibrinogênio (tabela 28 e 29).

Entretanto houve indícios do consumo de glicose no pós-operatório para ambos os grupos, sendo observados valores inferiores à normalidade.

A concentração de proteínas e fibrinogênio elevou-se no pós-operatório, apresentando-se além do padrão de normalidade (1,6 g/dL e 50 mg/dL respectivamente- THOMASSIAN, 2005) para ambos os grupos.

Apesar de não haver diferença entre os grupos nos diferentes momentos, o fibrinogênio demonstrou-se ligeiramente mais elevado no GT. Após a laparotomia, e até o 6º dia de pós-operatório ambos os grupos apresentaram valores de fibrinogênio acima da normalidade (< 50 mg/dL- THOMASSIAN, 2005).

5.4.2 Citologia

Não houve diferença significativa entre os grupos quando se compararam todos os momentos associados ou em diferentes momentos, entretanto observou-se que os animais do GT apresentaram valores discretamente maiores para a contagem total de leucócitos, linfócitos, mononucleares e eosinófilos enquanto o GC apresentou valores discretamente maiores de segmentados, macrófagos e células mesoteliais (tabela 30 e 31).

Após a laparotomia, houve aumento da contagem de células nucleadas, segmentados, mononucleares, linfócitos e macrófagos para ambos os grupos, estando todos os parâmetros elevados em relação ao padrão de normalidade (NEVES, *et al*, 2000; THOMASSIAN, 2005)

Houve diferença significativa para a contagem de hemácias no líquido peritoneal ($P < 0.0365$) entre os grupos quando se associaram todos os momentos e no M3 ($p < 0,0358$) e M4 ($p < 0,0122$) (tabela 13 e 14).

TABELA 13 - Comparação da contagem total de hemácias no líquido peritoneal entre o grupo controle (GC) e o grupo tratado (GT) associando-se todos os momentos.

Grupos	Hemácias/ μ L		
	Mediana	Q1	Q3
GC	33900*	7850	170850
GT	140700*	15800	1216050

* diferença significativa entre os grupos ($p < 0,05$). Q1= primeiro quartil; Q3= terceiro quartil.

TABELA 14 - Comparação da contagem total de hemácias no líquido peritoneal entre o grupo controle (GC) e o grupo tratado (GT) nos diferentes momentos.

Momento	Hemácias/ μ L					
	Grupo Controle			Grupo Tratado		
	Mediana	Q1	Q3	Mediana	Q1	Q3
M0	6350	5550	9300	1650	340	4750
M1	390000	218400	475000	1306500	301150	2532600
M2	681050	226125	1315550	2632600	1240675	3085350
M3	88000*	63800	160800	572850*	462300	1708500
M4	30150*	8800	39600	321600*	261300	522600
M5	8800	5500	12600	83125	25550	140700
M6	7850	6050	10950	48825	15800	60300
M7	33900	12700	70350	9550	4200	44500

* diferença significativa entre os grupos ($p < 0,05$). Q1= primeiro quartil; Q3= terceiro quartil.

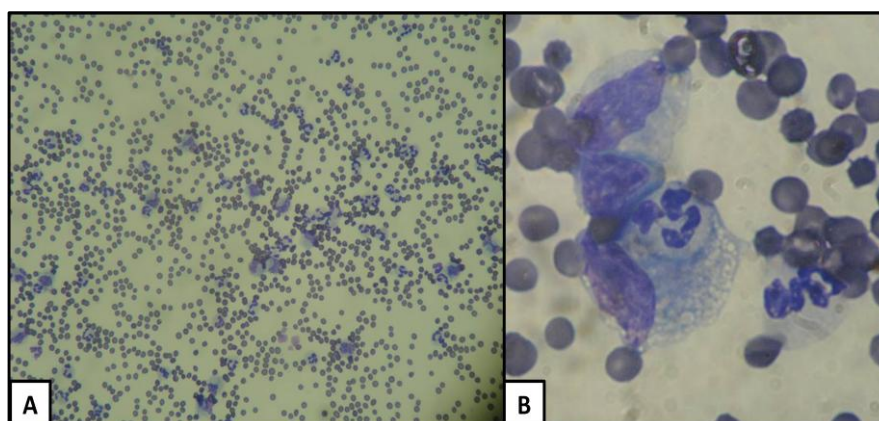


FIGURA 23 - Citologia do líquido peritoneal de equino do GT. A - Grande quantidade de hemácias livres e íntegras e moderada quantidade de células nucleadas no 4º dia de pós-operatório (Aumento de 400x). B - 6º dia de pós-operatório: moderada quantidade de hemácias livres e íntegras, presença de neutrófilo; célula mononuclear; linfócito e macrófago apresentando leucofagocitose (aumento de 1000x).

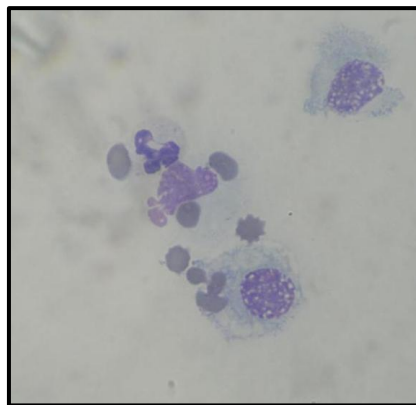


FIGURA 24 - Líquido peritoneal de equino do GC ao 6º dia de pós-operatório. Presença de célula mononuclear e macrófagos apresentando eritrofagocitose (aumento de 1000x).

5.4.3 tPA, PAI-1 e Dímero D

Os valores basais de tPA para ambos os grupos apresentaram-se ligeiramente acima dos valores referidos na literatura (0,27 - 0,45 UI/mL - DELGADO, *et al*, 2009). Após a cirurgia o tPA elevou-se para ambos excedendo o padrão de normalidade e quando comparou-se os grupos após associação de todos os momentos houve diferença significativa ($p < 0,0069$) para o tPA, obtendo-se as medianas de 2,6 (GC) e 2,0 (GT) (tabela 15). Observou-se que na comparação entre os grupos nos diferentes momentos, que apesar de as concentrações do tPA serem menores no GT ao longo do período de tratamento não houve diferença significativa (tabela 33).

Os valores basais para o PAI-1 apresentaram-se mais elevados que a referência citada na literatura (0 - 2,37 UI/mL - DELGADO, *et al*, 2009), e não sofreram alteração após o procedimento cirúrgico. Não se observou diferença significativa ($p < 0,7022$) entre grupos ou momentos (tabela 32 e 33).

Os valores basais de dímeros D apresentaram-se abaixo da normalidade (4,0 - 88,0 ng/mL - DELGADO, *et al*, 2009) sendo detectadas concentrações $< 0,5$ ng/mL. Após a cirurgia observou-se aumento da formação de dímeros para ambos os grupos e não se identificou diferença significativa entre os grupos quando se compararam todos os momentos combinados ($p < 0,0745$), porém obteve-se valores consideravelmente maiores para o GC, sendo as medianas de 4.000 ng/mL (GC) e 1.500 ng/mL (GT) (tabela 15). Apesar de os valores do dímero D apresentarem-se mais elevados no grupo controle ao longo dos momentos de avaliação não houve diferença significativa entre os grupos nos diferentes momentos (tabela 33).

TABELA 15 - Comparação do ativador do plasminogênio tecidual (tPA) e dímero D entre o grupo controle (GC) e o grupo tratado (GT) associando-se todos os momentos.

Grupos	tPA (UI/mL)			Dímero D (ng/mL)		
	Mediana	Q1	Q3	Mediana	Q1	Q3
GC	2,59*	1,65	2,81	4000	500	8000
GT	2,03*	0,92	2,63	1500	0	6000

* diferença significativa entre os grupos ($p < 0,05$). Q1= primeiro quartil; Q3= terceiro quartil.

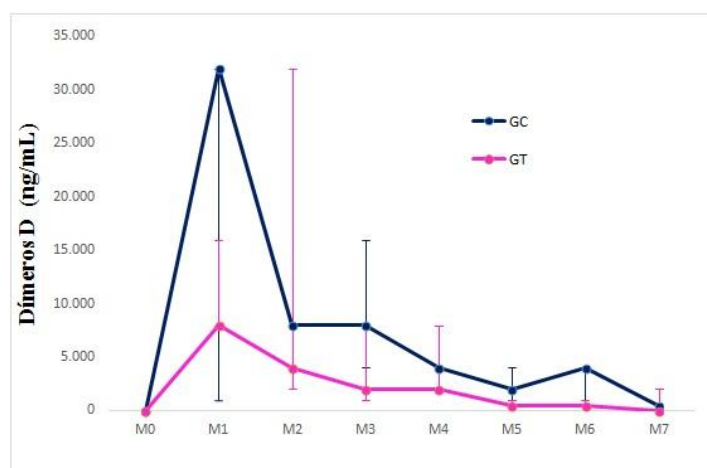


FIGURA 25 - Comparação das medianas das concentrações peritoneais dos dímeros D entre os grupos nos diferentes momentos. As barras de erro representam o primeiro e terceiro quartil.

5.4.4 Concentrações peritoneais das proteínas de fase aguda

Obteve-se uma diferença significativa ($p < 0,0148$) nas concentrações peritoneais da $\alpha 1$ anti tripsina entre os grupos (tabela 16).

TABELA 16 - Comparação das concentrações peritoneais da $\alpha 1$ antitripsina entre o Grupo Controle (GC) e o Grupo Tratado (GT) associando-se todos os momentos.

Grupos	$\alpha 1$ antitripsina (mg/dL)		
	Mediana	Q1	Q3
GC	454,2*	356,2	513,8
GT	538,8*	398,5	717,6

* diferença significativa entre os grupos ($p < 0,05$). Q1= primeiro quartil; Q3= terceiro quartil.

Quando se compararam os diferentes momentos entre os grupos obteve-se diferença significativa ($p < 0,0367$) para ceruloplasmina no M1, $\alpha 1$ anti tripsina no M4 ($p < 0,0122$); $\alpha 1$ glicoproteína ácida no M3 ($p < 0,0200$) e proteína não identificada no M5 ($p < 0,0369$) (tabela 17).

As demais proteínas avaliadas não diferiram entre os grupos quando se associaram os momentos ou nos diferentes momentos (tabela 34 e 35).

TABELA 17 - Comparação das concentrações peritoneais da $\alpha 1$ anti tripsina, $\alpha 1$ glicoproteína, ceruloplasmina e proteína não identificada entre o Grupo Controle (GC) e o Grupo Tratado (GT) nos diferentes momentos.

$\alpha 1$ antitripsina (mg/dL)						
Momento	Grupo Controle			Grupo Tratado		
	Mediana	Q1	Q3	Mediana	Q1	Q3
M0	132,1	114,2	160,9	235,1	128,4	490,5
M1	526,7	430,1	572,2	565,2	511,1	725,4
M2	436,2	387,0	588,6	656,9	554,3	715,6
M3	461,2	431,5	534,6	538,8	426,3	551,9
M4	489,4*	487,5	494,3	605,7*	599,6	727,9
M5	460,3	427,5	513,0	718,8	450,4	807,8
M6	435,4	323,8	446,0	445,4	361,2	478,3
M7	561,3	490,6	591,1	432,0	341,2	549,3

$\alpha 1$ glicoproteína ácida (mg/dL)						
Momento	Grupo Controle			Grupo Tratado		
	Mediana	Q1	Q3	Mediana	Q1	Q3
M0	3,2	1,9	8,0	15,4	5,5	37,6
M1	27,0	26,9	32,0	38,2	30,3	76,6
M2	45,9	30,5	59,7	47,3	36,9	65,3
M3	33,5*	28,5	34,6	12,0*	8,0	14,6
M4	27,2	15,9	46,7	24,8	12,8	28,3
M5	19,7	9,9	52,7	20,5	7,4	49,4
M6	25,4	20,9	26,5	10,1	9,8	15,1
M7	14,1	13,3	26,2	8,6	4,4	26,7

Ceruloplasmina (mg/dL)						
Momento	Grupo Controle			Grupo Tratado		
	Mediana	Q1	Q3	Mediana	Q1	Q3

M0	0,1	0,0	0,4	0,6	0,4	2,3
M1	0,8*	0,7	1,7	2,3*	1,8	2,6
M2	1,1	0,7	1,9	1,9	1,5	3,2
M3	1,2	0,9	1,8	0,8	0,4	0,9
M4	1,4	0,8	1,4	1,3	0,6	1,7
M5	1,1	0,8	1,8	0,9	0,5	2,3
M6	1,1	0,5	1,2	0,6	0,5	1,8
M7	1,3	1,0	1,5	1,5	1,1	1,7

Proteína não identificada nominalmente-23 kDa (mg/dL)						
Momento	Grupo Controle			Grupo Tratado		
	Mediana	Q1	Q3	Mediana	Q1	Q3
M0	45,8	44,3	204,0	117,4	65,1	316,2
M1	312,4	271,0	496,0	462,8	389,3	478,3
M2	381,1	329,7	527,7	434,7	359,8	481,4
M3	303,3	259,8	464,6	283,3	217,6	340,3
M4	226,7	223,7	307,0	366,1	314,9	376,6
M5	220,9*	210,4	245,6	367,2*	280,7	513,6
M6	248,0	190,3	353,7	204,7	197,1	282,9
M7	296,4	205,5	323,8	246,7	174,2	320,7

* diferença significativa entre os grupos ($p < 0,05$). Q1= primeiro quartil; Q3= terceiro quartil.

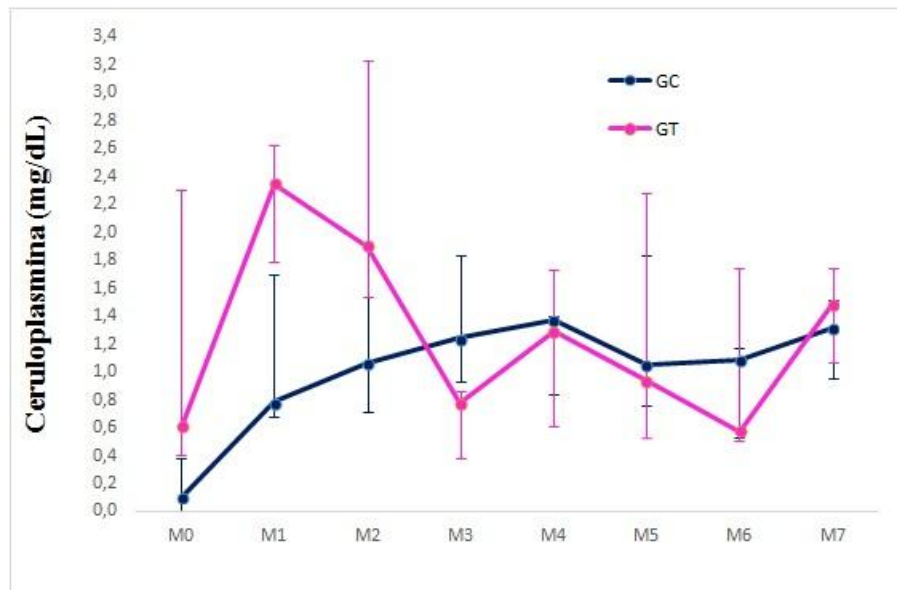


FIGURA 26 - Comparação das medianas das concentrações peritoneais de ceruloplasmina entre os grupos nos diferentes momentos. As barras de erro representam o primeiro e terceiro quartil.

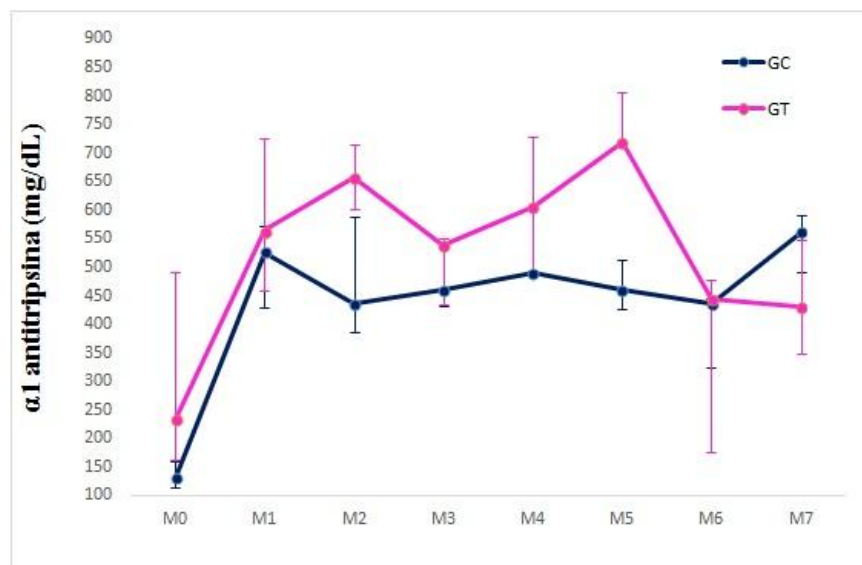


FIGURA 27 - Comparação das medianas das concentrações peritoneais da $\alpha 1$ antitripsina entre os grupos nos diferentes momentos. As barras de erro representam o primeiro e terceiro quartil.

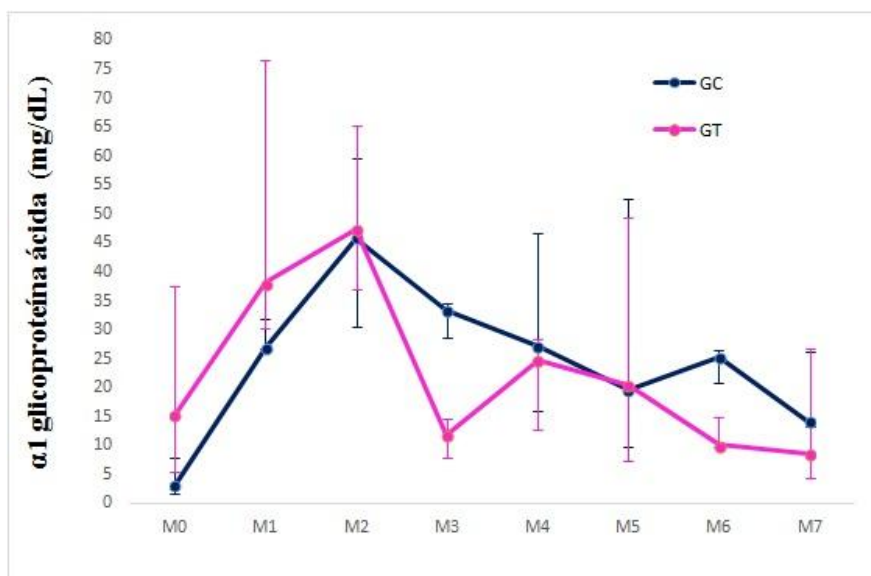


FIGURA 28 - Comparação das medianas das concentrações peritoneais da $\alpha 1$ glicoproteína ácida entre os grupos nos diferentes momentos. As barras de erro representam o primeiro e terceiro quartil.

5.5 Avaliação ultrassonográfica

A metodologia aplicada (transabdominal) permitiu a avaliação de segmentos do cólon menor em aproximadamente 85% dos exames nos diferentes momentos, e possivelmente dentre estes, apenas em uma pequena proporção acessou-se o segmento submetido à enterotomia, sendo raramente observado segmentos com espessamento de parede e perda da regularidade da arquitetura do órgão.

O exame ultrassonográfico na região ventral do abdômen possibilitou a avaliação do líquido peritoneal quanto à quantidade, ecogenicidade, homogeneidade, floculação e presença de fibrina.

Quanto à quantidade de líquido peritoneal livre não foi observada diferença entre os grupos, entretanto observou-se haver variação individual entre os animais. Baseado na escala de graduação empregada observou-se que os animais mantiveram o seu volume individual independentemente do procedimento cirúrgico. Observou-se ainda que a partir do 10º dia de pós-operatório houve discreto aumento da quantidade de líquido livre para ambos os grupos, sendo este representado pelo aumento de uma cruz na escala.

Baseando-se na escala de graduação proposta, observou-se aumento da ecogenicidade após 12 horas de cirurgia para ambos os grupos. O aumento da ecogenicidade persistiu até o 14º dia, porém, com progressiva redução após o 6º dia de

pós-operatório. Observou-se ainda, que o GT apresentou maior persistência da ecogenicidade aumentada em relação ao GC.

TABELA 18 - Evolução da ecogenicidade do líquido peritoneal ao exame ultrassonográfico baseado no sistema de *scores* (porcentagem de animais).

	GC				GT			
	score 0	score 1	score 2	score 3	score 0	score 1	score 2	score 3
M0	100%							
M1			80%	20%			80%	20%
M2			100%				80%	20%
M3			100%				100%	
M4		60%	40%				100%	
M5	20%	60%	20%		40%		60%	
M6	60%	20%	20%			100%		
M7	80%	20%				100%		

0 = normalidade, 1 = discreto aumento de ecogenicidade, 2 = leve aumento de ecogenicidade, 3 = moderado aumento de ecogenicidade acompanhado da presença de fibrina e debris celulares.

Observou-se a presença de coágulos de fibrina entre o 4-6º dia e de irregularidades no peritônio parietal com deposição de fibrina nos pontos de laparocentese.

5.6 Avaliação laparoscópica

Não foram observadas alterações na topografia visceral nos animais avaliados. A quantidade e qualidade do líquido peritoneal avaliado macroscopicamente foram variáveis, não sendo observadas diferenças entre os grupos. Apenas dois animais apresentaram líquido peritoneal com elevada turbidez, porém tal característica não se apresentou diferenciada dos demais animais no exame ultrassonográfico realizado no dia anterior a laparoscopia.

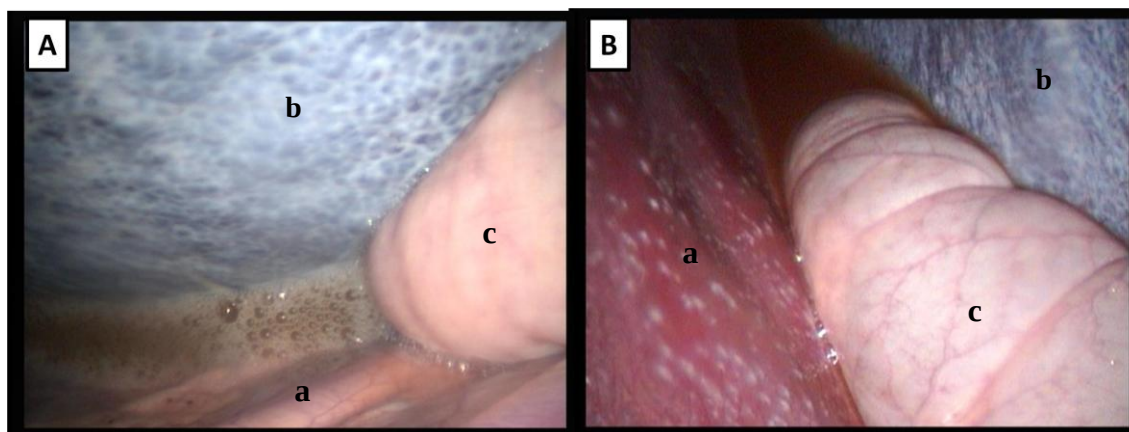


FIGURA 29 - líquido peritoneal livre no abdômen A- animal apresentando grande volume de líquido livre, porém com pouca turbidez (a- parede abdominal, b – baço, c – intestino delgado); B- animal apresentando grande volume de líquido, escurecido e com elevada turbidez (a – parede abdominal, b – baço, c – intestino delgado).

Após a visualização da cavidade abdominal como um todo, foram introduzidas pinças atraumáticas para a manipulação do cólon menor e detecção da área submetida à enterotomia. Observou-se que durante tal manipulação, as regiões do cólon menor adjacentes a região da enterotomia apresentavam-se recobertas por uma fina camada de exsudato fibrinoso e apresentavam-se friáveis e reativas à manipulação, tornando-se rapidamente hemorrágicas para ambos os grupos, porém em maior intensidade no GT.

Baseando-se no sistema de graduação em *scores* observou-se que reatividade peritoneal difusa foi mais elevada para o GT. Obtendo-se para o GC, 60% de *score* 0, 20 % de *score* 1 e 20% de *score* 2 e para o GT, 60% de *score* 1 e 40 % de *score* 2.

Invariavelmente, a região da enterotomia apresentou-se para ambos os grupos recoberta por fibrina, sendo possível observar a presença da sutura realizada com fio *catgut* ainda integra. Não foram observadas diferenças entre os grupos para a deposição de fibrina na região da enterotomia, porém quando se avaliou a região da sutura da parede abdominal observou-se que houve maior deposição de fibrina nos animais do GC.

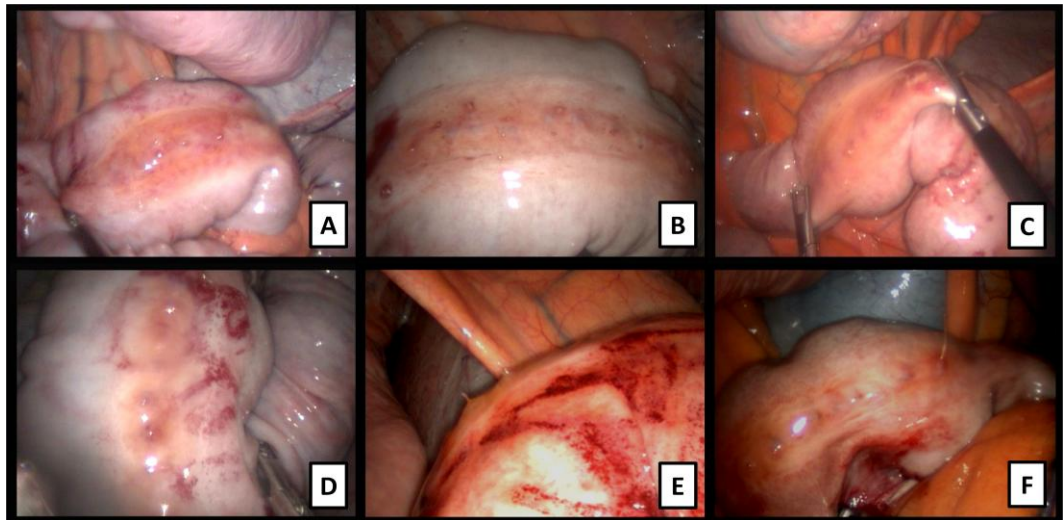


FIGURA 30 - Imagem laparoscópica da região cólon menor submetida à enterotomia. A, B, C- Grupo controle (região da enterotomia em cólon menor recoberta por fibrina) ; D, E, F- Grupo tratado (região da enterotomia em cólon menor recoberta por fibrina; segmento apresentando serosa hemorrágica após breve manipulação).

5.7 Complicações decorrentes da enterotomia do cólon menor

Para o animal 1 do GC, observou-se que, após 10 dias de pós-operatório, houve aumento de volume e temperatura local na região da sutura da laparotomia. Retirou-se o ponto mais ventral da sutura a fim de possibilitar a limpeza da ferida e drenagem da secreção, que se apresentou mucopurulenta. Não houve deiscência da sutura, porém, observou-se a eliminação de fragmentos do fio *catgut* utilizado para a sutura da parede abdominal. No 15º cumpriu-se a metodologia delineada e realizou-se a laparoscopia, onde se observou intensa deposição de fibrina sobre o peritônio parietal na região da sutura da parede abdominal e sobre segmentos do cólon ventral e dorsal direito. O segmento do cólon menor submetido à enterotomia não foi identificado, estando possivelmente unido ao segmento do colon ventral direito através de aderência fibrinosa, pois após 45 dias, repetiu-se o exame laparoscópico não sendo encontrada qualquer alteração e identificando-se a região da enterotomia.

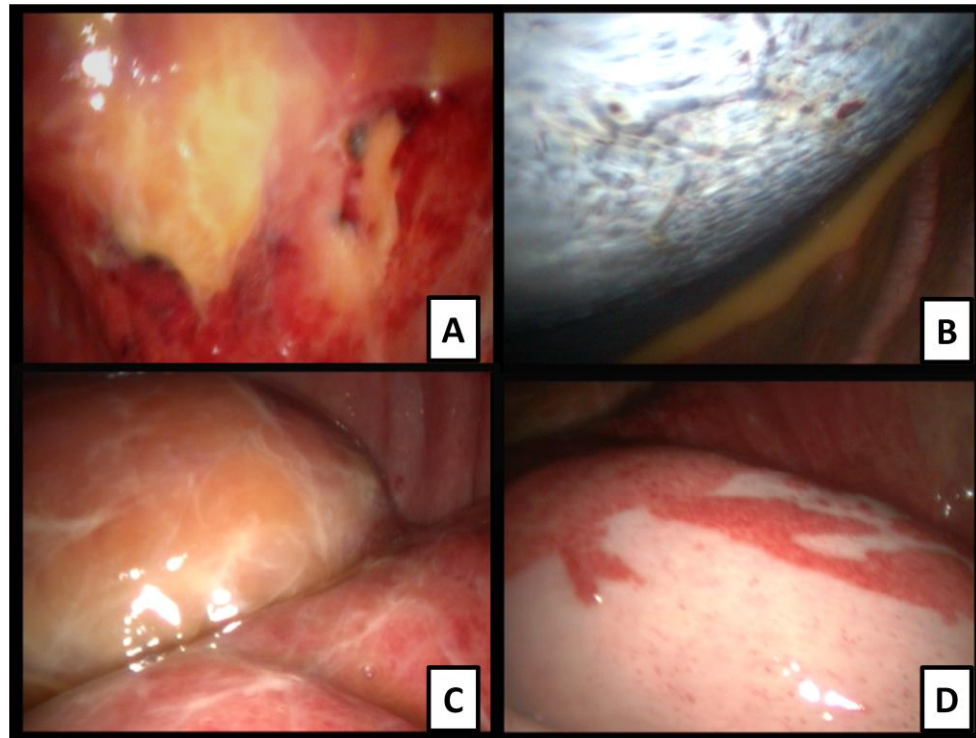


FIGURA 31 - Imagens laparoscópicas do animal 1 do GC. A- deposição de fibrina sobre o peritônio parietal na região da laparotomia na parede abdominal direita; B- líquido peritoneal com elevada turbidez; C- formação de aderência fibrinosa entre segmentos do cólon ventral direito e cólon menor próximo à região da laparotomia; D- reatividade peritoneal difusa e sobre segmento do cólon dorsal direito.

6 DISCUSSÃO

6.1 Projeto piloto

É descrito na literatura que a realização da abrasão peritoneal com gaze propicia não somente exacerbação da reatividade peritoneal, mas também desencadeia a formação de aderências peritoneais (LOPES, 1988; HAY, 2001; KUTLAY, 2004), entretanto tais estudos, quando realizados em equinos foram desenvolvidos no intestino delgado. Possivelmente o cólon menor, devido a suas características anatômicas circulatórias e de posicionamento entre outros aspectos, tenha reagido com menor resposta inflamatória local.

A realização da enterotomia propiciou maior reatividade local, pois além da resposta reparatória local, houve maior inflamação decorrente da presença da presença da sutura na região. Dessa forma, a enterotomia resultou em fácil identificação do segmento e desencadeou maior reatividade peritoneal. Optou-se portanto, que no delineamento no projeto de pesquisa, os animais fossem submetidos não somente a abrasão mas também a enterotomia de cólon menor.

6.2 Enterotomia e abrasão peritoneal

Preconiza-se o acesso ao cólon menor através da fossa paralombar esquerda (BOLES, 1975; TURNER, 2002). Entretanto, optou-se pela realização da laparotomia e enterotomia de tal segmento via fossa paralombar direita, pois posteriormente seria realizada laparoscopia via paralombar esquerda, e assim esta estaria preservada na integridade normal, sem cirurgias prévias. Esta via paralombar direita permitiu acesso e manipulação do cólon sem dificuldades.

Devido à ocorrência de infecção subcutânea e rejeição do material de sutura na região da ferida cirúrgica do animal 1 do GC, optou-se pela alteração do material e técnica utilizada na sutura, substituindo-se o fio por poligalactina 910 em padrão *Sultan* para a parede abdominal e também substituindo-se o padrão de sutura da pele de pontos simples separados para *Wolff*. Posteriormente à estas alterações não foram observadas novas complicações. Segundo (TURNER, 2002) o fio de poligalactina 910 é indicado para a realização de suturas de parede abdominal, possuindo menor reatividade que o *Catgut*; já o padrão de sutura *Wolff* resulta em melhor distribuição da tensão na sutura de pele, diminuindo o risco de deiscência.

Apesar da descrita complicação, foram realizadas todas as análises delineadas no experimento, observando-se que, apesar da reação inflamatória na ferida cirúrgica não houve alterações significativas de parâmetros clínicos e laboratoriais em relação aos demais animais do GC, mantendo-se este animal no grupo experimental.

É descrito que a enterotomia do cólon menor pode ser realizada paralela ao eixo longitudinal do intestino, na *teniae coli*, situada na face antimesentérica, ou na saculação adjacente, denominada *haustra coli* (TURNER, 2002). Optou-se por realizar a enterotomia na face antimesentérica, visto que esta região foi descrita por Archer *et al*, (1988); SHETA *et al*, (1995); LUCAS *et al*, (2001) e MONTELLO *et al* (2004) como o local mais seguro e resistente, com menor hemorragia, melhor aposição das bordas, menor tempo operatório e mínima reação inflamatória.

A utilização da infusão contínua de cloridrato de detomidina associada ao tartarato de butorfanol permitiu boa qualidade de sedação. Foram realizados um total de 20 procedimentos cirúrgicos (10 laparotomias e 10 laparoscopias), dentre os quais em apenas dois houve reação dos animais. Essa reação se deu possivelmente em decorrência de falha na técnica infiltrativa anestésica local associada à menor responsividade dos animais em questão ao protocolo de sedação.

6.3 Exame físico

O intervalo de normalidade para a frequência cardíaca (FC) de equinos está entre 20-40 bpm (McKEEVER & HINCHICLIFF, 1995). No presente estudo observou-se que os animais do grupo controle obtiveram FC média dentro do padrão de normalidade e os equinos do grupo tratado apresentaram valores médios ligeiramente acima do padrão de normalidade.

Entretanto, esta alteração foi observada desde o momento inicial de avaliação (M0), sugerindo-se que os valores basais dos animais pertencentes ao GT fossem superiores ao GC, ou que tais animais fossem mais facilmente estimulados com a manipulação e contenção. Na ocorrência de situações de estresse ocorre a liberação de catecolaminas como a epinefrina e norepinefrina, resultando em bloqueio do sistema nervoso parassimpático e controle através do sistema nervoso simpático, que exerce mediação no sistema cardiovascular, resultando em um aumento da FC (McKEEVER & HINCHICLIFF, 1995). Aliado ao fato de a frequência cardíaca ser uma variável extremamente sensível a estímulos ambientais, os animais pertencentes ao GT

coincidentemente apresentavam temperamento diferenciado, sendo mais estressados à manipulação.

Os animais do GC sofreram elevação da FC nas primeiras 12 horas após a cirurgia, porém mesmo elevada em relação ao M0, apresentou-se dentro do padrão de normalidade. O GT não apresentou alteração dos valores médios da FC nas primeiras 12 horas em relação ao M0, porém apresentou-se ligeiramente elevados em relação ao padrão de normalidade. Para o GT, a FC oscilou entre o limite máximo de normalidade (40 bpm) e ligeiramente aumentada (44 bpm) ao longo das avaliações.

A ocorrência de anemia como complicação do uso prolongado de heparina é descrito em equinos (MOORE & HINCHCLIFF, 1994). Apesar de a anemia poder resultar em aumento da FC (GUYTON, 2011), os aumentos de FC observados no GT não foram compatíveis com os momentos onde ocorreu a diminuição mais intensa do hematócrito.

Observou-se diferença significativa entre grupos para a variável temperatura retal, que se apresentou ligeiramente mais elevada nos animais do GT, porém dentro do padrão de normalidade. Os animais de ambos os grupos apresentaram hipertermia pós-operatória nas primeiras 12 horas, sendo considerada hipertermia valores acima de 38,3 °C (FREEMAN, *et al.*, 2012).

A hipertermia geralmente ocorre na presença de um agente infeccioso, mediada pela ação de toxinas ou em decorrência da liberação de pirógenos devido à manipulação e trauma cirúrgico (BALLESTAS, 2007), como observado neste estudo. A liberação de pirógenos estimula diversas células como monócitos, macrófagos e células endoteliais a liberarem citocinas que resultam no aumento da temperatura devido à vasoconstrição e contrações involuntárias musculares (BALLESTAS, 2007).

A hipertermia ocorre frequentemente após a laparotomia em equinos, entretanto não está necessariamente relacionada à ocorrência de infecção. Nos animais avaliados, a hipertermia observada após 12 horas de cirurgia é compatível com o processo inflamatório e não infeccioso, visto estar descrito que a hipertermia decorrente de processo infeccioso é mais tardia, ocorrendo após 2,7 dias de pós-operatório (FREEMAN, *et al.*, 2012). Além disso, os valores médios de temperatura retal foram discretamente elevados, compatível com o descrito na literatura para hipertermia não associada à infecção (38,3 – 38,8 °C) (FREEMAN, *et al.*, 2012).

6.4 Avaliações hematológicas

6.4.1. Eritrograma

Após terapia prolongada com a heparina pode haver complicações, como anemia, hemorragia, trombocitopenia, e sensibilidade dolorosa no local da aplicação. Associada a estas complicações está o fato de a heparina apresentar aumento crescente na concentração sérica (MOORE & HINCHCLIFF, 1994).

Referem-se como normalidade para contagem eritrocitária em equinos, valores entre $6,8-12,9 \times 10^6$ hemácias (FELDMAN, 2000). Apesar de não haver diferença significativa na contagem de hemácias entre os grupos quando se compararam todos os momentos associados, observou-se que a mediana no GC ($6,9 \times 10^6$) foi maior do que no GT ($6,4 \times 10^6$), e ainda, quando se comparou os grupos nos diferentes momentos, observou-se diferença significativa após 48 horas do início do tratamento, demonstrando que a utilização da heparina reduziu a contagem total de eritrócitos. Achado este condizente com o descrito por MOORE & HINCHCLIFF (1994); BORGHESAN, (2010), que relatam a ocorrência de anemia induzida pela utilização deste fármaco.

Inicialmente, a anemia induzida pela heparina em equinos foi classificada como regenerativa (macrocítica), marcada por aumento no volume corpuscular médio (VCM) e por redução de aproximadamente 50 % do hematócrito. A hemólise extravascular era teorizada como a causa de indução da anemia, suspeitando-se que a heparina opsonizava os eritrócitos facilitando a sua fagocitose através do sistema monocítico fagocitário (MOORE & HINCHCLIFF, 1994).

Entretanto, esta hipótese foi refutada após a demonstração da aglutinação *in vitro* das hemácias de cavalos heparinizados. Contadores automáticos de hemácias erroneamente contam células aglutinadas como células únicas, sendo o aumento do VCM e diminuição do número de hemácias um artefato atribuído a este erro de contagem laboratorial. Possivelmente no presente estudo o aumento do VCM se deu em decorrência deste artefato laboratorial.

A aglutinação das hemácias se dá devido a acúmulos na microcirculação, sendo a diminuição da contagem total eritrocitária parcialmente errônea, visto que a aglutinação pode ser parcialmente revertida após a suspensão do tratamento, como observado nos animais tratados.

Foi demonstrado que a real diminuição do hematócrito é de 33 % e que a anemia caracterizada pela administração de heparina é normocítica e normocrômica. A aglutinação eritrocitária aparenta ser heparina mediada, porém, a heparina sozinha não é capaz de causar aglutinação. Aparentemente, após a aplicação da heparina ocorre uma diminuição da atividade plasmática proteolítica, que permite a aderência de substâncias proteicas à membrana eritrocitária, causando a aglutinação (MOORE & HINCHCLIFF, 1994). Nesse sentido, Moore *et al.*, (1987) realizaram tratamento subcutâneo em equinos a cada 12 horas, durante 4 dias e demonstraram diminuição da aglutinação eritrocitária após a adição de tripsina à suspensão eritrocitária em solução salina.

Corroborando com o descrito na literatura (MAHAFFEY & MOORE, 1986; MOORE *et al.*, 1987; GERHARDS 1991; MOORE & HINCHCLIFF, 1997), houve diminuição progressiva do hematócrito no grupo submetido a tratamento com heparina, sendo esta diferença significativa após 48 horas do início do tratamento e ainda mais significativo ao sexto dia. Os animais de ambos os grupos apresentavam no M0, valores médios dentro do padrão de normalidade, entre 32-53 % (FELDMAN, 2000); o GT apresentou-se abaixo da normalidade após 48 horas de tratamento, persistindo nessa condição até o 6º dia de pós-operatório. Observou-se que após a suspensão da heparina no 5º dia de pós-operatório, rapidamente ocorreu a recuperação dos valores médios de hematócrito para o padrão de normalidade. Esta informação está de acordo com o descrito por MOORE & HINCHCLIFF (1994), que relatam rápida recuperação do hematócrito e contagem eritrocitária após a descontinuidade do tratamento, sendo reestabelecida a normalidade em aproximadamente 96 horas. Esta rápida recuperação excede a capacidade fisiológica eritropoiética dos equinos, sendo que para a recuperação de 35 % do hematócrito seriam necessárias semanas (MOORE & HINCHCLIFF, 1994).

A teoria defendida de que a diminuição da contagem eritrocitária é devida à aglutinação das hemácias na microcirculação (MAHAFFEY & MOORE, 1986; MOORE *et al.*, 1987; GERHARDS 1991; MOORE & HINCHCLIFF, 1994), é consistente com a rápida recuperação da contagem de células após a suspensão do tratamento (MOORE & HINCHCLIFF, 1994).

Apesar de não ter havido diferença significativa entre os grupos para a Hb, foram observadas maiores concentrações no GC que no GT. Quando se compararam os grupos nos diferentes momentos, observou-se diferença significativa entre o 2º e 6º dia

de pós-operatório, demonstrando que a aglutinação eritrocitária mediada pela administração da heparina no GT resultou também na diminuição dos valores da Hb.

6.4.2. Plaquetas, Proteínas totais e fibrinogênio

Observou-se que a utilização da heparina influenciou os valores plaquetários, visto que após procedimentos cirúrgicos ocorre aumento do número de plaquetas, e no presente estudo, ocorreu diminuição significativa do número das mesmas no GT e aumento no GC. Apesar de a diminuição da contagem plaquetária ter sido significativa, não se caracterizou trombocitopenia, sendo os valores de normalidade considerados de $100-350 \times 10^3$ (FELDMAN, 2000). O GT apresentou diminuição progressiva nos valores plaquetários, resultando na significância estatística observada entre os grupos. No quarto dia de pós-operatório foi observada diferença significativa entre os grupos e rápida elevação dos valores após a suspensão do tratamento.

Em humanos, é comum a ocorrência de trombocitopenia imuno mediada após tratamento prolongado com heparina. Suspeita-se que a heparina possa agir como um hapteno para anticorpos anti-aglutinação, resultando na trombocitopenia (MOORE & HINCHCLIFF, 1994). Em equinos, contudo, a trombocitopenia é mais raramente observada, sendo frequente diminuição do número de plaquetas, porém de maneira não significativa (DUNCAN *et al.* 1983; MONREAL *et al.* 1995). Como observado no GT, este tipo de trombocitopenia é classificada como não imune associada à heparina (TOLLEFSEN & ZHANG, 2006).

Assim como a aglutinação é a possível responsável pela diminuição da contagem eritrocitária, possivelmente, seja também responsável pela diminuição da contagem plaquetária, pois assim como observado para os eritrócitos, observou-se rápida recuperação da contagem de plaquetas após a suspensão do tratamento. Apesar das especulações demonstradas na literatura referente a tais complicações na espécie equina, ainda não se conhece com clareza a real resposta desta espécie a terapia com heparina.

Obteve-se diferença significativa entre os grupos para os valores de proteínas plasmáticas quando se compararam todos os momentos combinados, sendo que o GT apresentou valores mais elevados que o GC. Contudo, ambos apresentaram-se dentro do padrão de normalidade (5,8-8,7 g/dL- FELDMAN, 2000). Observou-se que o GT apresentou valores mais elevados desde o M0, podendo a diferença observada entre os grupos não ser devida ao tratamento, mas sim ao valor basal diferenciado entre os grupos.

A diferença significativa obtida entre os grupos no M5 pode ter se dado em decorrência da suspensão do tratamento com heparina, visto que esta possui potencial de ligação à proteínas plasmáticas (YOUNG, *et al*, 1997; CONRAD, 1998) e após a sua suspensão, consequentemente, houve maior quantidade de proteína livre.

A concentração do fibrinogênio plasmático é um indicador não específico do diagnóstico e prognóstico de processos inflamatórios em equinos, sendo que elevações são expressões sensíveis da ocorrência de agressão tecidual e podem revelar alterações dissociadas de participação infecciosa (MONTELLO, *et al*, 2004). Neste sentido, esperava-se elevação nas concentrações plasmáticas após o procedimento cirúrgico e diferença significativa entre os grupos, pois, possivelmente, os animais do GT devido à administração da heparina teriam menor taxa de conversão do fibrinogênio em fibrina e possivelmente valores mais elevados de fibrinogênio durante o tratamento. Entretanto, não foram observadas diferenças significativas entre os momentos para cada grupo, E entre os grupos quando se combinaram todos os momentos, bem como entre os grupos nos diferentes momentos para os valores do fibrinogênio. Possivelmente, a técnica utilizada para quantificação do fibrinogênio (precipitação do calor- 56°C, seguida por análise em refratômetro) associada ao número reduzido de animais avaliados em cada grupo não favoreceu a observação da ocorrência de diferença estatística, visto que o método permite a obtenção de valores em escala de 0,2 g.

6.4.3. Leucograma

Os valores totais e diferenciais de leucócitos não diferiram entre os grupos quando se compararam todos os momentos associados ou nos diferentes momentos. É descrita a ocorrência de leucocitose (>14500 células - FELDMAN, 2000) após 24 horas da laparotomia (MONTELLO, *et al*, 2004), entretanto foi observada leucocitose para ambos os grupos após 12 horas de cirurgia.

Não foi observada diferença estatística entre os grupos nos diferentes momentos para os valores de neutrófilos e observou-se que após 12 horas do procedimento cirúrgico houve aumento da contagem de neutrófilos para ambos os grupos, excedendo o valor de normalidade (2260 a 8580µl/% - FELDMAN, 2000), caracterizando neutrofilia.

A leucocitose observada inicialmente não correspondeu ao esperado, visto que os neutrófilos do sangue distribuídos nos compartimentos circulantes e marginal respondem rapidamente a numerosos estímulos quimiotáticos relacionados ao processo

inflamatório, causando um aumento na marginação e migração destes, com imediata diminuição do seu número na circulação (ZINKL & MAHENDRA, 1997), sendo a leucopenia um achado normal durante as fases iniciais pós-operatórias, indicativa do sequestro dos neutrófilos para as alças intestinais comprometidas ou para a cavidade abdominal nos casos de peritonite (FALEIROS, 2003).

Sugere-se que a intensidade do trauma cirúrgico, apesar de ter elevado consideravelmente a contagem de células nucleadas no líquido peritoneal, não tenha sido suficiente para causar leucopenia ou possivelmente associado à diminuição dos leucócitos no sangue periférico ocorreu o quadro denominado leucocitose corticosteroide-induzida. A fase efetora da resposta imune consiste no recrutamento e ativação dos leucócitos. Através de estímulos ao eixo hipotálamo-pituitária-adrenal, com consequente liberação de corticosteroides pelo córtex da adrenal, aumentando a concentração de corticosteroides endógenos circulantes, em resposta ao estresse fisiológico ou doenças, observam-se alterações nas contagens global e diferencial de leucócitos, destacando-se leucocitose e neutrofilia (BREIDER, 1993).

Assim como observado por Benjamin (1999) e Di Filippo (2009a), obteve-se uma elevação da contagem de neutrófilos após o 6º dia da laparotomia, possivelmente porque os neutrófilos são os efetores fundamentais na defesa do organismo contra as infecções bacterianas com o intuito de fagocitar micro-organismos, células mortas e debris celulares.

Apesar de não ter havido diferença significativa entre os grupos para os eosinófilos, observou-se maior quantidade de células para o GC, sendo esta diferença devida a presença de dois animais no GC que apresentaram elevada contagem de eosinófilos, ultrapassando o valor de normalidade (0 a 1.000 $\mu\text{L}/\%$ - FELDMAN, 2000). Possivelmente, apesar de tais animais terem sido submetidos a exame coproparasitológico e vermifugados, apresentavam verminose, pois apresentavam valores basais aumentados. A migração de larvas de parasitas pelos tecidos acarreta a liberação de histamina, aumentando, consequentemente, o número de eosinófilos (DIFILIPPO, 2008).

Os monócitos apresentaram-se dentro da normalidade para ambos os grupos (0-1000 $\mu\text{L}/\%$ - FELDMAN, 2000); entretanto, apresentaram-se discretamente mais elevados para o GC. Possivelmente esta discreta diferença tenha sido obtida em decorrência ao pequeno número de animais avaliados em cada grupo.

A contagem de bastonetes, linfócitos e basófilos apresentaram-se dentro do padrão de normalidade de respectivamente: 0-100; 2260-8580; 0-290 $\mu\text{L}/\%$ - FELDMAN, 2000)

Os valores obtidos no leucograma para ambos os grupos variaram em relação aos valores basais, caracterizando a ocorrência de resposta inflamatória ao trauma cirúrgico com posterior resolução. Entretanto não apresentou diferença significativa entre os grupos.

6.4.4. Proteínas séricas de fase aguda

As técnicas de eletroforese mais utilizadas em medicina veterinária têm como matrizes fitas de acetato de celulose (FAGLIARI *et al.*, 1983; EDINGER *et al.*, 1992) ou filmes de agarose (MATTEWS, 1982), as quais apresentam valor limitado porque permitem o fracionamento de apenas cinco a sete grupos de proteínas. Optou-se pela realização do fracionamento eletroforético para obtenção dos valores de PFA, visto ser um dos métodos mais confiáveis de identificação de proteínas séricas e cuja técnica relatada por Gordon (1995) em gel de acrilamida contendo dodecil sulfato de sódio (SDS-PAGE) é relativamente simples e de baixo custo, possibilitando a visualização de concentrações protéicas extremamente baixas e a identificação de 20 a 30 proteínas, necessitando microquantidade de amostra.

Através da eletroforese foi possível identificar a α_1 antitripsina, α_1 glicoproteína ácida, ceruloplasmina, haptoglobina, proteína c reativa, transferrina e uma proteína não identificada nominalmente de 23 kDa, que possivelmente representa um monômero da haptoglobina, conforme descrito para os ruminantes por Petersen *et al.*, (2004).

Baseado no fato de a concentração plasmática das proteínas de fase aguda ser diretamente proporcional ao grau de lesão tecidual e/ou de inflamação (KENT, *et al.*, 1991; FAGLIARI, *et al.*, 2008; JACOBSEN, *et al.*, 2009), esperava-se e observou-se que animais de ambos os grupos submetidos à laparotomia e enterotomia de cólon menor, independentemente do tratamento com heparina e anti-inflamatórios, apresentaram modificação no seu perfil proteico, denotando-se resposta inflamatória de fase aguda.

A haptoglobina é uma α_2 globulina cuja função biológica é a de se ligar a hemoglobina (Hb), evitando que suas frações livres resultem em lesão oxidativa tecidual. Além disso, a ligação da haptoglobina a Hb reduz a disponibilidade do ferro para as bactérias, tendo indiretamente, função antibacteriana (ECKERSALL, 2008). Pacientes com anemia decorrente de hemólise apresentam diminuição na concentração

de Hp devido a sua ligação a Hb livre. Diferentemente dos humanos, os equinos, ao receberem tratamento com heparina, não apresentam diminuição da contagem eritrocitária devido à hemólise, e sim devido à aglutinação na microcirculação (MOORE & HINCHCLIF, 1994) conforme observado no grupo de animais em questão. Portanto, não se espera que a anemia observada nos equinos tratados com heparina influencie as concentrações séricas da Hp.

A Hp é considerada uma proteína de resposta moderada à inflamação, ou seja, aumenta cerca de 5-10 vezes após o estímulo, sendo relatado o aumento da concentração plasmática ou sérica em equinos após cirurgias, inflamações experimentais ou naturais, laminites e cólicas (KENT, *et al*, 1991; PETERSEN, *et al*, 2004; ECKERSALL, 2008). Fagliari *et al*, (2008) descreve a haptoglobina como uma proteína indicadora do prognóstico na avaliação de lesões abdominais. Nos animais estudados, observou-se um aumento da haptoglobina de 1,8 vezes para o GC e 1,1 vezes para o GT após 12 horas de cirurgia, demonstrando que, apesar de ser uma proteína de resposta moderada em equinos, não se elevou significativamente após a cirurgia, pois possivelmente o trauma cirúrgico não foi capaz de desencadear um estímulo suficiente para proporcionar tal elevação.

Entretanto, quando se compararam os grupos, associando-se todos os momentos, observou-se diferença significativa ($p < 0,0016$), sendo as concentrações séricas da Hp mais elevadas nos animais tratados com heparina. Visto ser a Hp uma PFA positiva, que se eleva na presença de estímulo inflamatório, e tendo a heparina como a principal diferença entre os grupos, infere-se que os animais submetidos a tratamento com heparina responderam com aumento da resposta inflamatória quando comparado aos animais do GC.

Observou-se, ainda, diferença significativa entre os grupos no M6 (décimo dia de pós-operatório), sendo mais elevados os valores da Hp para os animais do GT. Tais valores podem ter sido influenciados pela suspensão do anti-inflamatório, visto ser o M6 a segunda avaliação após a suspensão destes.

A proteína C reativa (PCR) possui função biológica de ligar-se a patógenos e ativar o sistema complemento, resultando em opsonização de bactérias, fagocitose, produção de citocinas inflamatórias e modulação da função do neutrófilo (ECKERSALL, 2008). Valores elevados de PCR em equinos têm sido observados nas pneumonias, laminites, enterites, artrites e após castrações (TAKIGUCHI *et al*, 1990; PETERSEN *et al*, 2004). A PCR demonstrou diferença significativa entre os grupos

quando se associaram todos os momentos ($p < 0,0031$); antes da cirurgia e após 12 horas de sua realização, tendo maior concentração plasmática para o GC. Apesar de demonstrar diferença significativa entre os grupos, a PCR não é uma proteína de efeito maior ou moderado na espécie equina, ao contrário como ocorre nos cães e suínos (ECKERSALL, 2008). Dessa forma, as alterações encontradas em tal proteína tornam-se menos importantes que as ocorridas para a Hp. Salienta-se que não se sabe a causa da alteração pré-operatória de tal proteína, nem mesmo se tais valores podem ter interferido no M1.

Em ruminantes foi demonstrado que após o fracionamento eletroforético das PFA, existe uma proteína de 23kDa não identificada nominalmente que é descrita como um monômero da Hp. Para os equinos, suspeita-se que a proteína não identificada nominalmente de 23kDa represente o mesmo monômero. Observou-se que esta proteína, assim como a Hp, apresentou diferença significativa entre os grupos ($p < 0,0186$), sendo mais elevada no GT; e, bem como a Hp, não aumentou significativamente após o trauma cirúrgico para ambos os grupos.

Tem-se demonstrado um número cada vez maior de evidências de que a heparina pode afetar a resposta imune, podendo agir como um agente pró ou anti-inflamatório (HOCHART, *et al*, 2008; HEINZELMANN, *et al*, 1999). Dentre os efeitos anti-inflamatórios da heparina está a sua capacidade de afetar a interação dos leucócitos com o endotélio vascular (YOUNG, 2008; LEVER, *et al*, 2010), diminuindo a infiltração leucocitária nos tecidos, devido à interferência nos mecanismos de adesão, migração e deslocamento de leucócitos (BELMIRO, *et al*, 2009; ARIMATEIA, 2011).

Em relação aos efeitos pró-inflamatórios observados no presente estudo, a heparina é capaz de aumentar a liberação de duas das principais citocinas participantes do processo inflamatório: a TNF- α e a IL-1 β . O mecanismo pelo qual a heparina estimula a liberação de tais citocinas não é totalmente esclarecido. Sabe-se que a TNF- α e a IL-1 β são responsáveis pela indução de moléculas de adesão, produção de quimiocinas pelas células endoteliais e macrófagos, estímulo de reagentes de fase aguda pelo fígado e pelos efeitos sistêmicos da inflamação, como a febre (ARIMATEIA, 2011).

A atuação da heparina como agente pró-inflamatório não foi anteriormente descrita em equinos. Entretanto, em ratos e humanos foram observados resultados semelhantes aos encontrados neste estudo, onde se observou aumento da inflamação quando se utilizou a heparina (BRITO, *et al*, 2008).

Conforme citado por Fagliari, *et al*, (2008) as PFA demonstraram maior sensibilidade que o leucograma na identificação da resposta inflamatória e comparação entre os grupos.

6.4.5. Coagulograma

Os animais respondem individualmente ao tratamento com a heparina, sendo necessário a monitorização laboratorial para o ajuste da dose ou suspensão do tratamento. Dentre os testes de monitorização, o TTPa apresenta destaque, pois é sensível aos efeitos inibitórios da heparina sobre a trombina, o fator Xa e o fator IXa (HIRSH *et al*, 2001; BORGHESAN, 2010).

É descrito que os valores do TTPa devem estar de 1,5 a 2,5 vezes maiores que o valor basal do paciente para que o tratamento com heparina seja efetivo (BOUNAMEAUX, *et al*, 1980). Segundo Duncan *et al*, (1983), a dose de heparina de 160 UI/Kg é capaz de resultar em aumento de 1,5-2,5 vezes o TTPa em relação ao valor basal. Contudo, a dose utilizada no presente estudo (150 UI/Kg) resultou em aumento máximo de 1,45 vezes o valor basal após 48 horas de tratamento e, apesar de não ter alcançado o valor desejado, a heparina demonstrou-se eficaz em diminuir a deposição de fibrina.

A heparina atua na via intrínseca da coagulação. Dessa forma, o teste do tempo de protrombina, que avalia a via extrínseca torna-se pouco sensível para a avaliação dos efeitos da heparina sobre o sistema de coagulação (KONKLE, 2006). Os resultados obtidos no presente estudo estão de acordo com tal informação, visto não ter ocorrido alteração nos valores do TP.

Anteriormente ao tratamento com heparina, foram obtidos valores de TP e TTPa acima dos valores de normalidade descritos na literatura (9,5 a 11,5 segundos para o TP e 21 a 45 segundos para o TTPa- LOPES, *et al*, 2007; PARRY, 2009). Assim sendo, foram utilizados como referência os valores basais. Após o início do tratamento foram obtidos valores elevados de TTPa para o GT no M2 e M3, sendo tal prolongamento esperado no tratamento com heparina e descrito por STERN-BALESTRA (2000); FEIGE *et al*, (2003). Observou-se ainda que, apesar de o tratamento ter durado cinco dias e a elevação do TTPa manter-se somente até a avaliação das 48 horas, é descrito por GERHARDS, (1991) que os valores de TTPa aumentam mais significativamente nos primeiros dias de terapia.

6.5 Líquido peritoneal

A obtenção do líquido peritoneal por meio da paracentese abdominal é considerada uma prática fácil, segura e de baixo custo, representando o teste laboratorial mais esclarecedor para auxiliar na classificação do tipo de doença e também, para determinar a severidade da lesão abdominal, tornando a análise do líquido peritoneal um exame importante e útil não só para o diagnóstico, mas também para o prognóstico e para o direcionamento da conduta clínica em equinos (NEVES, *et al*, 2000).

Assim como descrito por Blackford *et al*, (1986), Baxter *et al*, (1991), e Lopes *et al*, (1998), algumas colheitas do fluido peritoneal foram improdutivas, tendo a causa deste insucesso não descrita por tais autores. Porém, foi observado que nos animais cujas colheitas foram improdutivas, o exame ultrassonográfico demonstrou a presença de escasso volume de líquido, dificilmente visualizado entre as vísceras durante movimentos peristálticos.

A ocorrência de enterocentese acidental com formação de celulite e edema foi anteriormente descrita por Lopes *et al*, (1998) e observada em dois animais no presente estudo.

6.5.1 Avaliação macroscópica e físico-química

O fluido peritoneal colhido previamente à cirurgia apresentou-se límpido à ligeiramente turvo, característica descrita por Neves *et al*, (2000) como o padrão de normalidade para equinos SRD. A aparência ligeiramente turva de algumas amostras se deu em decorrência do temperamento de alguns animais e agitação no tronco de contenção, com excessiva movimentação da agulha hipodérmica utilizada para colheita resultando em contaminação com sangue de algumas amostras.

Após 12 horas da cirurgia, todas as amostras apresentaram se avermelhadas devido ao sangramento cavitário trans-operatório. Observou-se ainda que tais amostras, após sedimentação eritrocitária, apresentavam a formação de uma camada de células nucleadas que se tornava ainda mais evidente após a centrifugação. Essa formação era característica da fase inflamatória inicial (12 horas), em decorrência da elevada contagem de células nucleadas.

Para os animais do grupo tratado, observou-se a manutenção da coloração avermelhada ao longo do período de tratamento. Essa coloração se deu em função da elevada contagem de eritrócitos no abdômen dos animais tratados com heparina. Em

humanos, é descrita a ocorrência do hemoperitônio na decorrência do tratamento com fármacos anticoagulantes (LUCEY, *et al*, 2005).

Nas análises subsequentes, o fluido peritoneal adquiriu gradativamente a diminuição da turbidez e coloração, tendendo a normalidade.

Observou-se a ocorrência de coagulação positiva em amostras de apenas um animal (8,57% das amostras), sendo este animal do grupo tratado. Possivelmente a coagulação se deu em decorrência da grande quantidade de eritrócitos presentes no líquido peritoneal.

Apesar de não haver diferença significativa entre os grupos para o consumo de glicose, observou-se que para ambos houve consumo após a laparotomia. Frequentemente associa-se o consumo de glicose com a ocorrência de infecção ou neoplasia abdominal (THOMASSIAN, 2005). Não houve indícios de infecção abdominal; dessa forma, a elevada contagem de células nucleadas e resposta inflamatória tenham possivelmente sido as responsáveis pelo consumo observado.

A concentração de proteínas e fibrinogênio elevou-se no pós-operatório, apresentando-se além do padrão de normalidade (1,6 g/dL e 50 mg/dL respectivamente- THOMASSIAN, 2005) denotando resposta inflamatória e estímulo reparatório. O fibrinogênio demonstrou-se ligeiramente mais elevado no GT, possivelmente em decorrência de sua não conversão em fibrina, não ocorrendo, entretanto, diferença entre os grupos nos diferentes momentos.

6.5.2 Citologia

No M0 todos os animais apresentaram contagem total de células nucleadas dentro da normalidade (NEVES, *et al*, 1999; THOMASSIAN, 2005; BROWNING, 2005). Nas primeiras 12-24 horas houve aumento significativo da contagem total de células, representado principalmente por neutrófilos, pois estas células são as principais constituintes do processo inflamatório inicial, atuam rápida e efetivamente como defesa celular primária contra microrganismos, com sua intensa atividade fagocitária e enzimática, e possuem efeito quimiotático sobre os monócitos (DIFILIPPO, 2009).

É sugerido por Ricketts (1987) e Thomassian (2005) que valores entre 100.000 e 150.000 leucócitos/ μ L representam grave inflamação abdominal com instalação de extensa peritonite, provavelmente séptica, com sinais clínicos de hipertermia, taquicardia e taquipneia (Mendes *et al.*, 1999b). Apesar de terem sido obtidos no M1

valores acima do descrito como grave inflamação peritoneal (GC: 185.000 células/ μ L e GT : 165.900 células nucleadas/ μ L), não houve correlação clínica.

Após as 12 horas iniciais houve progressiva diminuição da contagem total de leucócitos, com discreta elevação após o 6º dia de pós-operatório, coincidindo com a suspensão do anti-inflamatório.

Após a laparotomia, não foi detectada diferença significativa entre os grupos nos diferentes momentos. Contudo, houve aumento para ambos os grupos na contagem de células nucleadas, segmentados, mononucleares, linfócitos e macrófagos, estando todos os parâmetros elevados em relação ao padrão de normalidade (NEVES, *et al*, 2000; THOMASSIAN, 2005)

A cronologia celular observada no líquido peritoneal está de acordo com Cheong, *et al*, (2001) e DiZerega, (1990), que relataram ser os neutrófilos polimorfonucleares, seguidos dos monócitos, sequencialmente diferenciados em macrófagos as primeiras células a aparecerem e permanecerem no líquido peritoneal nos primeiros dois dias, seguidos no terceiro dia pelas células mesoteliais.

Devido ao fato de as células mesoteliais, monócitos, macrófagos e linfócitos serem células mononucleares, torna-se mais difícil observar a real evolução da constituição do líquido peritoneal. Os linfócitos apresentam característica típica no sangue periférico ou nos derrames cavitários, não sendo englobados na contagem de células mononucleares do líquido peritoneal, apesar de serem mononucleares. As células descritas como mesoteliais no exame do líquido são as células típicas. Contudo, as atípicas são englobadas na contagem de mononucleares, assim como os monócitos que deixaram o sangue periférico e adentraram a cavidade peritoneal tornando-se macrófagos, somente diferenciados das demais células mononucleares pela presença de fagocitose. Dessa forma, possivelmente o aumento observado por volta do 1-5º dia nas células mononucleares seja correspondente às células mesoteliais e mais tardiamente, aos macrófagos.

Houve diferença significativa para a contagem de hemácias no líquido peritoneal entre os grupos quando se associaram todos os momentos e no M3 e M4, sendo mais elevada no GT devido a administração da heparina. Além da elevada contagem de hemácias no líquido peritoneal devido ao sangramento trans-operatório, possivelmente o tratamento com heparina tenha resultado em manutenção do deslocamento de hemácias para o líquido peritoneal, sendo descrito em humanos a ocorrência de

hemoperitônio em pacientes submetidos a tratamento com anticoagulantes (LUCEY, *et al*, 2005).

6.5.3 tPA, PAI-1 e Dímero D

Foram obtidos valores peritoneais basais mais elevados que a normalidade para o tPA (0,27 - 0,45 UI/mL) e PAI-1 (0 - 2,37 UI/mL), entretanto tais valores foram apresentados na literatura por um único trabalho (DELGADO *et al.*, 2009), no qual foram utilizados os mesmos kits utilizados no presente estudo. Observou-se, porém que o armazenamento e centrifugação da amostra foram procedidos por diferente metodologia, tendo sido o teste realizado no presente estudo em duplicata e conforme as orientações do fabricante. Dessa forma optou-se por utilizar como valores basais de referência, os valores obtidos no M0.

O resultado do tPA significativamente mais elevado no GC pode ter sido encontrado em decorrência da menor disponibilidade de fibrina a ser degradada pelos animais do GT e maior ativação do tPA nos animais do GC para que ocorresse a degradação dos coágulos de fibrina.

Observou-se ainda, que tal diferença foi mais evidente entre o 2º e 6º dia de pós-operatório, provavelmente devido ao fato de o fibrinogênio se elevar após 48 horas do estímulo inflamatório e devido à manutenção do tratamento com heparina até o 5º dia, visto que posteriormente a sua suspensão houve aumento na concentração peritoneal de tPA para o GT, equiparando-se ao GC.

Apesar de se esperar que o estímulo cirúrgico desencadeie lesão mesotelial e consequente diminuição do tPA, observou-se no presente estudo elevação do mesmo para ambos os grupos após a cirurgia, embora tal elevação não seja significativa demonstrou-se que a intensidade do trauma aplicado ao procedimento cirúrgico não foi capaz de resultar em depleção do tPA e aumento do PAI-1, o que seria traduzido em estímulo para redução da fibrinólise (HOLMDAHL, 1997; SHIMOMURA, *et al*, 2012).

Dessa forma, ressalta-se que apesar de o estímulo cirúrgico ter resultado em inflamação, ele não foi o suficiente para desencadear a formação de aderências abdominais, visto a discreta elevação no PAI-1. Apesar de não ter ocorrido elevação do PAI-1 para ambos os grupos, observou-se através da diferença entre os grupos para o tPA que a heparina efetivamente diminui a formação de fibrina devido a menor ativação do tPA.

Achado este, que está de acordo com a diferença observada na taxa de formação de dímeros d (maior no GC), demonstrando que a heparina atuou inibindo a conversão do fibrinogênio em fibrina.

Optou-se pela utilização do teste de aglutinação do látex para determinar a concentração de dímeros d, pois este apresenta vantagens quando comparado ao teste ELISA e Imunofluorescência, com maior disponibilidade no mercado, facilidade de uso e obtenção rápida dos resultados (STOKOL, *et al*, 2005). A concentração dos dímeros d está diretamente relacionada ao diagnóstico e prognóstico de equinos com cólica, sendo que quanto maior a sua concentração, pior é o prognóstico (STOKOL, *et al*, 2005; DELGADO, *et al*, 2009; CESARINI, *et al*, 2010).

Apesar de não se ter obtido diferença significativa entre os grupos para o dímero D, foram observados valores mais elevados para os animais do GC, achado este, que condiz com o esperado, visto que a cirurgia abdominal resulta em um estado de hiperfibrinogênese e hiperfibrinólise (DELGADO, *et al*, 2009). Sendo o dímero D um fragmento liberado exclusivamente pela lise da fibrina pela plasmina, infere-se que os animais do grupo tratado com heparina, apesar de terem sido submetidos ao mesmo procedimento cirúrgico obtiveram menores concentrações de dímeros d por estarem sujeitos a menor deposição de fibrina e apresentarem consequente menor taxa de clivagem da mesma.

Devido ao GT apresentar menor concentração de tPA e menor formação de dímeros d, conclui-se que o tratamento com heparina diminui a atividade fibrinolítica e a formação de coágulos de fibrina. Sabendo-se que valores elevados de dímeros d estão diretamente relacionados à um mau prognóstico e alto índice de mortalidade, amplifica-se o embasamento para utilização da heparina em estados de hipercoagulabilidade e após cirurgias abdominais.

Apesar de os animais do presente estudo não terem apresentado aderências abdominais, infere-se que os resultados obtidos demonstram o potencial de aplicação da heparina na profilaxia das aderências abdominais, sendo necessários estudos clínicos que avaliem a utilização da heparina em equinos acometidos por síndrome cólica e submetidos à laparotomia.

6.5.4 Concentrações peritoneais das proteínas de fase aguda

A $\alpha 1$ antitripsina foi a única proteína que apresentou diferença significativa entre os grupos no líquido peritoneal quando se compararam todos os momentos combinados

e no quarto dia de pós-operatório, sendo esta proteína mais elevada para os animais do GT. Apesar de ser considerada uma proteína de efeito menor em equinos, apresentou elevação superior a 2,5 vezes para ambos os grupos após 12 horas de cirurgia. Segundo Eckersall, 2008, a antitripsina faz parte da categoria de proteínas inibidoras das proteases, atuando na neutralização de enzimas proteolíticas durante o processo inflamatório. Sabe-se, porém, que a heparina possui a propriedade de diminuir a atividade proteolítica plasmática, mecanismo pelo qual resulta em aglutinação na espécie equina. Dessa forma, pode-se suspeitar que o efeito proteolítico da heparina associado à função biológica da antitripsina possa ter resultado em aumento da inflamação no GT.

A $\alpha 1$ glicoproteína ácida (AGP) possui função biológica ainda não bem esclarecida, se ligando a diversos metabólitos endógenos, como a heparina, histamina, serotonina, esteroides e catecolaminas. Na maioria das espécies, a AGP é uma PFA moderada, cuja elevação é lenta e duradoura (PETERSEN, *et al*, 2004; ECKERSALL, 2008). Nos animais avaliados observou-se maior elevação dessa proteína após 48 horas da cirurgia. Acredita-se que à ligação da AGP à heparina resulte em menores concentrações da AGP nos animais tratados, fato este que foi observado no segundo dia de pós-operatório, quando as concentrações peritoneais da AGP foram significativamente maiores para o GC.

Fagliari *et al*, (2008) refere que as proteínas capazes de detectar alterações mais precocemente no líquido peritoneal são a haptoglobina e ceruloplasmina; entretanto a haptoglobina apesar de sofrer elevação para ambos os grupos no pós-operatório não detectou diferença entre os mesmos. A ceruloplasmina atua como agente anti-inflamatório, reduzindo a adesão de neutrófilos ao endotélio. É uma PFA positiva, apresentando-se elevada na resposta de fase aguda (MURATA, *et al*, 2004; ECKERSALL, 2008). Observou-se que a ceruloplasmina proporcionalmente se elevou mais no GC após 12 horas, mas que a concentração no GT foi mais elevada, possibilitando a detecção precoce de diferença entre os grupos, sendo mais elevada no GT 12 horas após a cirurgia.

A proteína não identificada nominalmente elevou-se após o trauma cirúrgico para ambos os grupos e apresentou diferença significativa entre os mesmos no 6º dia de pós-operatório, sendo mais elevada no GT.

Observou-se que a avaliação das concentrações peritoneais das PFA foi capaz de detectar diferenças entre os grupos, sendo aparentemente mais sensível que as PFA

séricas e o leucograma para inferir a resposta inflamatória dos grupos frente ao trauma cirúrgico.

6.6 Exame ultrassonográfico

Apesar de o exame ultrassonográfico por via transretal ser o mais indicado para avaliação do colón menor (REEF *et al.*, 2004), optou-se pela via transabdominal para que não houvesse interferência na cicatrização da enterotomia, possivelmente devido a metodologia aplicada não foi possível acessar o cólon menor na totalidade dos exames, tendo sido este acessado em aproximadamente 85% dos exames nos diferentes momentos. Além disso, dentre estes 85% de acessos, apenas em uma pequena proporção se observou alterações nos segmentos avaliados (espessamentos de parede e irregularidade na arquitetura do órgão), sendo possível que a metodologia não tenha sido adequada para avaliar o segmento específico submetido à enterotomia.

O aumento da ecogenicidade observado 12 horas após a cirurgia, nos animais de ambos os grupos, possivelmente ocorreu devido à migração celular resultante do processo inflamatório abdominal e sangramento cirúrgico intra-cavitário. Observou-se, porém, que para os animais do GT nos dias subsequentes não houve a mesma taxa de redução da ecogenicidade do líquido, como observado no GC. Possivelmente o tratamento com heparina resultou em manutenção do deslocamento de hemácias para o líquido peritoneal, visto a elevada contagem eritrocitária, aspecto macroscópico e ao fato de que após a suspensão do tratamento observou-se gradativa diminuição da ecogenicidade para o GT.

Devido à peritonite difusa pós-cirúrgica instalada observou-se a presença de coágulos de fibrina entre o 4-6º dia e irregularidades no peritônio parietal com deposição de fibrina nos pontos de laparocentese para ambos os grupos. Tais achados foram compatíveis com os descritos na literatura para a inflamação peritoneal, que referem aumento da ecogenicidade devido à elevada celularidade, perda da homogeneidade, deposição de fibrina e presença de debris celulares (REEF *et al.*, 2004; DESROCHERS, 2005).

Apesar de o GT ter apresentado maior ecogenicidade do líquido peritoneal não podemos inferir pelo exame ultrassonográfico que estes animais apresentaram maior reatividade peritoneal, pois a elevada celularidade correspondeu principalmente aos eritrócitos, não sendo observada diferença entre os grupos para a presença de fibrina, debris celulares e espessamentos de peritônio e paredes intestinais.

O exame ultrassonográfico possibilitou a identificação do processo inflamatório peritoneal, porém não permitiu o rastreamento detalhado do cólon menor. A utilização da via transabdominal pode ter influenciado na sensibilidade de detecção de alterações no cólon menor.

6.7 Exame laparoscópico

A laparoscopia foi realizada através do acesso abdominal esquerdo, procedimento este que segundo Silva (1995); Nóbrega, (2010) permite a visualização do cólon menor. Para os animais de ambos os grupos avaliaram-se: a topografia visceral, a quantidade e qualidade de líquido peritoneal, a presença/ausência de inflamação peritoneal visível macroscopicamente, a reatividade do cólon menor à manipulação e a região da enterotomia.

Apesar de alguns animais apresentaram líquido peritoneal com elevada turbidez, não houve diferença entre os grupos e não foi possível identificar pelo exame ultrassonográfico diferença de ecogenicidade entre os animais que apresentaram elevada turbidez e os que não apresentaram pertencentes ao mesmo grupo.

Observou-se, que ambos os grupos apresentavam leve reatividade peritoneal difusa, entretanto foi possível identificar maior reatividade para os animais do GT. Além disso, esses animais responderam à manipulação visceral com a formação mais frequente de áreas hemorrágicas nos pontos de contato com as pinças. Era esperado que o GT apresentasse menor deposição de fibrina na região da enterotomia, entretanto não se observou diferença macroscópica entre os grupos.

A não visualização do cólon menor para o animal 1 possivelmente resultou da formação de aderência fibrinosa unindo este segmento ao cólon dorsal direito, pois após 45 dias, repetiu-se o exame laparoscópico não sendo encontrada qualquer alteração e identificando-se a região da enterotomia.

O exame laparoscópico permitiu uma análise minuciosa da cavidade abdominal e da área submetida à enterotomia, demonstrando não haver diferença significativa no aspecto macroscópico da região da enterotomia quanto à deposição de fibrina; Contudo, permitiu inferir uma discreta diferença de reatividade peritoneal difusa e à manipulação visceral, apresentando-se os animais do GT mais reativos.

A associação do exame ultrassonográfico e laparoscópico permitiram o acesso detalhado da cavidade abdominal, o exame ultrassonográfico permitiu a avaliação da

inflamação peritoneal difusa, enquanto a laparoscopia permitiu análise detalhada do segmento submetido à enterotomia.

7 CONCLUSÕES

O tratamento com heparina, na dose utilizada não resultou em diminuição da reatividade peritoneal pós enterotomia, apesar de laboratorialmente ter demonstrado redução na formação de coágulos de fibrina.

- A heparina na dose utilizada resultou na ocorrência de diminuição da contagem eritrocitária e do hematócrito após 48 horas de utilização, caracterizando anemia transitória;
- A mensuração das concentrações séricas e peritoneais das PFA foram efetivas para acessar a reatividade peritoneal pós-operatória, demonstrando-se mais sensíveis que o leucograma e a citologia do líquido peritoneal;
- As concentrações das PFA foram mais elevadas para os animais do GT, caracterizando a atuação da heparina na dose de 150UI/Kg como agente pró-inflamatório;
- A avaliação das concentrações peritoneais do tPA e dos dímeros d possibilitaram acessar o sistema fibrinolítico nos animais pesquisados e demonstraram que a utilização da heparina resultou em menor deposição de fibrina e consequente menor formação de dímeros d;
- Apesar de o TTPa não ter alcançado os níveis terapêuticos ideais (1,5-2,5 vezes o valor basal do paciente) observou-se que a dose utilizada de heparina foi capaz de reduzir a deposição de fibrina;
- O exame ultrassonográfico possibilitou a identificação do processo inflamatório peritoneal, porém não permitiu a detecção de diferenças entre os grupos e o rastreamento detalhado do cólon menor;
- O exame laparoscópico permitiu uma análise minuciosa da cavidade abdominal, demonstrando discreta superioridade na reatividade peritoneal difusa para o GT desacompanhada de diferença macroscópica entre os grupos para a deposição de fibrina na área submetida à enterotomia.

8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANDRADE, G. P.; STRICKLAND, S. Interaction of heparin with plasminogen activators and plasminogen: effects on the activation of plasminogen. **Biochemistry (Mosc.)**, v. 25, p. 4033–4040, 1986.

ARCHER, R. M., PARSONS, J. C., LINDSAY, W. A. WILSON, J.W.; SMITH, D.F. A comparison of enterotomies through the antimesenteric band and the sacculum of the small (descending) colon of ponies. **Equine Vet. J.**, v. 20, p. 406-413, 1988.

ARIMATEIA, D. S. **Influência do tempo e dose de heparina em modelo de peritonite aguda**. 2011. 53f. Dissertação (Mestrado), Universidade federal do Rio Grande do Norte, Natal, 2011.

AYSAN, E.; BEKTAS, H.; ERSOZ, F.; SARI, S.; HUQ, G. Effects of contractubex on the prevention of postoperative peritoneal adhesion. **J Surg Res.** v. 164, n. 2, p. 193-7, 2010.

BAHADIR, I.; ONCEL, M.; KEMENT, M.; et.al. Intra-abdominal use of taurolidine or heparin as alternative products to an antiadhesive barrier (Seprafilm) in adhesion prevention: an experimental study on mice. **Dis Colon Rectum.**, v.50, n. 12, p. 2209-14, 2007.

BALLESTAS, H.C. Postoperative fever: to what is the body really response? **AORN Journal**, v. 86, n. 6, 2007.

BAXTER, G. M. Intraabdominal Adhesions in Horses. **Compendium of Continuing Education for the Practicing Veterinarian**, v. 13, p. 1587–1597, 1991.

BELMIRO, C. L. R.; CASTELO-BRANCO, M. T. L.; MELIM, L. M. C.; SCHANAIDER, A.; ELLIA, C.; MADI, K.; PAVÃO, M. S. G.; SOUZA, H. S. P. Unfractionated heparin and new heparin analogues from ascidians (Chordate-Tunicate) ameliorate colitis in rats. **J. biolol. Chem**, v. 284, p. 11267-11278, 2009.

BENJAMIN, C. F. Importância da redução da migração de neutrófilos para a cavidade peritoneal na evolução da sepse: papel do óxido nítrico. 106 f. **Tese** (Doutorado em Farmacologia) – Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 1999.

BLACKFORD, J. T.; SCHNEITER, H. L.; VANSTEENHOUSE, J. L. Equine peritoneal fluid analysis following celiotomy. In: **Equine colic research symposium, Proceedings**, Athens, p. 130-133, 1986.

BOLAND, G. M.; WEIGEL, R. J. Formation and prevention of postoperative abdominal adhesions. **J Surg Res**, v. 132, p. 3, 2006.

BOLES, C. Surgical techniques in equine colic. **Journal of South African Veterinary Association**, v. 46, p. 115-119, 1975.

BORGHESAN, A. C. **Avaliação da tromboflebite jugular experimental em equinos tratados com heparina**. 2010. 66f, Dissertação (Mestrado), Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2010.

BOUNAMEAUX, H.; MARBET, G.; LAMMLE, B. Monitoring heparin treatment: comparison of thrombin time, activated partial thromboplastin time, and plasma heparin concentration and analysis of the behavior of antithrombin II. **American Journal of clinical pathology**. v. 74, p. 68-73, 1980.

BOWMAN, K. F. Peritonitis and peritoneal drainage. In: WHITE II, N. A. e MOORE, J. N. **Current practice of equine surgery**. Philadelphia: Lippincott, 1990, p. 377-384.

BREIDER, M. A. Endothelium and inflammation. **Journal American Veterinary Medical Association**, v. 203, n. 2, p. 300-306, 1993.

BRITO, A. S.; ARIMATEIA, D. S.; SOUZA, L. R.; LIMA, M. A.; FERREIRA, P. A.; SILVA, M. A.; VERISSIMA, C. F.; JUSTO, G. Z.; LEITE, E. L.; ANDRADE, G. P. V.; OLIVEIRA, F. W.; NADER, H. B.; CHAVANTE, S. F. Anti-inflammatory properties of a heparin like glycoaminoglycan with reduced

anticoagulant activity isolated from a marina invertebrate. **Bioorg. Med. Chem.** v. 16, p. 9588-95951, 2008.

BROWNING, A. Diagnosis and management of peritonitis in horses. **In Pract.** v. 27, p. 70-75, 2005.

CALDWELL, F. J.; MUELLER, P. O. E. Fibrinolytic responses of the equine peritoneum to abdominal surgery, surgical trauma, and intraperitoneal sodium hyaluronate. **Journal of Equine Veterinary Science**, v. 30, n. 6, p. 298-304, 2010.

CAMPBELL, M.D.; BELLAMY, J.E.; SEARCY, G.P. Determination of plasma fibrinogen concentration in the horse. *American Journal of Veterinary research*, v.42, n.1, p.100-4, 1981.

CESARINI, C.; MONREAL, L.; ARMENGOU, L.; DELGADO, M. A.; RIOS, J. JOSE-CUNILLERAS, E. Association of admission plasma d-dimer concentration with diagnosis and outcome in horses with colic. **J Vet Intern Med**, v. 24, p. 1490–1497, 2010.

CHEONG, Y. C.; LAIRD, S. M.; LI, T. C.; SHELTON, J.B.; LEDGER, W.L.; COOKE, I.D. Peritoneal healing and adhesion formation/reformation. **Hum Reprod Update**, v. 7, p. 556, 2001.

CLAUNCH, K. M; MUELLER, P. O. E. Treating intra-abdominal adhesions: The surgeon's dilemma. **Equine vet. Educ.**, p. 1-4, 2012.

CONRAD, H. E. Heparin binding proteins. **Academic press**. San diego, 1998.

DELGADO, M. A.; MONREAL, L.; ARMENGOU, L.; RIOS, J.; SEGURA, D. Peritoneal d-dimer concentration for assessing peritoneal fibrinolytic activity in horses with colic. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 23, p. 882–889, 2009.

DESROCHERS, A. Abdominal ultrasonography of normal and colicky adult horses. **American Association of Equine Practitioners**, 2005, Québec.

DI FILIPPO, P. A.; SANTANA, A. E; COLETA, F.E.D. Avaliação clínica e eritroleucograma de equinos com cólica submetidos à laparotomia, sobreviventes e não sobreviventes. **Ciência Animal Brasileira**, v. 10, n. 4, p. 1246-1255, 2009a.

DI FILIPPO, P. A.; SANTANA, A. E; NOGUEIRA A. F. S., ANAI, L. A; CAMPOS FILHO, E. Características celulares e bioquímicas do líquido peritoneal de equinos submetidos à obstrução experimental do duodeno, íleo e cólon maior **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.**, v. 61, n. 6, p. 1281-1289, 2009.

DIZEREGA, G. S. The peritoneum and its response to surgical injury. **Prog Clin Biol Res**, v. 358, p. 1, 1990.

DUARTE, C. A.; CATTELAN, J. W; ALESSI, A. C.; VALENTE, P. P; AITA, A. C.; RASERA, L. Enterorrafias em plano aposicional convencional e com adesivo a base de cianoacrilato no cólon descendente de equinos. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 32, n. 4, p. 595-601, 2002.

DUNCAN, S. G., MEYERS, K. M., REED, S. M. Reduction of the red blood cell mass of horses: Toxic effect of heparin anticoagulant therapy. **Am. J. vet. Res.** v. 44, p. 2271-2276, 1983.

ECKERSALL, P.D. Proteins, Proteomics and Dysproteinemias. In: KANEKO, J.J.; HARVEY, J.W.; BRUSS, M.L. **Clinical Biochemistry of Domestic Animals**. 6th ed., San Diego: Academic Press, p.117-155, 2008.

EDINGER, V. H.; MILLER, I.; STANEK, C. Electrophoretic serum protein patterns in laminitic horses. **Dtsch. Tierarztl.Wochenschr**, v. 99, p. 426-430, 1992.

EGGLESTON, R. B.; MUELLER, P. O. Prevention and treatment of gastrointestinal adhesions. **Vet Clin North Am Equine Pract**, v. 19, p. 741–763, 2003.

ERGUL, E.; KORUKLUOGLU, B. Peritoneal adhesions: Facing the enemy. **International Journal of Surgery**, v. 6, p. 253-260, 2008.

FAGLIARI, J. J.; FERREIRA NETO, J. M.; LUCAS, A. Proteinograma total e fracionamento eletroforético do soro de bezerros Guzerá passivamente imunizados contra paratifo. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.**, v. 35, p. 317-332, 1983.

FAGLIARI, J. J.; SILVA, S. L. Hemograma e proteinograma plasmático de equinos hípidos e de equinos acometidos por abdômem agudo, antes e após laparotomia. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.**, v. 54, p. 559-567, 2002.

FAGLIARI, J. J.; SILVA, S. L.; SILVA, P. C.; PEREIRA, G. T. Leucograma e teores plasmáticos de proteínas de fase aguda de equinos portadores de abdômen agudo e submetidos a laparotomia. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.**, v. 60, n. 2, p. 322-328, 2008.

FALEIROS, R.R. Obstrução experimental do cólon menor equino: aspectos clínicos, patológicos e terapêuticos. 2003. 172 f. **Tese** (Doutorado em Cirurgia Veterinária) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, SP, 2003.

FEIGE, K., KÄSTNER, S. B. R., DEMPFLER, C. E., BALESTRA, E. Changes in coagulation and markers of fibrinolysis in horses undergoing colic surgery. **J Vet Med**, v. 50, p. 30-36, 2003.

FEITOSA F.L.F. **Semiologia Veterinária: A arte do diagnóstico**. 2 ed. São Paulo: Roca, 2008.

FELDMAN, B.F., ZINKL, J.G., JAIN, C.N. **Schalm's veterinary hematology**. 5th ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2000.

FISCHER, A. T.; LLOYD, K. C.; CARLSON, G. P.; MADIGAN, J.E. Diagnostic laparoscopy in the horse. **J. Am. Vet. Med. Ass.**, v. 189, p. 289-292, 1986.

FREEMAN, K. D.; SOUTHWOOD, J. L.; LINDBORG, S.; ACETO, H. W. Post Operative infection, pyrexia and perioperative antimicrobial drug use in surgical colic patients. **Equine Vet. J.**, v. 44, p. 476-481, 2012.

GALUPPO, L. D.; SNYDER, J. R.; PASCOE, J. R. Laparoscopic anatomy of the equine abdomen. **Am. J. vet. Res.**, v. 56, p. 518-531, 1995.

GERHARDS, H.; KIETZMANN, M. Dose-dependent plasma elimination of subcutaneously administered calcium heparin in horses. **J Vet Pharmacol Ther**, v. 11, n. 1, p. 77-83, 1988.

GERHARDS, H. Low dose calcium heparin in horses: plasma heparin concentration, effects on red blood cell mass and on coagulation variables. **Eq. Vet. J.**, v. 23, p. 37-43, 1991.

GODSON, D. L.; CAMPOS, M.; ATTAH-POKU, S. K.; REDMOND M. J.; CORDEIRO, D. M.; SETHI, M. S. Serum haptoglobin as an indicator of the acute phase response in bovine respiratory disease. **Vet Immun**, v. 51, n. 3-4, p. 277-292, 1996.

GORDON, A. H. Electrophoresis of proteins in polyacrylamide and starch gels. New York: Elsevier, 1995, p. 213.

GUYTON, A.C., HALL, J.E In: ____ **Tratado De Fisiologia Médica** 10. ed., Guanabara Koogan, Rio de Janeiro, 2002.

HAY, W.; MUELLER, E.; HARMON, B. AMOROSO, L. One Percent Sodium Carboxymethylcellulose Prevents Experimentally Induced Abdominal Adhesions in Horses. **Vet Surg.**, v. 30, p. 223-227, 2001.

HEINZE, H.; KLUG, E.; VON LEPEL, J. D. Optical demonstration of internal genitalia for diagnostics and therapy in equines. **Dtsch. Tierarztl. Wochenschr.**, v. 79, p. 49-51, 1972.

HEINZELMANN, M.; MILLER, M.; PLATZ, A.; GORDON, L. E.; HERZIG, D. O.; POLK, H. C. Heparin and enoxaparin enhance endotoxin induced tumor necrosis factor a production in human monocytes. **Ann Surg.**, v. 229, p. 542-550, 1999.

HILLYER, M. H.; WRIGHT, C. J. Peritonitis in the horse. **Equine Veterinary Education**, v. 9, n. 3, p. 136-142., 1997.

HIRSH, J.; WARKENTIN, T. E.; SHAUGHNESSY, S. G.; ANAND, S. S.; HALPERIN, J. L.; RASCHKE, R.; GRANGER, C.; OHMAN, E. M.; DALNE, J. E. Heparin and low molecular weight heparin. **Chest**, v. 119, p. 64-94, 2001.

HOCHART, H.; JENKINS, P. V.; PRESTON, R. J. S.; SMITH, O. P.; WHITE, B.; O'DONELL, J. Concentration- dependent roles for heparin in modifying lipopolysaccharide - induced activation of mononuclear cells in whole blood. **Thromb. Haemost.**, v. 99, p. 570-575, 2008.

HODGSON, D. R.; ROSE, R. J. **Manual of Equine Practice**. Philadelphia: W.B. Saunders, 1993, p. 242-244.

HOLMDAHL, L. The role of fibrinolysis in adhesion formation. **European Journal of Surgery Supplement**, v. 577, p. 24-31, 1997.

HOLMDAHL, L.; RISBERG, B.; BECK, D. E.; BURNS, J.W.; CHEGINI, N.; DIZEREGA, G.S., ELLIS, H. Adhesions: pathogenesis and prevention-panel discussion and summary. **Eur J Surg Suppl**, v. 56, 1997a.

HOOGMOED, L. V.; RODGER, L. D.; SPIER, S. J.; GARDNER, I. A.; YARBROUGH, T. B.; SNYDER, J. R. Evaluation of peritoneal fluid pH, glucose concentration, and lactate dehydrogenase activity for detection of septic peritonitis in horses. **J. Am. vet. med. Ass.** v. 214, p. 1032-1036, 1999.

IMUDIA, A. N.; KUMAR. S.; SAED, G. M.; DIAMOND, M.P. Pathogenesis of Intraabdominal and pelvic adhesion development. **Semin Reprod Med**, v.26, p. 289, 2008.

IVARSSON, M. L.; FALK, P.; HOLMDAHL, L. Response of visceral peritoneum to abdominal surgery. **Br J Surg**, v. 88, p. 148-151, 2001.

JACOBSEN, S.; NIELSEN, J. V.; HANSEN, M. K.; TOELBOELL, T.; FJELDBORG, J.; THOMSEN, M. H.; MARTINUSSEN, T.; THOEFNER, M. B. Acute phase response to surgery of varying intensity in horses: A preliminary study. **Veterinary Surgery**, v. 38, p. 762-769, 2009.

JANSEN, R. P. Failure of peritoneal irrigation with heparin during pelvic operations upon young women to reduce adhesions. **Surg Gynecol Obstet**, v. 166, p. 154, 1998.

JUNQUEIRA, L. C.; CARNEIRO, J. Histologia Básica. In:_____. **O trato digestivo**. 10º ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2004, p. 284.

KAPTANOGLU, L.; KUCUK, H. F.; YEGENOGLU, A.; UZUN, H. ESER, M.; MENTES, C.V.; KURT, N. Effects of seprafilm and heparin in combination on intra-abdominal adhesions. **Eur Surg Res**. v. 41, n. 2, p. 203-7, 2008.

KEMENT, M.; CENSUR, Z.; ONCEL, M.; BUYUKOKUROGLU, M.E.; GEZES, F.C.. Heparin for adhesion prevention: comparison of three different dosages with Seprafilm in a murine model. **Int J Surg**, v. 9, n. 3, p. 225-8, 2011.

KENT, J. E.; GOODALL, J. Assessment of an immunoturbidimetric method for measuring equine serum haptoglobin concentrations. **Equine Vet J**. v. 23, p. 59-66, 1991.

KONKLE, B. A. Clinical approach to the bleeding patient. In: COLMAN, R. W.; MARDER, V. J.; CLOWES, A. W. **Hemostasis and Thrombosis – Basics Principles and Clinical Practice**, 5 ed., Philadelphia: Leppincott Williams & Wilkins, 2006, p. 1147-58.

KUTLAY, J.; OZER, Y.; ISIK, B.; KARGICI, H. Comparative effectiveness of several agents for preventing postoperative adhesions. **World J Surg.**, v. 28, p. 662, 2004.

LESPERANCE, R.; LEHMAN, R.; LESPERANCE, K.; CRONK, D.; MARTIN, M. Early pos operative fever and the routine fever work up: results of a prospective study. **J. Surg. Res.**, v. 171, p. 245-250, 2010.

LEVER, R.; SMAILBEGOVIC, A.; PAGE, C. P. Locally available heparin modulates inflammatory cell recruitment in a manner independent of anticoagulant activity. **Eur. J. Pharmacol.** v. 630, p. 137-144, 2010.

LOPES, M. A. F.; DEARO, A. C. O; IAMAGUTI; THOMASSIAN, A.; FIGUEIREDO, L.M.A. Aderências peritoneais em equinos: tratamento profilático com carboximetilcelulose. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 28, n. 3, p. 423-430, 1998.

LOPES, S. T. A.; BIONDO, A. W.; SANTOS, A. P. Manual de patologia clínica veterinária. Universidade federal de Santa Maria. 3. ed. 2007.

LUCAS, F.A.; CATTELAN, J.W.; CASTRO, M.B.; VALENTE, P.P. Estudo comparativo da cicatrização de enterorrafias em planos aposicional e invaginante no cólon descendente de equinos. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.53, n.5, p.577-584, 2001.

LUCEY B. C; VARGHESE J. C.; SOTO J. A. Spontaneous hemoperitoneum: causes and significance. **Curr Probl Diagn Radiol**. v. 34, n. 5, p. 182-95, 2005.

LUNA, S.P.L. Interpretação de exames laboratoriais. Diagnóstico em cólica eqüina. In: FORUM DE GASTROENTEROLOGIA EQUINA, I., 1994, Curitiba. **Anais... Curitiba CBCAV**, 1994. p.38-48.

MACDONALD, M.; PASCOE, J.R.; STOVER, S.M.; MEAGHER, D.M. Survival after small intestine resection and anastomosis in horses. **Veterinary Surgery**, v. 18, p. 415–423, 1989.

MACIVER, A. H.; MCCALL, M.; SHAPIRO, A. M. J. Intra-abdominal adhesions: Cellular mechanisms and strategies for prevention. **International Journal of Surgery**, v. 9, p. 589-594, 2011.

MAHAFFEY, E. A.; MOORE, J. N. Erythrocyte agglutination associated with heparin treatment in three horses. **J Am Vet Med Assoc**. v. 189, n. 11, p. 1478-80, 1986.

MAIR, T. S.; HILLYER, M. H.; TAYLOR, F. G. R. Peritonitis in adult horses - A review of 21 cases. **Vet. Rec**. v. 126, p. 567-570, 1990.

MAJERUS P. W. Blood coagulation and anticoagulation, thrombolytic, and antiplatelet drugs. In: BRUNTON, L. L; CHABNER, B.A.; BJORN, C. **Goodman**

& Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics. 11. ed. New York: McGraw Hill, 2006.

MATTEWS, A. G. Serum protein electrophoresis in horses and ponies. **Equine Vet. J.**, v. 14, p. 322-324, 1982.

MCKEEVER, K. H.; HINCHCLIFF, K. W. Neuroendocrine control of blood volume, blood pressure and cardiovascular function in horses. **Equine Veterinary Journal**, v. 18, p. 77-81, 1995.

MENDES, L. C. N; MARQUES, L. C.; SCHOCKEN-ITURRINO, R. P.; ÁVILA, F. A.; MALHEIROS, E. B. Experimental peritonitis in horses: hematological and biochemistry aspects. **Braz. J. Vet. Res. Anim. Sci.**, v. 37, n. 2, 2000.

MESSER, N. T. The use of laboratory tests in equine practice. **Veterinary Clinical North American: Equine Practice**, v. 11, n. 3, p. 345-350, 1995.

MITCHELL, R.; KUMAR, V.; FAUSTO, N.; ABBAS, A.K.; ASTER, J. Inflamação aguda e crônica. In:_____ Robbins & Cotran. Fundamentos de Patologia. **Bases Patológicas das doenças.** 7º ed. p.29-54, 2005.

MONREAL, L.; VILLATORO, A. J.; MONREAL, M. Comparison of the effects of low molecular weight and unfractionated heparin in horses. **American Journal of Vet. Res.**, v. 56, p. 1281-1285, 1995.

MONTELLO, T. G.; CASTRO JUNIOR, J. F. C.; SANTOS, V. P.; CHRISTO, E. C. S.; SILVA FILHO, A. P. F. Alterações hematológicas observadas em equinos submetidos a laparotomia em estação e enterotomia do colon menor. **Acta Scientiae Veterinariae**, v. 32, n. 3, p. 201-205, 2004.

MOORE J. N.; MAHAFFEY, E. A.; ZBORAN, M. Heparin-induced agglutination of erythrocytes in horses. **Am J Vet Res.** v. 48, n. 1, p. 68-71, 1987.

MOORE, B. R.; HINCHCLIFF, K. W. Heparin: a review of its pharmacology and therapeutic use in horses. **J Vet Intern Med.** v. 8, n. 1, p. 26-35, 1994.

MUELLER, E.; EPSTEIN, K. A view into the big ‘black box’: Peering through the window with ultrasound and laparoscopy **Equine vet. Educ.** v. 21, p. 31-35, 2009.

MURATA, H.; SHIMADA, N.; YOSSHIOKA, M. Current research on acute phase proteins in veterinary diagnosis: an overview. **Vet. J.** v. 168, p. 28-40, 2004.

MURRAY, M. J. Peritonite. In: REED, S. M.; BAYLY, W. M. **Medicina Interna Equina**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2000. p. 600-605.

NEVES, M. M.; MARQUES J. R. A. P.; ALVES, G. E. S.; FARIA, E. P. Valores referenciais da análise do líquido peritoneal de equinos sadios. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 30, n. 5, p. 809-811, 2000.

NÓBREGA, F. S. Videolaparoscopia topográfica de equinos em estação com 3 diferentes massas corpóreas. 2010. Dissertação (Mestrado), Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2010.

OPITIZ, I.; VAN DER VEEN, H. C.; BRAUMANN, C.; ABLASSMAIER, B.; FUHRER, K.; JACOBI, C. A. The influence of adhesion prophylactic substances and taurolidine/heparin on local recurrence and intraperitoneal tumor growth after laparoscopic-assisted bowel resection of colon carcinoma in a rat model. **Surgical Endoscopy And Other Interventional Techniques**. v. 17, n. 7, p. 1098-1104, 2003.

PAGANO, M.; GAUVREAU, K. **Principles of Biostatistics**. Duxbury/Thomson Learning, California, p. 285–301, 2000

PARKER, J.; FUBINI, S.; CAR, B.D.; ERB, H.N. Prevention of intra-abdominal adhesions in ponies by low dose heparin therapy. **Vet Surg.**, v. 16, p. 459–62, 1987.

PARRY, B. W. Clinical pathology reference data. In.: ROBINSON, N. E.; SPRAYBERRY, K. A. **Current therapy in equine medicine**. 6. ed., 2009.

PETERSEN, H. H.; NIELSEN, J. P.; HEEGAARD, P. M. H. Application of acute phase protein measurements in veterinary clinical chemistry. **Vet. Res.**, v. 35, p. 163-187, 2004.

PUGATCH E. M.; POOLE, J. C. Inhibitor of fibrinolysis from mesothelium. **Nature**, v. 221, n. 5177, p. 269-70, 1969.

RAGLE, C. Roundtable discussion: Laparoscopy in Equine Practice: Part 1: **Equine Practice**. v. 19, n. 9, p. 7-15, 1997.

REEF, V. B.; WHITTIER, M.; ALLAM, L. G. Sonographic Evaluation of the Adult Abdômen. **Clin Tech Equine Pract**, v. 3, p. 294-307, 2004.

RICKETTS, S.W. Peritonitis In: ROBINSON, N.E. **Current therapy in equine medicine**. 2.ed. London: W.B. Saunders, p.79-81, 1987.

SAS Institute Inc. 2009. SAS/STAT® 9.2 User's Guide, Second Edition. Cary, NC: SAS Institute Inc.

SHETA, E. M. E; FARAG, K. A.; EL-ZOMOR, S. T. Studies on Gambee and Lembert patterns for closure of small colon enterotomies in equine. **Vet. Med. J.**, v.43, p.141-146, 1995.

SHIMOMURA, M.; TAKAO, H.; SATOSHI, I.; TOMOHIRO, A.; KAWAGUCHI, Y.; TOKUNAGA, M.; SASSADA, T.; EGI, H.; TANABE, K.; OKAJIMA, M.; OHDAN, H. Preservation of peritoneal fibrinolysis owing to decreased transcription of plasminogen activator inhibitor-1 in peritoneal mesothelial cells suppresses postoperative adhesion formation in laparoscopic surgery. **Surgery**, 2012.

SILVA, L. C. L.C. **Estudo anatomotopográfico dos órgãos abdominais do equino por via laparoscópica**. 1995. 73f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária- Cirurgia). Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo.

SILVA, L. C. L.C. Aplicações clínicas da laparoscopia em equinos. **Revista de Educação continuada**, São Paulo, v.3, n.3, p. 12-20, 2000.

SILVA, L. C. L. C. Equine diagnostic laparoscopy. **Journal of Equine Veterinary Science**. v. 28, n. 4, p. 247-254, 2008.

SMITH, C. L.; DOWLING, B. A.; DART, A. J. Recent advances in equine abdominal surgery. **Vet. J.** v. 170, p. 41-51, 2005.

STERN-BALESTRA, E. Bestimmung von löslichen Fibrinkomplexen beim Pferd als Möglichkeit zur Diagnostik einer aktivierten Blutgerinnung, Dissertation de mestrado, Universidade de Zurique, Zurique, 2000.

STOKOL, T.; ERB, H. N.; WILDE, L.; TORNQUIST, S. J.; BROOKS, M. Evaluation of latex agglutination kits for detection of fibrin(ogen) degradation products and D-dimer in healthy horses and horses with severe colic . **Vet Clin Pathol.** v. 34, p. 375–382, 2005.

SULLINS, K. E.; WHITE, N. A.; LUNDIN, C. S. Prevention of ischaemia induced small intestinal adhesions in foals. **Equine Vet J.**, v. 36, n. 5, p. 370–5, 2004.

TAKIGUCHI, M.; FUJINAGA, T. ; NAIKI, M. Isolation, characterization, and quantitative analysis of c-reactive protein from horses. **Am. J. Vet. Res.**, v. 51, p.1215-1220, 1990.

THOMASSIAN, A. Afecções do Aparelho digestório. In: ____ **Enfermidades dos Cavalos**, 4ªed. São Paulo: Varela, 2005, p. 265-405.

TOLLEFSEN, D. M.; ZHANG, L. Heparin and vascular proteoglicans. In: COLMAN, R. W.; MARDER, V. J.; CLOWES, A. W. **Hemostasis and Thrombosis Basics principles and clinical practice**, 5. ed., Philadelphia: Leppincott Willians & Wilkins, 2006, p. 217-83.

TRENT, A. M. The peritoneum and peritoneal cavity. In: KOBLUK, C. N. **The horse diseases e clinical management**. Philadelphia: Saunders, 1995, p. 373-404.

TULLENERS, E. P. Complications of abdominocentesis in the horse. **Journal American Veterinary Medicine Association**, v. 182, n. 3, p. 232-234, 1983.

TURNER, A.S.; McILWRAITH, C.W. Laparotomia do flanco e exploração abdominal. In: _____. **Técnicas cirúrgicas em animais de grande porte**. São Paulo: Roca, p.237-242, 2002

VAN HOOGMOED, L.; RODGER, L. D.; SPIER, S. J.; GARDNER, I. A.; YARBROUGH, T. B.; SNYDER, J. R. Evaluation of peritoneal fluid pH, glucose concentration, and lactate dehydrogenase activity for detection of septic peritonitis in horses. **Journal of the American Veterinary Medical Association**. v. 214, n. 7, p. 1032-1036, 1999.

WALMSLEY, J. P. Review of equine laparoscopy and an analysis of 158 laparoscopies in the horse. **Equine vet. J.** v. 31, p. 456-464, 1999.

WARD, B. C.; PANITCH, A. Abdominal adhesions: current and novel therapies. **Journal of Surgical Research**, v. 165, p. 91–111, 2011.

WATSON, A.; VANDEKERCKHOVE, P.; LILFORD, R. Liquid and fluid agents for preventing adhesions after surgery for subfertility. **Cochrane Database Syst Rev**, v.2000, 2006.

WEBER, K.; OSBORN, M. The reliability of molecular weight determinations by dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis. **J Biol Chem**. v. 16, n. 244, p. 4406-12, 1969.

WHITE, N. A. Epidemiology and etiology of colic. In:_____ **The equine acute abdomen**, 2º ed., Teton NewMedia, Incorporated, 420 p., 2009.

WITHERSPOON, D. M.; ADSIT, M. E.; WILLIAMS, D. J. Closed-circuit television as an instructional aid in examination of genital tracts of mares and cows. **J. Am. vet. med. Ass.** v. 160, p. 1129-1130, 1972.

WITHERSPOON, D. M.; TALBOT, R. B. Ovulation site in the mare. **J. Am. vet. med. Ass.** v. 157, p. 1452-1459, 1970.

YOUNG E.; PODOR, T. J.; VENNER, T.; HIRSH, J. Induction of the acute-phase reaction increases heparin-binding proteins in plasma. **Arterioscler Thromb Vasc Biol**. v. 17, n. 8, p. 1568-74, 1997.

YOUNG, D. R.; RICHARDSON, D. W.; MARKEL, M. D. The effect of low dose heparin therapy on complication and survival rates in horses following exploratory celiotomy. **Equine Vet J Suppl.** v. 7, p. 91-3, 1989.

YOUNG, E. The anti-inflammatory effects of heparin and related compounds. **Thrombosis Research**. v. 122, n. 6, p. 743-752, 2008.

ZINKL, J. G.; MAHENDRA, B. K. Neutrophil function. In: KANEKO, J.J. **Clinical biochemistry of domestic animals**. 5. ed. San Diego: Academia Press, 1997. p. 285- 302.

9 ANEXOS

TABELA 19 - Comparação da frequência cardíaca e frequência respiratória entre o Grupo Controle (GC) e Grupo Tratado (GT) nos diferentes momentos.

Momento	Frequência Cardíaca (bpm)					
	Grupo Controle			Grupo Tratado		
	Mediana	Q1	Q3	Mediana	Q1	Q3
M0	36	36	40	44	44	44
M1	40	40	44	44	40	44
M2	36	32	36	40	40	48
M3	36	36	36	40	40	44
M4	36	32	36	44	32	56
M5	36	36	40	44	32	48
M6	36	32	36	40	36	44
M7	36	36	36	44	32	44

Momento	Frequência Respiratória (mpm)					
	Grupo Controle			Grupo Tratado		
	Mediana	Q1	Q3	Mediana	Q1	Q3
M0	20	20	20	20	20	20
M1	20	16	20	24	24	24
M2	20	16	20	20	16	20
M3	20	16	20	20	16	20
M4	16	16	16	20	12	24
M5	16	16	16	20	16	20
M6	16	16	16	20	12	20
M7	16	16	20	20	12	20

Não houve diferença significativa entre os grupos. Q1= primeiro quartil; Q3= terceiro quartil.

TABELA 20 - Comparação dos valores de hemácias, hemoglobina, hematócrito e CHCM entre o grupo controle (GC) e o grupo tratado (GT).

Grupos	Hemácias ($\times 10^6$)			Hemoglobina		
	Mediana	Q1	Q3	Mediana	Q1	Q3
GC	6,9	6,6	7,4	11,7	11,0	12,4
GT	6,4	4,6	7,5	11,0	8,9	12,7

Grupos	Hematócrito			CHCM		
	Mediana	Q1	Q3	Mediana	Q1	Q3
GC	33	31	35	35,8	35	36,6
GT	32	27	36	35,4	34,35	36,45

Não houve diferença significativa entre os grupos. Q1= primeiro quartil; Q3= terceiro quartil.

TABELA 21 - Comparação dos valores do fibrinogênio entre o Grupo Controle (GC) e o Grupo Tratado (GT).

Grupos	Fibrinogênio (mg/dL)		
	Mediana	Q1	Q3
GC	400	400	400
GT	400	400	600

Não houve diferença significativa entre os grupos. Q1= primeiro quartil; Q3= terceiro quartil.

TABELA 22- Comparação dos valores do fibrinogênio entre o Grupo Controle (GC) e o Grupo Tratado (GT) nos diferentes momentos.

Momento	Fibrinogênio (mg/dL)					
	Grupo Controle			Grupo Tratado		
	Mediana	Q1	Q3	Mediana	Q1	Q3
M0	400	300	400	200	200	400
M1	400	200	400	400	400	600
M2	400	200	400	500	400	800
M3	400	400	600	600	400	600
M4	400	400	400	400	400	600
M5	400	400	400	600	200	600
M6	600	400	600	400	400	600
M7	400	400	400	400	400	400

Não houve diferença significativa entre os grupos. Q1= primeiro quartil; Q3= terceiro quartil.

TABELA 23 - Comparação dos valores do leucograma entre o Grupo Controle (GC) e o Grupo Tratado (GT).

Grupos	Leucócitos totais ($10^3/\mu\text{l}$)			Segmentados ($10^3/\mu\text{l}$)		
	Mediana	Q1	Q3	Mediana	Q1	Q3
GC	10200	7800	13000	5600	4204	8150
GT	10200	7700	12800	6143	4027	7817

Grupos	Bastonetes ($10^3/\mu\text{l}$)			Linfócitos ($10^3/\mu\text{l}$)		
	Mediana	Q1	Q3	Mediana	Q1	Q3
GC	0	0	0	2752	1835	3664
GT	0	0	0	2910	2385	3364

Grupos	Eosinófilos ($10^3/\mu\text{l}$)			Monócitos ($10^3/\mu\text{l}$)		
	Mediana	Q1	Q3	Mediana	Q1	Q3
GC	403	72	588	590	369	871
GT	246	0	502	544	326	862

Não houve diferença significativa entre os grupos. Q1= primeiro quartil; Q3= terceiro quartil.

TABELA 24 - Comparação dos valores do leucograma entre o Grupo Controle (GC) e o Grupo Tratado (GT) nos diferentes momentos.

Momento	Leucócitos totais ($10^3/\mu\text{l}$)					
	Grupo Controle			Grupo Tratado		
	Mediana	Q1	Q3	Mediana	Q1	Q3
M0	10200	9600	13200	11400	10700	11700
M1	15500	14700	18400	15500	11400	16400
M2	12300	12200	15000	9300	8000	16300
M3	7900	7800	10600	6400	5500	7900
M4	8600	7200	10200	8000	6500	8000
M5	9200	7800	10600	9500	7500	10000
M6	11000	9200	11600	13000	11800	13500
M7	9300	8300	10000	10400	9700	12600

Momento	Neutrófilos ($10^3/\mu\text{l}$)					
	Grupo Controle			Grupo Tratado		
	Mediana	Q1	Q3	Mediana	Q1	Q3
M0	5610	4521	5676	6206	5203	6318
M1	11025	10695	15120	11470	9462	12709
M2	10332	7076	11550	6882	6080	13203
M3	4380	3978	7420	2816	1870	4977

M4	4176	3268	4270	3360	2600	3520
M5	4240	4232	4446	4620	4465	5800
M6	6160	4784	8064	7695	7670	8450
M7	5871	3320	6138	6760	5626	7938
Bastonetes (10³/μl)						
Momento	Grupo Controle			Grupo Tratado		
	Mediana	Q1	Q3	Mediana	Q1	Q3
M0	0	0	0	0	0	0
M1	0	0	72	0	0	0
M2	0	0	0	0	0	0
M3	0	0	0	0	0	0
M4	0	0	0	0	0	0
M5	0	0	0	0	0	0
M6	0	0	0	0	0	0
M7	0	0	0	0	0	0
Linfócitos (10³/μl)						
Momento	Grupo Controle			Grupo Tratado		
	Mediana	Q1	Q3	Mediana	Q1	Q3
M0	2750	2688	5544	4173	3627	4446
M1	2793	1652	3213	2624	2288	2790
M2	2338	1599	2850	2158	2139	2445
M3	2962	2262	3375	2915	2054	3136
M4	2754	2376	3698	2960	2860	3040
M5	3562	2184	3956	2904	2325	3100
M6	2208	1911	3200	3068	2940	3105
M7	2139	1500	3502	3312	2898	3395
Eosinófilos (10³/μl)						
Momento	Grupo Controle			Grupo Tratado		
	Mediana	Q1	Q3	Mediana	Q1	Q3
M0	660	424	918	213	114	363
M1	0	0	0	0	0	208
M2	0	0	0	0	0	0
M3	474	212	540	0	0	256
M4	612	539	688	325	282	480
M5	411	405	424	500	285	525
M6	348	220	828	650	236	728

M7	465	400	564	504	288	520
Monócitos (10³/µl)						
Momento	Grupo Controle			Grupo Tratado		
	Mediana	Q1	Q3	Mediana	Q1	Q3
M0	768	685	918	355	214	468
M1	465	144	567	820	728	930
M2	600	552	668	320	279	332
M3	624	540	1264	715	370	869
M4	860	576	1326	960	846	1060
M5	685	368	742	825	500	855
M6	580	512	990	588	390	826
M7	470	309	558	416	292	485

Não houve diferença significativa entre os grupos. Q1= primeiro quartil; Q3= terceiro quartil.

TABELA 25 - Comparação do tempo de protrombina (TP) entre o grupo controle (GC) e o grupo tratado (GT).

Grupos	TP (segundos)		
	Mediana	Q1	Q3
GC	16	15	17
GT	15	14,5	17

Não houve diferença significativa entre os grupos. Q1= primeiro quartil; Q3= terceiro quartil.

TABELA 26 - Comparação do tempo de protrombina (TP) entre o grupo controle (GC) e o grupo tratado (GT) nos diferentes momentos.

Momento	TP (segundos)					
	Grupo Controle			Grupo Tratado		
	Mediana	Q1	Q3	Mediana	Q1	Q3
M0	16	15	17	15	15	16
M1	16	16	17	17	17	17
M2	18	17	18	16	16	19
M3	17	17	19	16	16	17
M4	16	15	16	14	14	17
M5	15	15	15	15	14	15
M6	16	14	16	14	14	15
M7	15	15	15	15	14	16

Não houve diferença significativa entre os grupos. Q1= primeiro quartil; Q3= terceiro quartil.

TABELA 27 - Comparação das concentrações séricas (mg/dL) das proteínas de fase aguda entre o Grupo Controle (GC) e o Grupo Tratado (GT).

Grupos	Haptoglobina			Não identificada			Proteína C Reativa		
	Mediana	Q1	Q3	Mediana	Q1	Q3	Mediana	Q1	Q3
GC	11,7	7,3	17,3	816,1	648,1	974,3	15,3	9,9	17,7
GT	23,3	10,6	38,6	946,6	827,5	1089,3	9,9	7,2	13,0

Não houve diferença significativa entre os grupos. Q1= primeiro quartil; Q3= terceiro quartil.

TABELA 28 - Comparação das concentrações séricas (mg/dL) das proteínas de fase aguda entre o Grupo Controle (GC) e o Grupo Tratado (GT) nos diferentes momentos.

α1 antitripsina						
Momento	Grupo Controle			Grupo Tratado		
	Mediana	Q1	Q3	Mediana	Q1	Q3
M0	998,7	880,1	1250,6	1145,9	812,2	1395,8
M1	897,9	835,9	1023,0	1205,3	1038,6	1281,7
M2	872,4	840,5	1265,4	1176,0	694,1	1263,2
M3	852,2	777,7	1176,4	1118,4	776,6	1217,6
M4	975,5	923,2	998,1	1186,4	1081,5	1326,3
M5	837,8	797,2	1051,0	1195,2	1120,8	1245,5
M6	824,0	817,2	911,1	1198,5	862,4	1209,1
M7	932,3	810,6	1009,0	1081,1	697,3	1295,9

α1 glicoproteína ácida						
Momento	Grupo Controle			Grupo Tratado		
	Mediana	Q1	Q3	Mediana	Q1	Q3
M0	41,3	32,1	45,6	40,1	33,9	60,2
M1	34,4	33,5	36,1	27,1	26,9	39,9
M2	48,3	46,1	48,4	34,0	28,4	65,4
M3	60,8	45,9	61,0	48,4	33,8	63,8
M4	48,2	44,6	62,9	67,8	30,4	75,4
M5	53,5	37,2	62,2	68,4	36,1	78,5
M6	41,3	38,7	43,4	63,0	46,4	73,0
M7	28,1	22,5	43,3	39,7	39,0	60,2

Ceruloplasmina						
Momento	Grupo Controle			Grupo Tratado		
	Mediana	Q1	Q3	Mediana	Q1	Q3
M0	8,4	6,0	10,1	5,3	4,0	8,4

M1	3,9	3,8	6,2	7,7	7,4	9,1
M2	5,6	3,6	6,5	5,8	2,8	6,2
M3	4,3	3,4	6,7	3,4	3,3	4,7
M4	3,4	1,9	10,2	6,2	5,3	8,2
M5	3,5	3,0	5,2	5,8	3,9	6,2
M6	6,2	2,4	7,8	5,7	4,5	7,1
M7	6,5	5,2	9,0	7,3	1,9	8,0

Proteína não identificada nominalmente

Momento	Grupo Controle			Grupo Tratado		
	Mediana	Q1	Q3	Mediana	Q1	Q3
M0	734,2	691,8	850,9	987,0	886,4	1191,3
M1	1010,9	766,2	1062,4	973,1	947,5	1111,7
M2	938,4	737,4	967,6	945,8	939,0	1042,1
M3	756,8	622,4	964,0	820,9	783,6	1042,6
M4	803,9	673,8	933,3	810,2	800,1	845,7
M5	867,0	761,5	890,6	954,1	835,8	1028,6
M6	764,1	723,8	905,8	915,5	894,6	1138,1
M7	828,4	580,6	965,2	1084,0	904,5	1088,9

Transferrina

Momento	Grupo Controle			Grupo Tratado		
	Mediana	Q1	Q3	Mediana	Q1	Q3
M0	460,4	260,4	575,7	346,3	308,1	525,3
M1	213,6	202,6	299,4	378,4	313,1	483,2
M2	333,9	289,3	452,4	399,5	360,7	424,7
M3	245,2	205,9	412,0	356,5	162,6	456,9
M4	204,5	184,1	445,5	397,6	362,9	416,6
M5	220,7	195,7	394,8	393,9	319,9	508,8
M6	429,8	302,8	596,4	513,2	364,3	519,4
M7	459,1	395,9	581,6	407,4	341,0	407,5

Não houve diferença significativa entre os grupos. Q1= primeiro quartil; Q3= terceiro quartil.

TABELA 29 - Comparação das características físico-químicas do líquido peritoneal entre o grupo controle (GC) e o grupo tratado (GT).

Grupos	Densidade (mg/dL)			pH		
	Mediana	Q1	Q3	Mediana	Q1	Q3
GC	1026	1022	1028	8	8	8,5
GT	1026	1020	1030	8	8	8,5

Grupos	Proteína (g/dL)			Glicose (mg/dL)		
	Mediana	Q1	Q3	Mediana	Q1	Q3
GC	3,2	2,8	4	100	50	100
GT	3,6	2,6	4,6	50	50	100

Grupos	Fibrinogênio (mg/dL)		
	Mediana	Q1	Q3
GC	200	0	200
GT	200	0	400

Não houve diferença significativa entre os grupos. Q1= primeiro quartil; Q3= terceiro quartil.

TABELA 30 - Comparação das características físico-químicas do líquido peritoneal entre o grupo controle (GC) e o grupo tratado (GT) nos diferentes momentos.

Momento	Densidade (mg/dL)					
	Grupo Controle			Grupo Tratado		
	Mediana	Q1	Q3	Mediana	Q1	Q3
M0	1016	1010	1020	1012	1010	1014
M1	1032	1028	1032	1030	1030	1032
M2	1028	1025	1028	1026	1026	1028
M3	1026	1024	1028	1025	1022	1029
M4	1024	1024	1028	1026	1026	1028
M5	1026	1026	1028	1028	1022	1036
M6	1024	1022	1024	1020	1020	1026
M7	1026	1024	1026	1023	1019	1028

Momento	pH					
	Grupo Controle			Grupo Tratado		
	Mediana	Q1	Q3	Mediana	Q1	Q3
M0	9,0	9,0	9,0	8,5	8,0	9,0
M1	8,0	8,0	8,0	8,0	8,0	8,0
M2	8,0	8,0	8,3	8,3	8,0	8,8
M3	8,0	8,0	8,0	8,3	8,0	8,8

M4	8,0	8,0	8,0	8,0	8,0	8,0
M5	8,0	8,0	8,5	8,0	8,0	8,0
M6	8,0	8,0	8,0	8,0	8,0	8,0
M7	8,0	8,0	8,0	8,0	8,0	8,3
Proteína total (g/dL)						
Momento	Grupo Controle			Grupo Tratado		
	Mediana	Q1	Q3	Mediana	Q1	Q3
M0	1,0	1,0	1,4	1,4	0,8	1,6
M1	4,6	4,0	4,6	4,6	4,6	4,6
M2	4,1	3,4	4,4	4,4	3,7	5,1
M3	3,4	3,2	4,0	3,7	3,6	4,1
M4	3,2	3,0	3,6	3,8	3,8	5,2
M5	3,0	3,0	3,6	4,8	0,3	5,2
M6	3,2	3,0	3,4	3,4	3,0	3,6
M7	3,8	3,0	3,8	3,0	2,4	3,7
Glicose (mg/dL)						
Momento	Grupo Controle			Grupo Tratado		
	Mediana	Q1	Q3	Mediana	Q1	Q3
M0	100	100	100	300	100	300
M1	50	50	50	0	0	50
M2	75	50	100	50	25	50
M3	100	100	100	75	50	100
M4	100	100	100	100	50	100
M5	100	50	100	100	50	100
M6	50	50	100	50	50	100
M7	50	50	100	75	50	100
Fibrinogênio (mg/dL)						
Momento	Grupo Controle			Grupo Tratado		
	Mediana	Q1	Q3	Mediana	Q1	Q3
M0	0	0	0	0	0	0
M1	200	0	400	400	200	400
M2	100	0	300	300	100	500
M3	200	0	200	300	100	400
M4	400	200	400	200	0	200
M5	0	0	200	100	0	200
M6	200	0	200	200	200	200

M7	200	200	200	0	0	100
----	-----	-----	-----	---	---	-----

Não houve diferença significativa entre os grupos. Q1= primeiro quartil; Q3= terceiro quartil.

TABELA 31 - Comparação da citologia do líquido peritoneal entre o grupo controle (GC) e o grupo tratado (GT).

Grupos	Células nucleadas/ μ L					
	Mediana	Q1	Q3	Mediana	Q1	Q3
GC	59850,0	34650,0	154825,0			
GT	69900,0	27352,0	159600,0			

Grupos	Segmentados / μ L			Mononucleares / μ L		
	Mediana	Q1	Q3	Mediana	Q1	Q3
GC	50490,0	29040,0	143420,0	2670,0	800,0	7502,0
GT	42872,0	20787,5	142290,0	4896,0	896,7	10885,2

Grupos	Linfócitos típicos / μ L			Macrófagos / μ L		
	Mediana	Q1	Q3	Mediana	Q1	Q3
GC	1914,0	1039,5	3700,0	1039,5	0,0	3096,5
GT	2373,0	1439,2	3921,2	820,6	0,0	4452,0

Grupos	Células mesoteliais / μ L			Eosinófilos / μ L		
	Mediana	Q1	Q3	Mediana	Q1	Q3
GC	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
GT	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	441,0

Não houve diferença significativa entre os grupos. Q1= primeiro quartil; Q3= terceiro quartil.

TABELA 32 - Comparação da citologia do líquido peritoneal entre o grupo controle (GC) e o grupo tratado (GT) nos diferentes momentos.

Momento	Células nucleadas/ μ L					
	Grupo Controle			Grupo Tratado		
	Mediana	Q1	Q3	Mediana	Q1	Q3
M0	743,0	742,0	1000,0	800,0	787,0	1365,0
M1	185000,0	152500,0	206400,0	165900,0	159600,0	193200,0
M2	184325,0	145275,0	210725,0	152348,5	87248,5	279825,0
M3	63000,0	56100,0	68200,0	118650,0	71962,0	258300,0
M4	36300,0	21945,0	47850,0	43050,0	35647,0	48900,0
M5	48950,0	34650,0	59850,0	49404,5	27352,0	71457,0
M6	61862,0	37370,0	65940,0	44100,0	21315,0	69900,0
M7	70195,0	46712,0	89000,0	140250,0	84500,0	168150,0

Segmentados / μL						
Momento	Grupo Controle			Grupo Tratado		
	Mediana	Q1	Q3	Mediana	Q1	Q3
M0	364,1	267,1	580,0	221,0	208,0	472,5
M1	159100,0	128100,0	175440,0	143640,0	139356,0	160356,0
M2	145869,3	121889,5	159744,8	112877,7	55017,4	229372,5
M3	51030,0	50490,0	56606,0	107971,5	37420,2	232470,0
M4	29040,0	18214,4	42108,0	29340,0	26735,3	30565,5
M5	42097,0	31185,0	50872,5	31830,9	20787,5	42874,2
M6	47633,7	33633,0	57367,8	39690,0	17691,5	60813,0
M7	60367,7	37836,7	80990,0	128061,0	78352,0	154008,0

Mononucleares / μL						
Momento	Grupo Controle			Grupo Tratado		
	Mediana	Q1	Q3	Mediana	Q1	Q3
M0	274,9	153,0	360,0	544,0	196,8	805,4
M1	14448,0	6100,0	18500,0	19908,0	12768,0	27048,0
M2	23432,5	15958,5	36085,0	16467,6	8120,1	39217,5
M3	7502,0	4587,9	9450,0	7119,0	6476,6	25830,0
M4	2392,5	2178,0	2414,0	4277,6	3423,9	5868,0
M5	1958,0	1890,0	5386,5	6096,1	2188,2	10004,0
M6	1675,8	1494,8	3465,0	1323,0	637,9	7689,0
M7	794,0	0,0	2670,0	932,0	0,0	3380,0

Linfócitos / μL						
Momento	Grupo Controle			Grupo Tratado		
	Mediana	Q1	Q3	Mediana	Q1	Q3
M0	104,0	60,0	204,0	78,7	40,0	85,0
M1	4053,0	3700,0	12200,0	3318,0	1596,0	3874,5
M2	4672,5	2194,5	6518,0	4782,8	3047,0	8583,8
M3	2520,0	1683,0	2728,0	2373,0	1439,2	10332,0
M4	1914,0	1533,0	1941,5	3921,2	3660,7	6457,5
M5	1254,0	1039,5	2205,0	2713,0	2143,7	3282,2
M6	3093,1	1675,8	3297,0	1764,0	1488,3	2344,7
M7	1548,3	1191,0	2670,0	2115,0	1590,0	5176,5

Macrófagos / μL						
Momento	Grupo Controle			Grupo Tratado		
	Mediana	Q1	Q3	Mediana	Q1	Q3

M0	7,4	0,0	12,0	12,6	8,0	17,0
M1	1850,0	0,0	4128,0	1596,0	0,0	1659,0
M2	0,0	0,0	2499,8	3759,0	0,0	23110,5
M3	561,0	0,0	1364,0	5166,0	1186,5	25186,7
M4	1435,5	0,0	1941,5	489,0	0,0	712,9
M5	1795,5	1039,5	1958,0	7556,0	820,6	14291,4
M6	1318,8	747,4	6804,8	882,0	0,0	2764,1
M7	3096,5	2670,0	3509,8	3774,0	845,0	7617,0

Células Mesoteliais / μ L

Momento	Grupo Controle			Grupo Tratado		
	Mediana	Q1	Q3	Mediana	Q1	Q3
M0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	41,0
M1	0,0	0,0	2064,0	0,0	0,0	0,0
M2	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
M3	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	719,6
M4	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
M5	315,0	0,0	598,5	851,3	273,5	1429,1
M6	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	425,2
M7	0,0	0,0	702,0	0,0	0,0	0,0

Eosinófilos / μ L

Momento	Grupo Controle			Grupo Tratado		
	Mediana	Q1	Q3	Mediana	Q1	Q3
M0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
M1	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
M2	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	604,7
M3	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	719,6
M4	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
M5	598,5	0,0	693,0	357,3	0,0	714,6
M6	0,0	0,0	373,7	213,2	0,0	441,0
M7	0,0	0,0	467,1	790,5	0,0	1681,5

Não houve diferença significativa entre os grupos. Q1= primeiro quartil; Q3= terceiro quartil.

TABELA 33 - Comparação dos valores do inibidor do ativador do plasminogênio (PAI-1) entre o grupo controle (GC) e o grupo tratado (GT).

Grupos	PAI-1		
	Mediana	Q1	Q3
GC	18,91	16,66	25,28
GT	18,83	16,50	30,90

Não houve diferença significativa entre os grupos. Q1= primeiro quartil; Q3= terceiro quartil.

TABELA 34 - Comparação do ativador do plasminogênio tecidual (tPA), inibidor do ativador do plasminogênio (PAI-1) e dímero D entre o grupo controle (GC) e o grupo tratado (GT) nos diferentes momentos.

Momento	tPA (UI/mL)					
	Grupo Controle			Grupo Tratado		
	Mediana	Q1	Q3	Mediana	Q1	Q3
M0	0,78	0,67	0,93	1,10	0,67	1,25
M1	2,78	2,62	2,84	2,65	2,65	2,77
M2	2,82	2,67	2,83	2,60	0,92	2,86
M3	2,83	2,79	2,91	1,82	1,66	2,50
M4	2,72	1,65	2,77	1,18	1,04	1,76
M5	2,54	1,64	2,59	0,93	0,00	2,41
M6	2,46	1,97	2,55	2,62	0,93	2,63
M7	2,16	1,72	2,67	2,31	1,28	2,59

Momento	PAI-1(UI/mL)					
	Grupo Controle			Grupo Tratado		
	Mediana	Q1	Q3	Mediana	Q1	Q3
M0	17,45	16,02	21,57	16,81	12,53	17,45
M1	18,72	18,40	28,23	17,76	16,50	18,83
M2	23,48	19,67	34,12	28,26	20,89	34,32
M3	24,43	18,70	24,43	20,57	12,73	27,21
M4	19,10	17,13	25,70	18,40	15,88	25,70
M5	16,50	15,21	19,35	18,70	14,81	23,79
M6	18,72	17,13	21,11	24,11	18,56	31,97
M7	16,18	15,86	24,87	29,80	19,68	40,15

Momento	Dímero D (ng/mL)					
	Grupo Controle			Grupo Tratado		
	Mediana	Q1	Q3	Mediana	Q1	Q3
M0	0	0	0	0	0	0
M1	32000	1000	32000	8000	8000	16000
M2	8000	8000	8000	4000	2000	32000
M3	8000	4000	16000	2000	1000	8000
M4	4000	4000	8000	2000	2000	8000
M5	2000	1000	4000	500	0	1000
M6	4000	500	4000	500	500	1000
M7	500	500	2000	0	0	2000

Não houve diferença significativa entre os grupos. Q1= primeiro quartil; Q3= terceiro quartil.

TABELA 35 - Comparação das concentrações peritoneais (mg/dL) das proteínas de fase aguda entre o Grupo Controle (GC) e o Grupo Tratado (GT).

Grupos	Transferrina			α 1 glicoproteína ácida		
	Mediana	Q1	Q3	Mediana	Q1	Q3
GC	127,1	72,9	162,8	26,2	13,3	46,7
GT	124,9	95,5	158,3	18,7	9,8	38,2

Grupos	Ceruloplasmina			Haptoglobina		
	Mediana	Q1	Q3	Mediana	Q1	Q3
GC	1,0	0,5	1,7	13,2	6,2	20,6
GT	1,3	0,6	2,0	10,5	6,7	19,7

Grupos	Proteína C Reativa			Proteína não identificada (23kDa)		
	Mediana	Q1	Q3	Mediana	Q1	Q3
GC	2,6	1,4	4,6	259,8	204,0	353,7
GT	4,2	2,3	4,8	327,7	204,7	462,8

Não houve diferença significativa entre os grupos. Q1= primeiro quartil; Q3= terceiro quartil.

TABELA 36 - Comparação das concentrações peritoneais (mg/dL) das proteínas de fase aguda entre o Grupo Controle (GC) e o Grupo Tratado (GT) nos diferentes momentos.

Haptoglobina (mg/dL)						
Momento	Grupo Controle			Grupo Tratado		
	Mediana	Q1	Q3	Mediana	Q1	Q3
M0	1,1	0,9	1,5	12,8	5,1	25,5
M1	16,2	9,3	26,2	21,2	12,6	22,6
M2	18,4	9,8	27,5	18,0	10,9	23,4
M3	14,8	13,2	15,2	8,1	5,4	11,1
M4	15,3	11,6	17,3	9,7	9,1	11,4
M5	7,9	5,9	22,0	10,7	7,7	25,2
M6	19,5	7,7	21,6	7,3	3,2	11,9
M7	9,5	7,3	16,9	8,0	5,5	15,1

Proteína C Reativa (mg/dL)						
Momento	Grupo Controle			Grupo Tratado		
	Mediana	Q1	Q3	Mediana	Q1	Q3
M0	1,4	1,0	1,6	1,1	0,3	2,6
M1	4,3	4,3	4,6	2,3	1,6	4,0
M2	2,0	1,2	4,6	3,6	2,2	6,3
M3	1,4	1,4	3,8	4,1	3,1	5,2
M4	4,8	3,5	4,8	3,9	2,8	6,2
M5	3,7	1,4	4,7	4,7	4,6	6,2
M6	1,4	0,3	1,5	4,4	4,3	4,9
M7	3,7	1,7	4,5	4,6	3,8	5,1

Transferrina (mg/dL)						
Momento	Grupo Controle			Grupo Tratado		
	Mediana	Q1	Q3	Mediana	Q1	Q3
M0	38,5	34,5	60,5	47,4	25,4	117,2
M1	215,6	104,1	234,5	126,9	125,6	229,0
M2	154,4	139,5	194,3	183,7	164,3	197,8
M3	133,9	127,1	176,2	99,1	95,6	116,8
M4	135,3	101,6	162,6	137,2	128,5	143,6
M5	110,7	84,7	118,3	117,6	84,0	213,2
M6	80,4	72,9	138,3	123,0	95,5	124,3
M7	129,2	74,4	145,7	103,2	94,0	135,5

Não houve diferença significativa entre os grupos. Q1= primeiro quartil; Q3= terceiro quartil.

REVISTA “EQUINE VETERINARY JOURNAL”

AUTHOR GUIDELINES

General Articles

General Articles should describe experimental or clinical research studies, including systematic reviews, and normally be around 4000 words including figure legends, table legends and references, with up to 3 tables and 6 figures (this includes figures labelled a, b, c etc).

A summary, no more than 300 words in total, should be provided with the following headings.

- **Reasons for performing study:** i.e. why the work was undertaken in the first place, the background behind the decision to choose this subject to study.
- **Objectives:** The statement that is being tested, and is testable by the methods (below); or the original aims of the study and the deliverables.
- **Study Design:** concise statement of the study design.
- **Methods:** Brief description of materials and methods and methods of testing hypotheses.
- **Results:** Brief highlights of the results obtained.
- **Conclusions:** Conclusions drawn from results.
- **Potential relevance:** The potential relevance/significance of the results to clinical application and/or the need for further research or work.

The introduction should be limited to 500 words and the remainder of the manuscript should be presented in the following sections; Materials and Methods, Results, and Discussion, with subheadings, including data analysis, as appropriate. Manuscripts exceeding 5000 words will not be sent to external peer reviewers. Additional tables, figures, video material or text describing further details of methods or results can be submitted as Supporting Information Items (see below). All quantitative results should be analysed by appropriate statistical methods.

To minimise publication bias, *EVJ* encourages authors to publish negative results, providing authors can demonstrate that the study had adequate power to detect differences.

Pairs or larger sets of papers that must be reviewed, and subsequently read, together are not accepted and articles must describe discrete studies, using references where appropriate to make methods sections concise. If appropriate, authors can upload in press articles with identifying details removed, for reviewers' use.

MANUSCRIPT FORMAT AND STRUCTURE

Manuscript File Format

Manuscripts should be submitted as Word documents (.doc, .docx) (not write-protected) in double spacing on A4 page size, the pages should be numbered and there should be line numbers continuously throughout the document. Division of the paper should be indicated clearly by major headings, subheadings and sub-subheadings.

The text file must contain the manuscript including summary, text, references, tables and figure legends but no embedded figures. Figure tags should be included in the file. A word count for the entire text including figure and table legends and references (but not including Supplementary Information) should be provided. Figures should be provided in separate files (see below for details of format).

Keywords for publication

Authors can provide up to six keywords for publication immediately below the title which may help readers find the article in various search engines. These should reflect the manuscript content and should usually include the word “horse” or similar but not “Equine” or “Veterinary” as these terms will be included in most Search Engines as being within the journal's title. Keywords for publication should be listed within the “Title Page” document immediately below the authors' names and addresses. Note during the submission process, you will also be required to choose ScholarOne keywords which facilitate the review process – see Section 5.6.

Language

The language of publication is English. Authors for whom English is a second language should consider having their manuscript professionally edited before submission to make sure the English is of high quality. A list of independent suppliers

of editing services can be found at http://authorservices.wiley.com/bauthor/english_language.asp. All services are paid for and arranged by the author, and use of one of these services does not guarantee acceptance or preference for publication.

EVJ provides Chinese translations of article summaries online within the Supporting Information section. Authors are welcome to include foreign language translations of their summary as supplementary items for online only publication. Such items should be entitled “Supplementary Item: Summary in French” etc. If appropriate, start numbering any additional supplementary items from 1.

Abbreviations, Symbols and Nomenclature

Doses and measurements should be given in metric (SI) units with /kg bwt added where appropriate. Abbreviations are discouraged. Where possible, only abbreviations that are in common use within the relevant field or discipline should be used. Authors must avoid inventing their own abbreviations for anatomical terms and techniques. Where they are unavoidable, abbreviations must be explained in both the summary and main text. Spelling should conform to the Oxford English Dictionary, medical terminology to Dorlands Medical Dictionary and units, symbols and abbreviations should conform to the International System of Units defined by Baron, D.N. (Ed) (1994) “Units, Symbols, and Abbreviations: A Guide for Medical and Scientific Editors and Authors, 5th edn.” Royal Society of Medicine Press, London.

Drug names and Manufacturers’ details

The generic name of drugs, equipment or other materials should be given in the text, with product name in brackets. Recommended International Non-Proprietary Names (rINNs) should be used. The manufacturer’s details (company name, town/city, state/county and country) should then be listed under a “Manufacturers’ details” heading at the end of the article before the Reference section. References to this list should be indicated as superscript letters throughout the text. Brand or trade names should not be used in the title and must be in brackets throughout the text.

References

It is the responsibility of the authors to ensure that all reference details are accurate. References are indicated throughout the text as numbers within square brackets [1, 2, 3 etc] and the final list of references must correspond with the order in which they appear in the main body of the text.

The format in the reference list is as follows: author(s) name(s) and initials, year of publication in parentheses, full title of article, journal title (in italics) as abbreviated in the World List of Scientific Periodicals, volume number (in bold) and page numbers: e.g. Foster, B.W., Codd, J. and Smith, R. (1992) Effect of stress on ulcers in foals. *Equine vet. J.* 35, 43-52.

References to book articles should be set out as follows: author(s) name(s) and initials, date of publication in parentheses, title of chapter or article, full title of book, edition, name(s) of editor(s) if relevant, publisher, place of publication and pages referred to: e.g. Robin, C. (1991) Calcium in plants eaten by horses. In: *Dietary Calcium*, 2nd edn., Ed: J. Chalk, Blackwells Scientific, London. pp 195-201.

The editor and publisher recommend that citation of online published papers and other material should be done via a DOI (digital object identifier), which all reputable online published material should have - see www.doi.org/ for more information. If an author cites work that does not have a DOI they run the risk of the cited material not being traceable. We recommend the use of a tool such as EndNote or Reference Manager for reference management and formatting. EndNote reference styles can be searched for here: www.endnote.com/support/enstyles.asp Reference Manager reference styles can be searched for here: www.refman.com/support/rmstyles.asp

Table and Figure Legends

Legends should be short as appropriate but should be intelligible to the reader without reference to the text. Legends should also cite the reference used if appropriate. A list of figure legends should be placed at the end of the text (before references).

Tables

Tables should be referenced in the appropriate place in the text but should be placed at the end of the text (before references) accompanied by appropriate legends. Duplication of data in tables, figures and text should be avoided.

Figures

Illustrations should be provided when necessary to clarify the text. Figures should be referred to in the text. Authors are encouraged to use colour in graphs, line drawing and other figures.

Photomicrographs must state magnification, preferably with a scale bar, and staining technique. Line drawings should be original diagrams on clean white paper or board and must be submitted in digital form (see below). Symbols and lines should be standard and not drawn by hand. Do not include a “chart title” when creating graphs and charts.

Print publication requires high quality images to prevent the final product being blurred or fuzzy. Submit EPS (line art) or TIFF (halftone/photographs) files only. Do not use pixel-oriented programs. Scans (TIFF or JPG) should have a resolution of at least 300 dpi (halftone) or 600 to 1200 dpi (line drawings) in relation to the reproduction size (see below). EPS files should be saved with fonts embedded (and with a TIFF preview if possible). For scanned images, the scanning resolution (at final image size) should be as follows to ensure good reproduction: line art: >600 dpi; halftones (including gel photographs): >300 dpi; figures containing both halftone and line images: >600 dpi. Further information can be obtained at Wiley-Blackwell Publishing's guidelines for figures: <http://www.authorservices.wiley.com/bauthor/illustration.asp> Check your electronic artwork before submitting it: <http://www.authorservices.wiley.com/bauthor/eachecklist.asp>

Atividade fibrinolítica peritoneal pós-enterotomia de cólon menor em equinos tratados com heparina

Palavras chave: ativador do plasminogênio tecidual, cavalo, dímero D, fibrinólise, heparina, inibidor do ativador do plasminogênio

RESUMO

Justificativa para a realização do estudo: A heparina é rotineiramente administrada no pós-operatório de cirurgias abdominais para prevenir a formação de aderências, entretanto não há um consenso na literatura indicando a efetividade de tal utilização.

Objetivos: Avaliar a atividade fibrinolítica peritoneal pós-enterotomia de cólon menor em equinos tratados com heparina.

Métodos: Foram utilizados dez equinos adultos, divididos em dois grupos de cinco animais: grupo o controle (GC) e grupo tratado (GT). Ambos os grupos foram submetidos à laparotomia e enterotomia de cólon menor através da via paralombar direita em posição quadrupedal e receberam flunixin meglumine, gentamicina e associação de penicilinas. Ao GT acrescentou-se heparina subcutânea (150 UI/Kg, bwt q. 12 horas, 5 dias). Os animais foram avaliados quanto as concentrações peritoneais do ativador do plasminogênio tecidual (tPA), inibidor do ativador do plasminogênio do tipo 1 (PAI-1) e do dímero D previamente à enterotomia (M0); 12 horas após (M1); 1 dia (M2); 2 dias (M3); 4 dias (M4); 6 dias (M5); 10 dias (M6) e 14 dias após a enterotomia (M7).

Resultados: Obteve-se diferença significativa entre os grupos quando se associou todos os momentos para o tPA, sendo a mediana obtida no GC: 2,59 (UI/mL) e no GT: 2,03 (UI/mL). Quando se comparou os grupos nos diferentes momentos não se obteve diferença significativa, entretanto observou-se valores menores de tPA e dímero D para o GT durante o período de tratamento com heparina.

Conclusões: Associando-se o fato de o GT apresentar menor concentração de tPA e menor formação de dímeros d, conclui-se que o tratamento com heparina diminui a formação de coágulos de fibrina e a atividade fibrinolítica peritoneal.

Relevância: Sabendo-se que valores elevados de dímeros d estão diretamente relacionados a um mau prognóstico e alto índice de mortalidade, amplifica-se o

embasamento para utilização da heparina em estados de hipercoagulabilidade e após cirurgias abdominais.

Introdução

As células mesoteliais participam ativamente do processo de inflamação e reparação peritoneal através da liberação de mediadores inflamatórios, pró-coagulantes e fibrinolíticos [1]. A fibrinólise é ativada pelo ativador do plasminogênio tecidual (tPA) e inibida da pelo inibidor do plasminogênio tecidual do tipo 1 (PAI-1) que é estimulado na presença de trauma, infecção, ou endotoxina [2, 3, 4, 5, 6]

A expressão do tPA e PAI-1 nos tecidos não inflamados se dá respectivamente no mesotélio e camada submesotelial [7]. O ato cirúrgico resulta em abrasão do mesotélio eliminando a fonte de tPA e expondo a camada submesotelial, aumentando a fonte de PAI-1 [7], dessa forma, após a cirurgia ocorre diminuição da degradação e aumento na produção de fibrina, podendo acarretar na formação de aderências abdominais [6].

O dímero D é um fragmento liberado exclusivamente pela lise da fibrina através da *plasmina*, correlaciona-se sericamente, com a destruição da fibrina após estados de hipercoagulabilidade e hiperfibrinogênese, sendo um marcador de acesso da atividade fibrinolítica e da coagulação [8, 1, 9].

Para análise do dímero D são utilizados anticorpos contra os produtos de degradação da fibrina humano, disponíveis em kits comerciais de ELISA, imunofiltração, imunoturbidometria e aglutinação em látex, tendo este último destaque em relação aos demais, devido a sua disponibilidade, facilidade de uso e rápido resultado [8].

A determinação do dímero D é um teste sensitivo para o diagnóstico de doenças tromboembólicas e coagulação intravascular disseminada em humanos, e se enquadra como um bom preditor de mortalidade. Em equinos detecta estados de hipercoagulabilidade na cólica associada à isquemia, inflamação e peritonite [8,9].

O padrão de normalidade para o plasma de equinos é de 1000 ng/mL [8] e no líquido peritoneal varia de 4.0- 88.0 ng/mL [1]. Nos casos de peritonite são referidas concentrações peritoneais médias de 24.301 ng/mL [1]. Poucos estudos foram desenvolvidos no líquido peritoneal, sendo a maioria em humanos. A mensuração da concentração de dímeros d no líquido peritoneal de equinos com distúrbios gastro intestinais severas detecta marcante hiperfibrinólise relacionada ao aumento na

formação e degradação de fibrina [1]. É estabelecido como ponto de corte para predição do mau prognóstico em equinos com afecção abdominal o valor > 4.000 ng/mL [9].

Os fármacos mais comumente utilizados no pós-operatório de cirurgias abdominais são os anti-inflamatórios, antibióticos e agentes anticoagulantes [10,11]. Os anticoagulantes são utilizados com o objetivo de prevenir a formação de coágulos de fibrina e consequentemente inibir a formação de aderências [10, 12].

A heparina é um proteoglicano ácido sulfatado que apresenta uma pequena fração de sua molécula responsável pelo efeito anticoagulante, esta fração se liga a antitrombina III, que por sua vez é um inibidor lento da trombina, plasmina e fatores de coagulação. A heparina catalisa a reação de inibição da antitrombina III estimulando o ativador do plasminogênio tecidual (tPA) e inibindo os fatores de coagulação das vias comuns e intrínseca, inclusive a trombina [13, 14, 15].

Não há um consenso na literatura indicando que a utilização da heparina promova a inibição da formação de aderências [11]. São relatados resultados diversos, a utilização da heparina em pôneis submetidos a aderências experimentalmente induzidas resultou em significativa diminuição da formação das mesmas quando utilizada a dose de 40 UI/Kg a cada 12 horas, durante 48 horas [16], entretanto a utilização da heparina de baixo peso molecular na dose de 66 UI/KG a cada 12 horas durante 5 dias em equinos submetidos à laparotomia não demonstrou redução das complicações pós operatórias ou aumento na taxa de sobrevivência [17].

Em ratos, a utilização da heparina isoladamente [18, 19, 20] ou associada a outras terapias profiláticas após a laparotomia e indução de aderências [18, 21], promoveu resultados favoráveis. Porém há autores que utilizaram o tratamento em ratos [22] ou humanos [23, 24, 25] e não obtiveram inibição da formação de aderências.

A dose recomendada da heparina se mantém controversa, variando de 20 a 150 UI/ Kg a cada 6-12 horas durante 2-3 dias [10]. Apesar de não haver estudos em equinos, a aplicação intraperitoneal de 30.000 UI de heparina diluída em solução fisiológica é rotineiramente utilizada nesta espécie e informalmente descrita como eficaz [10].

Objetiva-se avaliar o efeito da heparina sobre a atividade fibrinolítica peritoneal, visto a frequente utilização deste fármaco como agente profilático na inibição da formação de aderências abdominais.

Materiais e Métodos

Animais

Foram utilizados 10 equinos adultos, sem raça definida, submetidos à laparotomia e enterotomia de cólon menor em posição quadrupedal. Os animais foram divididos em dois grupos de 05 animais: grupo controle (GC) e grupo tratado (GT), que imediatamente após o ato cirúrgico e a cada 12 horas durante 05 dias recebeu heparina sódica na dose de 150 UI/Kg.

Preparação cirúrgica

Previamente à cirurgia foi realizada tricotomia da região abdominal direita, administrado Penicilina Potássica (Ariston)¹ na dose de 30.000 UI/Kg por via endovenosa, Gentamicina (Gentatec)² na dose de 6,6 mg/Kg por via endovenosa e Flunixin Meglumine (Chemitec)³, na dose de 1,1 mg/Kg por via endovenosa para ambos os grupos. O procedimento foi realizado em posição quadrupedal e sob sedação através da infusão contínua de detomidina (Dormium V)⁴ com bolus de 5µg/kg seguido de infusão contínua de 20µg/kg/h associada ao butorfanol (Turbogesic)⁵ em bolus de 20µg/kg seguido de infusão contínua de 13µg/kg/h. Após antissepsia com digluconato de clorexidine degermante a 2% e alcoólico a 0,5% (Riohex)⁶, foi realizada a anestesia local na região cirúrgica com Lidocaína (Xylestesin)⁷ a 2% associada a vasoconstritor, através da deposição na linha de incisão e tecidos profundos adjacentes.

Procedimento cirúrgico

Realizou-se incisão de pele de aproximadamente 10 cm na fossa paralombar direita, o tecido subcutâneo e musculatura foram divulsionados, o peritônio perfurado e a cavidade abdominal acessada. Procedeu-se a identificação do cólon menor através de palpação direta, exteriorizou-se o segmento localizado mais aboralmente, foram aplicados duas pinças de coprostase a fim de se interromper o fluxo fecal após esvaziar o segmento e delimitar a região da enterotomia. Posteriormente aplicou-se duas pinças do tipo *Allis* para o posicionamento do segmento e realização da enterotomia na região da tênia e aplicação de sutura em padrão simples separado com fio Catgut (Catgut cromado 3-0)⁸, seguida de abrasão da camada serosa com gaze seca em 50 movimentos repetidos para cada porção adjacente a tênia, tornando a região hemorrágica. O segmento foi reposicionado e a síntese da parede abdominal foi realizada em padrão

Sultan com fio de poligalactina 910 número 2 (Vicryl)⁹ e a pele em padrão *Wolff* com fio de Nylon pescal 0,60 (Dourado)¹⁰.

Após a cirurgia foi administrado Penicilina Benzatina (Mogipen)¹¹ na dose de 30.000 UI/Kg por via intramuscular a cada 72 horas, durante 10 dias, Gentamicina, na dose de 6,6 mg/Kg IV, a cada 24 horas, durante 05 dias, Flunixin Meglumine na dose de 1,1 mg/kg, por via intramuscular a cada 24 horas, durante 5 dias e soro antitetânico (Vencosat)¹² na dose de 10.000UI por via subcutânea em aplicação única para ambos os grupos.

Momentos de avaliação

Os animais foram submetidos à colheita do líquido peritoneal para mensuração das concentrações do ativador do plasminogênio tecidual (tPA), inibidor do ativador do plasminogênio do tipo 1 (PAI-1) e do dímero D previamente à enterotomia (M0); 12 horas após (M1); 1 dia (M2); 2 dias (M3); 4 dias (M4); 6 dias (M5); 10 dias (M6) e 14 dias após a enterotomia (M7).

Colheita e processamento da amostra

As amostras de líquido peritoneal foram coletadas na região mais ventral do abdômen, utilizando-se uma agulha hipodérmica de 40x12mm e tubo contendo citrato de sódio à 3,8%. Coletou-se a proporção de 9 volumes de líquido para 1 volume de anticoagulante. As amostras eram imediatamente centrifugadas após a coleta, utilizando-se a rotação de 1000G para as amostras de dímero D, 3000G para o PAI e 2500G para o tPA, sendo todas as amostras centrifugadas durante 15 minutos.

Após a centrifugação as amostras eram fracionadas em tubos *ependorf*, sendo as referentes ao dímero D refrigeradas à -20°C, respeitando-se o limite de um mês para o processamento da amostra, as referentes ao tPA foram refrigeradas durante quatro meses à -70°C e as referentes ao PAI-1 foram refrigeradas durante um mês a -70°C.

As análises do dímero D foram realizadas através do teste de aglutinação do látex (D Dimer test¹³), conforme as orientações do fabricante, e as concentrações do tPA e PAI-1 foram determinadas através de teste ELISA (Human tPA activity assay¹⁴ e Human PAI-1 activity assay¹⁵), conforme as orientações do fabricante.

Análise estatística

A distribuição das variáveis-resposta foi analisada como um dos critérios para escolha do método analítico. Devido à presença de graus variados de assimetria e desvios de um padrão Gaussiano de distribuição, o teste de Wilcoxon [26] foi utilizado para comparar a mediana de cada variável-resposta entre os grupos de estudo. Posteriormente, a comparação entre grupos foi realizada em cada momento. Para cada grupo, o teste de Wilcoxon para amostras pareadas [26] foi usado para comparar a mediana de cada variável entre cada momento e o momento inicial. A análise estatística foi realizada com o procedimento PROC NPAR1WAY [27] e a significância estatística foi definida como $P < 0.05$.

Resultados

Os valores basais de tPA para ambos os grupos apresentaram-se ligeiramente acima dos valores referidos na literatura (0,27 - 0,45 UI/mL)[1]. Após a cirurgia o tPA elevou-se para ambos excedendo o padrão de normalidade e quando comparou-se os grupos após associação de todos os momentos houve diferença significativa ($p < 0,0069$) para o tPa, obtendo-se as medianas de 2,6 (GC) e 2,0 (GT) (tabela1). Observou-se que na comparação entre os grupos nos diferentes momentos, que apesar de as concentrações do tPA serem menores no GT ao longo do período de tratamento não houve diferença significativa (tabela 2).

Os valores basais para o PAI-1 apresentaram se mais elevados que a referência citada na literatura (0 - 2,37 UI/mL) [1]. E não se observou alteração nas concentrações após o procedimento cirúrgico, não havendo diferença significativa ($p < 0,7022$) entre grupos ou momentos (tabela 1 e 2).

Os valores basais de dímeros d apresentaram-se abaixo da normalidade (4,0 - 88,0 ng/mL)[1] sendo detectadas concentrações $< 0,5$ ng/mL. Após a cirurgia observou-se aumento da formação de dímeros para ambos os grupos e não se identificou diferença significativa entre os grupos quando se comparou todos os momentos combinados ($p < 0,0745$), porém obteve-se valores consideravelmente maiores para o GC, sendo as medianas de 4.000 ng/mL (GC) e 1.500 ng/mL (GT) (tabela 1). Apesar de os valores do dímero D apresentarem-se mais elevados no grupo controle ao longo dos momentos de avaliação não houve diferença significativa entre os grupos nos diferentes momentos (tabela 2).

Discussão

Foram obtidos valores peritoneais basais mais elevados que a normalidade para o tPA (0,27 - 0,45 UI/mL) e PAI-1 (0 - 2,37 UI/mL), entretanto tais valores foram apresentados na literatura por um único trabalho [1], no qual foram utilizados os mesmos kits utilizados no presente estudo. Observou-se, porém que o armazenamento e centrifugação da amostra foram procedidos por diferente metodologia, tendo sido o teste realizado no presente estudo em duplicata e conforme as orientações do fabricante. Dessa forma optou-se por utilizar como valores basais de referência, os valores obtidos no M0.

O resultado do tPA significativamente mais elevado no GC pode ter sido encontrados em decorrência da menor disponibilidade de fibrina a ser degradada pelos animais do GT e maior ativação do tPA nos animais do GC para que ocorresse a degradação dos coágulos de fibrina.

Observou-se ainda, que tal diferença foi mais evidente entre o 2º e 6º dia de pós-operatório, provavelmente devido ao fato de o fibrinogênio se elevar após 48 horas do estímulo inflamatório e devido à manutenção do tratamento com heparina até o 5º dia, visto que posteriormente a sua suspensão houve aumento na concentração peritoneal de tPA para o GT, equiparando-se ao GC.

Apesar de se esperar que o estímulo cirúrgico desencadeie lesão mesotelial e consequente diminuição do tPA, observou-se no presente estudo elevação do mesmo para ambos os grupos após a cirurgia, embora tal elevação não seja significativa demonstrou-se que a intensidade do trauma aplicado ao procedimento cirúrgico não foi capaz de resultar em depleção do tPA e aumento do PAI-1, o que seria traduzido em estímulo para redução da fibrinólise [7,6].

Dessa forma, ressalta-se que apesar de o estímulo cirúrgico ter resultado em inflamação, ele não foi o suficiente para desencadear a formação de aderências abdominais, visto a discreta elevação no PAI-1. Apesar de não ter ocorrido elevação do PAI-1 para ambos os grupos, observou-se através da diferença entre os grupos para o tPA que a heparina efetivamente diminui a formação de fibrina devido a menor ativação do tPA.

Achado este, que está de acordo com a diferença observada na taxa de formação de dímeros d (maior no GC), demonstrando que a heparina atuou inibindo a conversão do fibrinogênio em fibrina.

Optou-se pela utilização do teste de aglutinação do látex para determinar a concentração de dímeros d, pois este apresenta vantagens quando comparado ao teste ELISA e Imunofluorescência, com maior disponibilidade no mercado, facilidade de uso e obtenção rápida dos resultados [8]. A concentração dos dímeros d está diretamente relacionada ao diagnóstico e prognóstico de equinos com cólica, sendo que quanto maior a sua concentração, pior é o prognóstico [8, 1, 9].

Apesar de não se ter obtido diferença significativa entre os grupos para o dímero D, foram observados valores mais elevados para os animais do GC, achado este, que condiz com o esperado, visto que a cirurgia abdominal resulta em um estado de hiperfibrinogênese e hiperfibrinólise [1]. Sendo o dímero D um fragmento liberado exclusivamente pela lise da fibrina pela plasmina, infere-se que os animais do grupo tratado com heparina, apesar de terem sido submetidos ao mesmo procedimento cirúrgico obtiveram menores concentrações de dímeros d por estarem sujeitos a menor deposição de fibrina e apresentarem consequente menor taxa de clivagem da mesma.

Devido ao GT apresentar menor concentração de tPA e menor formação de dímeros d, conclui-se que o tratamento com heparina diminui a atividade fibrinolítica e a formação de coágulos de fibrina. Sabendo-se que valores elevados de dímeros d estão diretamente relacionados à um mau prognóstico e alto índice de mortalidade, amplifica-se o embasamento para utilização da heparina em estados de hipercoagulabilidade e após cirurgias abdominais.

Apesar de os animais do presente estudo não terem apresentado aderências abdominais, infere-se que os resultados obtidos demonstram o potencial de aplicação da heparina na profilaxia das aderências abdominais, sendo necessários estudos clínicos que avaliem a utilização da heparina em equinos acometidos por síndrome cólica e submetidos à laparotomia.

Agradecimentos

À FAPESP (Fundação de Amparo à pesquisa do Estado de São Paulo) pelo apoio financeiro referente ao processo 2011/23359-9.

Manufacture's addresses

¹ Penicilina G Potássica - Ariston ind. Química e farmacêutica Ltda.

² Gentatec - Chemitec, Agro-veterinária Ltda

³ Flunixin injetável- Chemitec, Agro-veterinária Ltda.

- ⁴ Dormium V- Agener União Ltda.
- ⁵ Torbugesic- Fort Dodge Ltda.
- ⁶ Xylestesin- Cristália, produtos químicos e farmacêuticos Ltda.
- ⁷ Riohex- Rioquímica, Ltda.
- ⁸ Brasuture- Brasuture suturas cirurgicas
- ⁹ Vicryl 2- Johnson & Johnson Ltda.
- ¹⁰ Linha para pesca 0,60 mm – Dourado.
- ¹¹ Mogipen - Bimeda, Mogivet Farmacêutica S.A.
- ¹² Vencosat - Laboratórios Vencofarma do Brasil Ltda.
- ¹³ D Dimer test – Horiba medical Ltd.
- ¹⁴ Human tPA activity assay, Molecular Innovations SPSS Inc, Chicago, IL
- ¹⁵ Human PAI-1 activity assay, Molecular Innovations SPSS Inc, Chicago, IL

Referências

- [1] Delgado, M. A., Monreal, L., Armengou, L., Rios, J., Segura, D. (2009) Peritoneal d-dimer concentration for assessing peritoneal fibrinolytic activity in horses with colic. *J Vet Int Med.* 23, 882–889.
- [2] Holmdahl L., Risberg, B., Beck, D. E., Burns, J.W., Chegini, N., DiZerega, G.S., Ellis, H. (1997a) Adhesions: pathogenesis and prevention-panel discussion and summary. *Eur J Surg Suppl*, 577, 56-62.
- [3] Ivarsson, M. L., Falk, P., Holmdahl, L. (2001) Response of visceral peritoneum to abdominal surgery. *Br J Surg*, 88, 148–151.
- [4] Mitchell, R., Kumar, V., Fausto, N., Abbas, A.K., Aster, J. (2005) Inflamação aguda e crônica. In:_____ Robbins & Cotran. Fundamentos de Patologia. *Bases Patológicas das doenças*. 7th edn. pp.29-54.
- [5] Caldwell, F. J., Mueller, P. O. E. (2010) Fibrinolytic responses of the equine peritoneum to abdominal surgery, surgical trauma, and intraperitoneal sodium hyaluronate. *Journal of Equine Veterinary Science*, 30 (6), 298-304.
- [6] Shimomura, M., Takao, H.; Satoshi, I., Tomohiro, A., Kawaguchi, Y.; Tokunaga, M., Sassada, T., Egi, H., Tanabe, K., Okajima, M., Ohdan, H. (2012) Preservation of peritoneal fibrinolysis owing to decreased transcription of plasminogen activator inhibitor-1 in peritoneal mesothelial cells suppresses postoperative adhesion formation in laparoscopic surgery. *Surgery*.

- [7] Holmdahl, L. (1997) The role of fibrinolysis in adhesion formation. *Eur J Surg Suppl* 577, 24–31.
- [8] Stokol, T., Erb, H. N., Wilde, L., Tornquist, S. J., Brooks, M. (2005) Evaluation of latex agglutination kits for detection of fibrin(ogen) degradation products and D-dimer in healthy horses and horses with severe colic. *Vet Clin Pathol.* 34, 375–382.
- [9] Cesarini, C., Monreal, L., Armengou, L., Delgado, M. A., Rios, J., Jose-Cunilleras, E. (2010) Association of admission plasma d-dimer concentration with diagnosis and outcome in horses with colic. *J Vet Intern Med.* 24, 1490–1497.
- [10] Eggleston, R. B., Mueller, P. O. (2003) Prevention and treatment of gastrointestinal adhesions. *Vet Clin North Am Equine Pract.* 19, 741–763.
- [11] Claunch, K. M., Mueller, P. O. E. (2012) Treating intra-abdominal adhesions: The surgeon's dilemma. *Equine vet Educ.*, 24(11), 552-555.
- [12] Ward, B. C., Panitch, A. (2011) Abdominal adhesions: current and novel therapies. *J Surg Res*, 165, 91–111.
- [13] Andrade, G. P., Strickland, S. (1986) Interaction of heparin with plasminogen activators and plasminogen: effects on the activation of plasminogen. *Biochemistry (Mosc.)*, 25, 4033–4040.
- [14] Moore, B. R., Hinchcliff, K. W. (1994) Heparin: a review of its pharmacology and therapeutic use in horses. *J Vet Intern Med.* 8(1), 26-35.
- [15] Majerus P. W. (2006) Blood coagulation and anticoagulation, thrombolytic, and antiplatelet drugs. In: BRUNTON, L. L.; CHABNER, B.A.; BJORN, C. **Goodman & Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics**. 11th. edn. New York: McGraw Hill.
- [16] Parker, J., Fubini, S., Car, B.D., Erb, H.N. (1987) Prevention of intra-abdominal adhesions in ponies by low dose heparin therapy. *Vet Surg.* 16, 459–62.
- [17] Young, D. R., Richardson, D. W., Markel, M. D. (1989) The effect of low dose heparin therapy on complication and survival rates in horses following exploratory celiotomy. *Equine Vet J Suppl.* 7, 91-93.
- [18] Kutlay, J., Ozer, Y., Isik, B., Kargici, H. (2004) Comparative effectiveness of several agents for preventing postoperative adhesions. *World J Surg.* 28, 662.
- [19] Bahadir, I., Oncel, M., Kement, M. (2007) Intra-abdominal use of taurolidine or heparin as alternative products to an antiadhesive barrier (Seprafilm) in adhesion prevention: an experimental study on mice. *Dis Colon Rectum.* 50(12), 2209-2214.

- [20] Kement, M., Censur, Z., Oncel, M., Buyukokuroglu, M.E., Gezes, F.C. (2011) Heparin for adhesion prevention: comparison of three different dosages with Seprafilm in a murine model. *Int J Surg*. 9(3), 225-228.
- [21] Aysan, E., Bektas, H., Ersoz, F., Sari, S., Hug, G. (2010) Effects of contractubex on the prevention of postoperative peritoneal adhesion. *J Surg Res*. 164(2), 193-197.
- [22] Kaptanoglu, L., Kucuk, H. F., Yegenoglu, A., Uzun, H., Eser, M., Menten, C.V., Kurt, N.(2008) Effects of seprafilm and heparin in combination on intra-abdominal adhesions. *Eur Surg Res*. 41(2), 203-207.
- [23] Jansen, R. P.(1998) Failure of peritoneal irrigation with heparin during pelvic operations upon young women to reduce adhesions. *Surg Gynecol Obstet*. 166, 154.
- [24] Opitz, I., Van der Veen, H. C., Braumann, C., Alassmaier, B., Fuhrer, K., Jacobi, C. A.(2003) The influence of adhesion prophylactic substances and taurolidine/heparin on local recurrence and intraperitoneal tumor growth after laparoscopic-assisted bowel resection of colon carcinoma in a rat model. *Surg End Interv Techn*. 17(7), 1098-1104.
- [25] Watson, A., Vandekerckhove, P., Lilford, R. (2006) Liquid and fluid agents for preventing adhesions after surgery for subfertility. *Cochrane Database Syst Rev*. 2000.
- [26] Pagano, M., Gauvreau, K. (2000) *Principles of Biostatistics*. Duxbury/Thomson Learning, California, 285–301.
- [27] SAS Institute Inc. (2009) SAS/STAT® 9.2 User's Guide, 2nd Edn. Cary, NC: SAS Institute Inc.

TABELA 1 - Comparação das concentrações peritoneais do tPA, PAI-1 e dímero D entre o GC e o GT.

Grupos	tPA (UI/mL)*			PAI-1 (UI/mL)			Dímero D (ng/mL)		
	Mediana	Q1	Q3	Mediana	Q1	Q3	Mediana	Q1	Q3
GC	2,59	1,65	2,81	18,91	16,66	25,28	4000	500	8000
GT	2,03	0,92	2,63	18,83	16,50	30,90	1500	0	6000

* diferença significativa entre os grupos ($p < 0,005$). Q1= primeiro quartil; Q3= terceiro quartil.

TABELA 2 - Comparação das concentrações peritoneais do tPA, PAI-1 e dímero D entre o GC e o GT nos diferentes momentos.

tPA (UI/mL)						
Momento	Grupo Controle			Grupo Tratado		
	Mediana	Q1	Q3	Mediana	Q1	Q3
M0	0,78	0,67	0,93	1,10	0,67	1,25
M1	2,78	2,62	2,84	2,65	2,65	2,77
M2	2,82	2,67	2,83	2,60	0,92	2,86
M3	2,83	2,79	2,91	1,82	1,66	2,50
M4	2,72	1,65	2,77	1,18	1,04	1,76
M5	2,54	1,64	2,59	0,93	0,00	2,41
M6	2,46	1,97	2,55	2,62	0,93	2,63
M7	2,16	1,72	2,67	2,31	1,28	2,59

PAI-1(UI/mL)						
Momento	Grupo Controle			Grupo Tratado		
	Mediana	Q1	Q3	Mediana	Q1	Q3
M0	17,45	16,02	21,57	16,81	12,53	17,45
M1	18,72	18,40	28,23	17,76	16,50	18,83
M2	23,48	19,67	34,12	28,26	20,89	34,32
M3	24,43	18,70	24,43	20,57	12,73	27,21
M4	19,10	17,13	25,70	18,40	15,88	25,70
M5	16,50	15,21	19,35	18,70	14,81	23,79
M6	18,72	17,13	21,11	24,11	18,56	31,97
M7	16,18	15,86	24,87	29,80	19,68	40,15

Dímero D (ng/mL)						
Momento	Grupo Controle			Grupo Tratado		
	Mediana	Q1	Q3	Mediana	Q1	Q3
M0	0	0	0	0	0	0
M1	32000	1000	32000	8000	8000	16000
M2	8000	8000	8000	4000	2000	32000
M3	8000	4000	16000	2000	1000	8000
M4	4000	4000	8000	2000	2000	8000
M5	2000	1000	4000	500	0	1000
M6	4000	500	4000	500	500	1000
M7	500	500	2000	0	0	2000

Não houve diferença significativa entre os grupos. Q1= primeiro quartil; Q3= terceiro quartil.

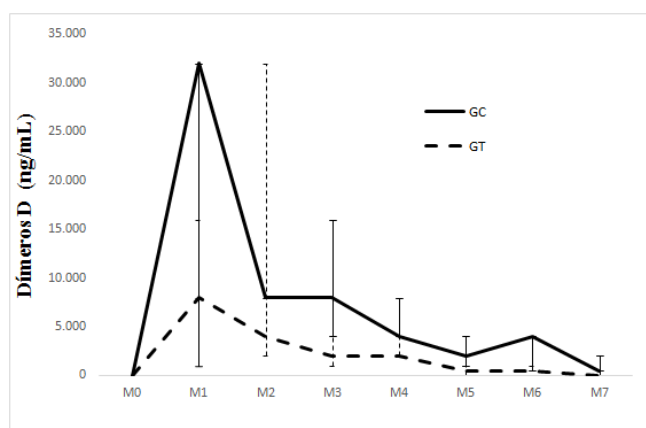


FIGURA 1 - Comparação das medianas das concentrações peritoneais dos dímeros D entre os grupos nos diferentes momentos. As barras de erro representam o primeiro e terceiro quartil.

REVISTA “EQUINE VETERINARY EDUCATION”

AUTHOR GUIDELINES

Original Articles

Original Articles have a high scientific content and contain original work. They may include, for example analyses of data from case series or results of clinical research studies. Articles should be no more than 4000 words in length including references and tables and should include illustrations. A brief summary should be included at the beginning of the article.

Papers submitted and accepted for publication in this category are eligible for the Richard Hartley Clinical Prize, previously only awarded to papers submitted to *Equine Veterinary Journal (EVJ)*.

MANUSCRIPT FORMAT AND STRUCTURE

Format: Please save your document in Microsoft Word (.doc, .docx). Manuscripts should be in double spacing on A4 page size with margins of at least 2 cm. The first page should include the title, author(s) names, place of work, full postal address and contact details: telephone number, fax number and email address - plus about 5 relevant keywords. The document should have continuous line numbering throughout.

Language: The language of publication is English. Authors for whom English is a second language must have their manuscript professionally edited by an English speaking person before submission to make sure the English is of high quality. It is preferred that manuscripts are professionally edited. A list of independent suppliers of editing services can be found at http://authorservices.wiley.com/bauthor/english_language.asp. All services are paid for and arranged by the author and use of one of these services does not guarantee acceptance or preference for publication.

Abbreviations, Symbols and Nomenclature: Doses and measurements should be given in metric (SI) units with /kg bwt added where appropriate. Specialised abbreviations must be explained. Spelling should conform to the Oxford English Dictionary, medical terminology to Dorlands Medical Dictionary and units, symbols

and abbreviations should conform to the International System of Units defined by Baron, D.N. (Ed) (1994) 'Units, Symbols, and Abbreviations: A Guide for Medical and Scientific Editors and Authors, 5th edn.' Royal Society of Medicine Press, London. All quantitative results should be analysed by appropriate statistical methods.

Manufacturers' addresses: The generic name should be given in the text with product name in parentheses, followed by a superscript number, e.g. phenylbutazone (Equipalazone)¹. The manufacturer's details (company name, town/city, state/county and country where manufacturer is based) should then be listed under the heading 'Manufacturers' addresses' at the end of the article before the Reference section.

References

References in the text are given as the author(s) and year, i.e. (Evans 1961; Smith and Jones 1990) or Evans (1961). Papers with more than 2 authors are cited as et al. i.e. Jones et al. (1989). References in the text within the same parentheses are given in chronological order. The final list of references should be alphabetical. References by the same first author and published in the same year should be labelled a, b, c etc within the text (e.g. Smith 1992a) and listed sequentially in the reference list.

The format in the reference list is as follows: author(s) name(s) and initials, year of publication in parentheses, full title of article, journal title as abbreviated in the World List of Scientific Periodicals, volume number and page numbers: e.g. Foster, B.W., Codd, J. and Smith, R. (1992) Effect of stress on ulcers in foals. *Equine vet. J.* **35**, 43-52.

References to book articles should be set out as follows: author(s) name(s) and initials, date of publication in parentheses, title of chapter or article, full title of book, edition, name(s) of editor(s) if relevant, publisher, place of publication and pages referred to: e.g. Robin, C. (1991) Calcium in plants eaten by horses. In: *Dietary Calcium*, 2nd edn., Ed: J. Chalk, Blackwells Scientific, London. pp 195-201.

Tables, Figures and Figure Legends

Tables: Tables should be used to avoid lengthy descriptions of results and should be referenced in the appropriate place in the text, on separate pages and accompanied by

adequate headings and legends. Duplication of data in tables, figures and text should be avoided. Tables should be limited to no more than 3.

Figures: All figures must be uploaded individually. Colour illustrations are welcome. Photomicrographs must state magnification, preferably with a scale bar, and staining technique. Line drawings should be original diagrams on a white background. Symbols and lines should be standard and not drawn by hand. Any tables or illustrations which have been published previously should include a suitable acknowledgement to the original source. It is the author's responsibility to obtain permission for their reproduction.

Illustrations should be provided when necessary to clarify the text. The legends should be intelligible without reference to the text. Figures should also be referred to in the text.

Figure Legends: Legends should be short as appropriate and avoid repetition of text in Materials and Methods or Results. It should also cite the reference used if appropriate.

Avaliação ultrassonográfica e laparoscópica da reatividade peritoneal pós-enterotomia de cólon menor em equinos tratados com heparina

Palavras chave: inflamação, heparina, equino, laparoscopia, cólon menor

RESUMO

A heparina é rotineiramente administrada no pós-operatório de cirurgias abdominais para prevenir a formação de aderências, entretanto não há um consenso na literatura indicando a efetividade de tal utilização. Objetivou-se avaliar o efeito da heparina sobre a reatividade peritoneal pós-enterotomia de cólon menor, através da associação do exame ultrassonográfico e laparoscópico. Foram utilizados dez equinos adultos, divididos em dois grupos de cinco animais: grupo controle (GC) e grupo tratado (GT). Ambos os grupos foram submetidos à laparotomia e enterotomia de cólon menor através da via paralombar direita em posição quadrupedal e receberam flunixin meglumine, gentamicina e associação de penicilinas. Ao GT acrescentou-se heparina subcutânea na dose de 150 UI/Kg, a cada 12 horas, durante 5 dias. Os animais foram submetidos a exame ultrassonográfico previamente à enterotomia (M0); 12 horas após (M1); 1 dia (M2); 2 dias (M3); 4 dias (M4); 6 dias (M5); 10 dias (M6) e 14 dias após a enterotomia (M7). Observou-se através do exame ultrassonográfico a ocorrência de inflamação para ambos os grupos, entretanto o líquido peritoneal dos animais do GT apresentou maior ecogenicidade durante o tratamento com heparina. No exame laparoscópico observou-se discreta reatividade peritoneal difusa para ambos os grupos, sendo esta mais elevada para o GT, na região da enterotomia observou-se semelhante deposição de fibrina para os grupos. A associação do exame ultrassonográfico e laparoscópico permitiram o acesso detalhado da cavidade abdominal, o exame ultrassonográfico permitiu a avaliação da inflamação peritoneal difusa, enquanto a laparoscopia permitiu análise detalhada não só da cavidade, mas também do segmento submetido à enterotomia. Não foram observados efeitos macroscópicos benéficos da utilização da heparina sobre a reatividade peritoneal.

Introdução

As enterotomias são rotineiramente empregadas na remoção de enterólitos, corpos estranhos e material alimentar compactado (Duarte *et al.* 2002; Montello, *et al.* 2004). O

trauma cirúrgico resulta em inflamação peritoneal. A resposta genérica do peritônio a estímulos de caráter inflamatório, de gênese infecciosa ou não, é denominada peritonite (Trent 1995; Hillyer e Wright 1997).

Após o trauma cirúrgico, a ocorrência da inflamação peritoneal se dá concomitantemente ao processo de coagulação com intuito reparatório tecidual. A trombina é a principal ligação entre o sistema de coagulação e inflamação, visto ser a enzima responsável pela clivagem do fibrinogênio solúvel circulante em coágulo insolúvel de fibrina (Mitchell, *et al.* 2005). O processo de coagulação é contrabalanceado pelo sistema fibrinolítico, onde o ativador do plasminogênio (secretado pelas células mesoteliais, leucócitos e tecidos) atua clivando o plasminogênio, proteína plasmática que se liga ao coágulo de fibrina para gerar a plasmina, protease que atua na lise da fibrina (Mitchell, *et al.* 2005; Holmdahl *et al.* 1997a; Ivarsson *et al.* 2001).

Na perpetuação do estímulo inflamatório pós-cirúrgico pode ocorrer um desbalanço entre a lise e formação de fibrina, dando origem a formação de aderências fibrinosas que posteriormente serviram de base para a formação das aderências fibrosas abdominais propriamente ditas (Cheong, *et al.* 2001; Imudia *et al.* 2008; Ward e Panitch 2011).

Neste sentido, a utilização de fármacos anticoagulantes com objetivo de prevenir a formação de coágulos de fibrina possivelmente inibe a formação de aderências (Eggleston e Mueller 2003; Ward e Panitch 2011). A heparina é um proteoglicano ácido sulfatado com peso molecular variável, que possui uma pequena fração responsável pelo efeito anticoagulante principal, esta se liga a antitrombina III, que por sua vez é um inibidor lento da trombina, plasmina e fatores de coagulação. A heparina catalisa a reação de inibição realizada pela antitrombina III (Moore e Hinchcliff 1994), estimulando o ativador do plasminogênio tecidual (tPA) e aumentando a ativação do plasminogênio, que resulta em fibrinólise (Andrade e Strickland 1986; Moore e Hinchcliff 1994).

No exame da cavidade abdominal, devido à grande dimensão do abdômen do equino, não existe um método que avalie a cavidade abdominal como um todo, sendo necessária à associação de métodos para uma melhor avaliação. É descrito que a associação do exame ultrassonográfico e o exame laparoscópico permite os resultados de melhor acurácia na avaliação das afecções do sistema digestório de equinos (Ragle 2007; Mueller e Epstein 2009).

O ultrassom abdominal é uma modalidade não invasiva, amplamente disponível, que pode facilmente integrar o exame da cavidade abdominal (Reef 2004; Mueller e Epstein 2009), e a laparoscopia vem se expandindo na avaliação das desordens abdominais em equinos (Galuppo *et al.* 1995; Smith *et al.* 2005; Mueller e Epstein 2009).

Propõe-se avaliar o efeito da heparina sobre a reatividade peritoneal pós laparotomia e enterotomia de cólon menor associando-se os exames ultrassonográfico e laparoscópico, visto que a heparina é rotineiramente empregada no pós-operatório de cirurgias abdominais como estratégia profilática para inibição da formação de aderências sem a existência de resultados consistentes de sua efetividade (Claunch e Mueller 2012).

Materiais e Métodos

Animais

Foram utilizados 10 equinos adultos, sem raça definida, submetidos à laparotomia e enterotomia de cólon menor em posição quadrupedal. Os animais foram divididos em dois grupos de 05 animais: grupo controle (GC) e grupo tratado (GT), que imediatamente após o ato cirúrgico e a cada 12 horas durante 05 dias recebeu heparina sódica na dose de 150 UI/Kg.

Preparação cirúrgica

Previamente à cirurgia foi realizada tricotomia da região abdominal direita, administrado Penicilina Potássica (Ariston)¹ na dose de 30.000 UI/Kg por via endovenosa, Gentamicina (Gentatec)² na dose de 6,6 mg/Kg por via endovenosa e Flunixin Meglumine (Chemitec)³, na dose de 1,1 mg/Kg por via endovenosa para ambos os grupos. O procedimento foi realizado em posição quadrupedal e sob sedação através da infusão contínua de detomidina (Dormium V)⁴ com bolus de 5µg/kg seguido de infusão contínua de 20µg/kg/h associada ao butorfanol (Turbogesic)⁵ em bolus de 20µg/kg seguido de infusão contínua de 13µg/kg/h. Após antisepsia com digluconato de clorexidine degermante a 2% e alcoólico a 0,5% (Riohex)⁶, foi realizada a anestesia local na região cirúrgica com Lidocaína (Xylestesin)⁷ a 2% associada a vasoconstrictor, através da deposição na linha de incisão e tecidos profundos adjacentes.

Procedimento cirúrgico

Realizou-se incisão de pele de aproximadamente 10 cm na fossa paralombar direita; o tecido subcutâneo e musculatura foram divulsionados; o peritônio perfurado e a cavidade abdominal acessada. Procedeu-se a identificação do cólon menor através de palpação direta, exteriorizou-se o segmento localizado mais aboralmente, foram aplicados duas pinças de coprostase a fim de se interromper o fluxo fecal após esvaziar o segmento e delimitar a região da enterotomia. Posteriormente aplicou-se duas pinças do tipo *Allis* para o posicionamento do segmento e realização da enterotomia na região da tênia e aplicação de sutura em padrão simples separado com fio Catgut (Catgut cromado 3-0)⁸, seguida de abrasão da camada serosa com gaze seca em 50 movimentos repetidos para cada porção adjacente a tênia, tornando a região hemorrágica. O segmento foi reposicionado e a síntese da parede abdominal foi realizada em padrão *Sultan* com fio de poligalactina 910 número 2 (Vicryl)⁹ e a pele em padrão *Wolff* com fio de Nylon pescal 0,60 (Dourado)¹⁰.

Após a cirurgia foi administrado penicilina benzatina (Mogipen)¹¹ na dose de 30.000 UI/Kg por via intramuscular a cada 72 horas, durante 10 dias, gentamicina, na dose de 6,6 mg/Kg IV, a cada 24 horas, durante 05 dias, flunixin meglumine na dose de 1,1 mg/kg, por via intramuscular a cada 24 horas, durante 5 dias e soro antitetânico (Vencosat)¹² na dose de 10.000UI por via subcutânea em aplicação única para ambos os grupos.

Exame ultrassonográfico

Os animais foram submetidos ao exame ultrassonográfico previamente à enterotomia (M0); 12 horas após (M1); 1 dia (M2); 2 dias (M3); 4 dias (M4); 6 dias (M5); 10 dias (M6) e 14 dias após a enterotomia (M7).

Para a execução do exame foi realizada tricotomia da região abdominal esquerda, compreendendo da região caudal do pulmão até a tuberosidade coxal, tendo como limite dorsal as apófises vertebrais e ventral, a linha média.

Utilizou-se o aparelho de ultrassom (MyLab 70)¹³ com transdutor convexo para avaliação do cólon menor, frequência de 4,5 MHz e ganho entre 25-35 %. Para avaliação do peritônio utilizou-se o transdutor linear com frequência de 13 MHz e ganho entre 80-90%.

O exame ultrassonográfico foi realizada pela via transabdominal e objetivou a avaliação do cólon menor, peritônio e líquido livre. O colon menor foi visualizado no

quadrante dorsal esquerdo, utilizou-se como ponto de referência o rim esquerdo, visto que o cólon menor normalmente se localiza caudal ao mesmo e dorsal à flexura pélvica. O cólon menor foi avaliado quanto a sua localização topográfica, arquitetura do órgão e espessamento de parede.

O peritônio parietal foi avaliado na porção ventral do abdômen, na linha média. Avaliou-se a presença de irregularidades, deposição de fibrina e espessamentos em decorrência do quadro inflamatório peritoneal. Na mesma região, avaliou-se a presença de líquido livre no abdômen, quanto à quantidade, ecogenicidade e presença de debris.

Devido ao fato de o exame ultrassonográfico ser um exame dinâmico, observou-se que durante o peristaltismo intestinal havia variação na distância preenchida por líquido entre o peritônio e a víscera adjacente a região ventral, optando-se por não utilizar esta distância como medida de quantificação do mesmo e sim a associação dos achados dos vídeos, anotações e imagens obtidas no exame ultrassonográfico.

Dessa forma, baseado nos achados de exame dinâmico, padronizou-se uma escala de graduação em cruzes para quantificação do líquido livre abdominal, sendo 0 cruzes (-) referente a quantidade reduzida de líquido peritoneal, 1 cruz (+) a normalidade, referente a imagem mais frequentemente observada nos animais previamente a intervenção cirúrgica, 2 cruzes (++) para discretamente aumentado, 3 cruzes (+++) para moderadamente aumentado e 4 cruzes (++++ para intensamente aumentado (figura 1).

A ecogenicidade do líquido peritoneal foi graduada em sistema de *scores* (figura 14), sendo a normalidade estabelecida como *score* 0, referente ao aspecto do líquido peritoneal previamente ao procedimento cirúrgico, *score* 1 para discreto aumento da ecogenicidade, *score* 2 para leve aumento da ecogenicidade e *score* 3 para moderado aumento da ecogenicidade associado a presença de debris celulares e fibrina (figura 2).

Exame laparoscópico

Após 15 dias do procedimento cirúrgico inicial, os animais realizaram nova preparação cirúrgica, consistindo na administração de 700g de Sulfato de Magnésio (Vetec)¹⁴ 36 horas antes do procedimento e jejum de 24 horas com intuito de esvaziamento do cólon menor a fim de proporcionar maior facilidade de manuseio das alças. Previamente ao ato cirúrgico realizou-se tricotomia na região do abdômen esquerdo, tendo como limite caudal a tuberosidade coxal, cranial a 15º costela e dorsal as apófises transversas. Procedeu-se a palpação por via retal a fim de se avaliar a

topografia anatômica no local de interesse da inserção das cânulas, evitando-se punções iatrogênicas. A cauda foi protegida por atadura crepe e procedimento foi realizado com o animal em estação quadrupedal com protocolo de sedação idêntico ao utilizado na laparotomia.

Para avaliação da cavidade abdominal o equipamento laparoscópico foi composto por: insuflador eletrônico de CO₂¹⁵, fonte de luz de Xenon de 180 W¹⁶, cabo de iluminação¹⁷, microcâmera com processador¹⁸, endoscópio rígido de 10 mm de diâmetro, 57 cm de comprimento de 0 e 30° de rotação¹⁹, cânula EndoTIP TM de 10 mm para acesso videoassistido²⁰, instrumental cirúrgico laparoscópico e instrumental cirúrgico convencional, monitor TV²¹, sistema de gravação de imagens composto por placa de captura²² e notebook²³.

A região do acesso cirúrgico foi submetida à anestesia local com Lidocaína a 2% associada a vasoconstrictor. A antisepsia foi realizada com digluconato de clorexidine degermante à 2% e alcoólico à 0,5%. A incisão de pele foi de aproximadamente 2 cm; o acesso videoassistido através da introdução da cânula EndoTIP TM com endoscópio rígido em seu interior. Através da cânula foi induzido o pneumoperitônio com CO₂. A pressão abdominal durante o procedimento foi mantida entre 12 e 15 mmHg, variando conforme o volume suportado por cada animal. Foi estabelecida uma sequência sistemática de avaliação da cavidade abdominal a fim de realizar uma exploração completa das estruturas passíveis de observação através do acesso esquerdo.

Após a avaliação da cavidade abdominal como um todo, foram realizados dois novos bloqueios anestésicos e incisões de aproximadamente 1,5 cm por onde foram introduzidas duas cânulas de 11 mm e duas pinças atraumáticas de manipulação intestinal do tipo *Babcock*²⁴. Realizou-se uma avaliação detalhada do cólon menor e da região da enterotomia através da manipulação dos segmentos, após a identificação da região da enterotomia foi realizada uma alavanca com as pinças *Babcock*, dando suporte ao mesocólon na região dorsal e possibilitando o avanço da óptica ao lado direito do abdômen a fim de se observar a região da ferida cirúrgica da laparotomia. As imagens foram armazenadas para posterior avaliação.

Com objetivo de facilitar a avaliação das imagens obtidas padronizou-se scores de reatividade peritoneal difusa, sendo 0 (ausência de reatividade difusa), 1 (discreta reatividade difusa), 2 (moderada reatividade difusa) (figura 3).

As pinças foram retiradas e as válvulas de segurança das cânulas foram abertas permitindo a liberação do CO₂ contido na cavidade abdominal, as cânulas foram

retiradas e por último retirou-se o EndoTIP através da realização de movimentos giratórios que promoveram a aproximação das camadas musculares, em seguida foi realizada a síntese de pele em padrão simples separado com fio nylon 0²⁵.

Resultados

Exame ultrassonográfico

A metodologia aplicada (transabdominal) permitiu a avaliação de segmentos do cólon menor em aproximadamente 85% dos exames nos diferentes momentos, e possivelmente dentre estes, apenas em uma pequena proporção acessou-se o segmento submetido à enterotomia, sendo raramente observado segmentos com espessamento de parede e perda da regularidade da arquitetura do órgão.

Quanto à quantidade de líquido peritoneal livre não foi observada diferença entre os grupos, entretanto observou-se haver grande variação individual entre os animais. Baseado na escala de graduação empregada observou-se que os animais mantiveram o seu volume individual independentemente do procedimento cirúrgico. Observou-se ainda que a partir do 10º dia de pós-operatório houve discreto aumento da quantidade de líquido livre para ambos os grupos, sendo este representado pelo aumento de uma cruz na escala.

Baseando-se na escala de graduação proposta, observou-se aumento da ecogenicidade após 12 horas de cirurgia para ambos os grupos. O aumento da ecogenicidade persistiu até o 14º dia, porém, com progressiva redução após o 6º dia de pós-operatório. Observou-se ainda, que o GT apresentou maior persistência da ecogenicidade aumentada em relação ao GC (tabela 1).

Observou-se a presença de coágulos de fibrina entre o 4-6º dia e irregularidades no peritônio parietal com deposição de fibrina nos pontos de laparocentese.

Exame laparoscópico

Não foram observadas alterações na topografia visceral nos animais avaliados. Observou-se, porém, que alguns animais apresentavam segmentos de intestino delgado e cólon menor localizados entre o baço e parede abdominal.

A quantidade e qualidade do líquido peritoneal avaliado macroscopicamente foram variáveis, não sendo observadas diferenças entre os grupos. Apenas dois animais apresentaram líquido peritoneal com elevada turbidez, porém tal característica não se

apresentou diferenciada dos demais animais no exame ultrassonográfico realizado no dia anterior a laparoscopia.

Após a visualização da cavidade abdominal como um todo, foram introduzidas pinças atraumáticas para a manipulação do cólon menor e detecção da área submetida à enterotomia. Observou-se que durante tal manipulação, as regiões do cólon menor adjacentes a região da enterotomia apresentavam-se recobertas por uma fina camada de exsudato fibrinoso e apresentavam-se friáveis e reativas à manipulação, tornando-se rapidamente hemorrágicas para ambos os grupos, porém em maior intensidade no GT (figura 2).

Baseando-se no sistema de graduação em *scores* observou-se que reatividade peritoneal difusa foi mais elevada para o GT. Obtendo-se para o GC, 60% de *score* 0, 20 % de *score* 1 e 20% de *score* 2 e para o GT, 60% de *score* 1 e 40 % de *score* 2.

Invariavelmente, a região da enterotomia apresentou-se para ambos os grupos recoberta por fibrina, ao 15º dia foi possível observar a presença da sutura realizada com fio *catgut* ainda integra. Não foram observadas diferenças entre os grupos para a deposição de fibrina na região da enterotomia (figura 3).

Discussão

Apesar de o exame ultrassonográfico por via transretal ser o mais indicado para avaliação do cólon menor (Reef *et al.* 2004), optou-se pela via transabdominal para que não houvesse interferência na cicatrização da enterotomia, possivelmente devido a metodologia aplicada não foi possível acessar o cólon menor na totalidade dos exames, tendo sido este acessado em aproximadamente 85% dos exames nos diferentes momentos. Além disso, dentre estes 85% de acessos, apenas em uma pequena proporção se observou alterações nos segmentos avaliados (espessamentos de parede e irregularidade na arquitetura do órgão), sendo possível que a metodologia não tenha sido adequada para avaliar o segmento específico submetido à enterotomia.

O aumento da ecogenicidade observado após 12 horas de cirurgia para ambos os grupos, possivelmente ocorreu devido à migração celular resultante do processo inflamatório abdominal e sangramento cirúrgico intra-cavitário. Observou-se, porém, que para o animais do GT nos dias subsequentes não houve redução progressiva da ecogenicidade do líquido, como observado no GC. Possivelmente o tratamento com heparina resultou em manutenção do deslocamento de hemácias para o líquido peritoneal, visto a elevada contagem eritrocitária, aspecto macroscópico e ao fato de que

após a suspensão do tratamento observou-se gradativa diminuição da ecogenicidade para o GT.

Devido à peritonite difusa pós-cirúrgica instalada observou-se a presença de coágulos de fibrina entre o 4-6º dia e irregularidades no peritônio parietal com deposição de fibrina nos pontos de laparocentese para ambos os grupos. Tais achados foram compatíveis com os descritos na literatura para a inflamação peritoneal, que referem aumento da ecogenicidade devido à elevada celularidade, perda da homogeneidade, deposição de fibrina e presença de debris celulares (Reef *et al.* 2004; Desrochers 2005).

Apesar de o GT ter apresentado maior ecogenicidade do líquido peritoneal não podemos inferir pelo exame ultrassonográfico que estes animais apresentaram maior reatividade peritoneal, pois a elevada celularidade correspondeu principalmente aos eritrócitos, não sendo observada diferença entre os grupos para a presença de fibrina, debris celulares e espessamentos de peritônio e paredes intestinais.

O exame ultrassonográfico possibilitou a identificação do processo inflamatório peritoneal, porém não permitiu o rastreamento detalhado do cólon menor. A utilização da via transabdominal pode ter influenciado na sensibilidade de detecção de alterações no cólon menor.

Exame laparoscópico

A laparoscopia foi realizada através do acesso abdominal esquerdo, procedimento este que segundo Gallupo *et al.* (1995) permite a visualização do cólon menor. Para os animais de ambos os grupos avaliou-se a topografia visceral, a quantidade e qualidade de líquido peritoneal, a presença/ausência de inflamação peritoneal visível macroscopicamente, a reatividade do cólon menor à manipulação e a região da enterotomia.

Não foram observadas alterações na topografia visceral nos animais avaliados, sendo as estruturas localizadas conforme descrito por Gallupo *et al.* (1995). Observou-se que alguns animais apresentavam segmentos de intestino delgado e cólon menor localizados entre o baço e parede abdominal após a realização do pneumoperitônio.

Apesar de alguns animais apresentaram líquido peritoneal com elevada turbidez, não houve diferença entre os grupos e não foi possível identificar pelo exame ultrassonográfico diferença de ecogenicidade entre os animais que apresentaram elevada turbidez e os que não apresentaram pertencentes ao mesmo grupo.

Observou-se, que ambos os grupos apresentavam leve reatividade peritoneal difusa, entretanto foi possível identificar maior reatividade para os animais do GT. Além disso, esses animais responderam à manipulação visceral com a formação mais frequente de áreas hemorrágicas nos pontos de contato com as pinças. Era esperado que o GT apresentasse menor deposição de fibrina na região da enterotomia, entretanto não se observou diferença macroscópica entre os grupos.

O exame laparoscópico permitiu uma análise minuciosa da cavidade abdominal e da área submetida à enterotomia, demonstrando não haver diferença significativa no aspecto macroscópico da região da enterotomia quanto à deposição de fibrina, entretanto permitiu inferir uma discreta diferença de reatividade peritoneal difusa e à manipulação visceral, apresentando os animais do GT mais reativos.

A associação do exame ultrassonográfico e laparoscópico permitiram o acesso detalhado da cavidade abdominal, o exame ultrassonográfico permitiu a avaliação da inflamação peritoneal difusa, enquanto a laparoscopia permitiu análise detalhada do segmento submetido à enterotomia.

Não foram observados efeitos macroscópicos benéficos da utilização da heparina sobre a reatividade peritoneal.

Agradecimentos

À FAPESP (Fundação de Amparo à pesquisa do Estado de São Paulo) pelo apoio financeiro referente ao processo 2011/23359-9.

Manufacture's addresses

¹ Penicilina G Potássica - Ariston ind. Química e farmacêutica Ltda.

² Gentatec - Chemitec, Agro-veterinária Ltda

³ Flunixin injetável- Chemitec, Agro-veterinária Ltda.

⁴ Dormium V- Agener União Ltda.

⁵ Torbugesic- Fort Dodge Ltda.

⁶ Xylestesin- Cristália, produtos químicos e farmacêuticos Ltda.

⁷ Riohex- Rioquímica, Ltda.

⁸ Brasuture- Brasuture suturas cirúrgicas

⁹ Vicryl 2- Johnson & Johnson Ltda.

¹⁰ Linha para pesca 0,60 mm – Dourado.

¹¹ Mogipen - Bimeda, Mogivet Farmacêutica S.A.

¹² Vencosat - Laboratórios Vencofarma do Brasil Ltda.

¹³ My Lab 70 Vet® - ESAOTE, Italia.

¹⁴ Vetec- Sigma Aldrich Co.

¹⁵ Insuflador eletrônico - Astustec

¹⁶ Fonte de Luz, Nova 175, Karl Storz Endoskope

¹⁷ Cabo de Luz, Karl Storz Endoskope

¹⁸ Micricâmera Karl Storz Endoskope

¹⁹ Óptica Karl Storz Endoskope

²⁰ EndoTIP - Karl Storz Endoskope

²¹ Monitor TV Phillips, 21,5"

²² Placa de captura USB, Pixel View.

²³ Acer 4250-0806

²⁴ Babcock - Karl Storz Endoskope

²⁵ Mononylon 0 – Brasuture suturas cirurgicas

Referências

Andrade, G. P., Strickland, S. (1986) Interaction of heparin with plasminogen activators and plasminogen: effects on the activation of plasminogen. *Biochemistry (Mosc.)*, 25, 4033–4040.

Caldwell, F. J., Mueller, P. O. E. (2010) Fibrinolytic responses of the equine peritoneum to abdominal surgery, surgical trauma, and intraperitoneal sodium hyaluronate. *Journal of Equine Veterinary Science*, 30 (6), 298-304.

Cheong, Y. C., Laird, S. M., Li, T. C., Shelton, J.B.,Ledgre, W.L., Cooke, I.D. (2001) Peritoneal healing and adhesion formation/reformation. *Hum Reprod Update* 7, 556.

Claunch, K. M., Mueller, P. O. E.(2012) Treating intra-abdominal adhesions: The surgeon's dilemma. *Equine vet Educ.*, 24(11), 552-555.

Desrochers, A. (2005) Abdominal ultrasonography of normal and colicky adult horses. *American Association of Equine Practitioners*, Québec.

Duarte, C. A., Cattelan, J. W, Alessi, A. C., Valente, P. P., Aita, A. C., Rasera, L. (2002) Enterorrafias em plano aposicional convencional e com adesivo a base de cianoacrilato no cólon descendente de equinos. *Ciência Rural*, 32(4), 595-601.

Eggleston, R. B., Mueller, P. O. (2003) Prevention and treatment of gastrointestinal adhesions. *Vet Clin North Am Equine Pract.* 19, 741–763.

- Galuppo, L. D., Snyder, J. R., Pascoe, J. R. (1995) Laparoscopic anatomy of the equine abdômen. *Am. J. vet. Res.* 56, 518-531.
- Hillyer, M. H., Wright, C. J. (1997) Peritonitis in the horse. *Equine Vet Educ.* 9(3), 136-142.
- Holmdahl L., Risberg, B., Beck, D. E., Burns, J.W., Chegini, N., DiZerega, G.S., Ellis, H. (1997) Adhesions: pathogenesis and prevention-panel discussion and summary. *Eur J Surg Suppl*, 577, 56-62.
- Imudia, A. N., Kumar S., Saed, G. M., Diamond, M.P. (2008) Pathogenesis of Intraabdominal and pelvic adhesion development. *Semin Reprod Med.* 26, 289.
- Ivarsson, M. L., Falk, P., Holmdahl, L. (2001) Response of visceral peritoneum to abdominal surgery. *Br J Surg*, 88, 148–151.
- Mitchell, R., Kumar, V., Fausto, N., Abbas, A.K., Aster, J. (2005) Inflamação aguda e crônica. In:_____ Robbins & Cotran. Fundamentos de Patologia. *Bases Patológicas das doenças*. 7th edn. 29-54.
- Montello, T. G., Castro Junior, J. F. C., Santos, V. P., Christo, E. C. S., Silva Filho, A. P. F. (2004) Alterações hematológicas observadas em equinos submetidos a laparotomia em estação e enterotomia do colon menor. *Acta Scientiae Veterinariae*, 32(3), 201-205.
- Moore, B. R., Hinchcliff, K. W. (1994) Heparin: a review of its pharmacology and therapeutic use in horses. *J Vet Intern Med.* 8(1), 26-35.
- Mueller, E.; Epstein, K. (2009) A view into the big ‘black box’: Peering through the window with ultrasound and laparoscopy *Equine vet. Educ.* 21, 31-35.
- Reef, V. B., Whittier, M., Allam, L. G. (2004) Sonographic Evaluation of the Adult Abdômen. *Clin Tech Equine Pract*, 3, 294-307.
- Smith, C. L., Dowling, B. A., Dart, A. J. (2005) Recent advances in equine abdominal surgery. *Vet. J.* 170, 41-51.
- Trent, A. M. (1995) The peritoneum and peritoneal cavity. In: KOBLUK, C. N. *The horse diseases e clinical management*. Philadelphia: Saunders, pp. 373-404.
- Ward, B. C., Panitch, A. (2011) Abdominal adhesions: current and novel therapies. *J Surg Res*, 165, 91–111.

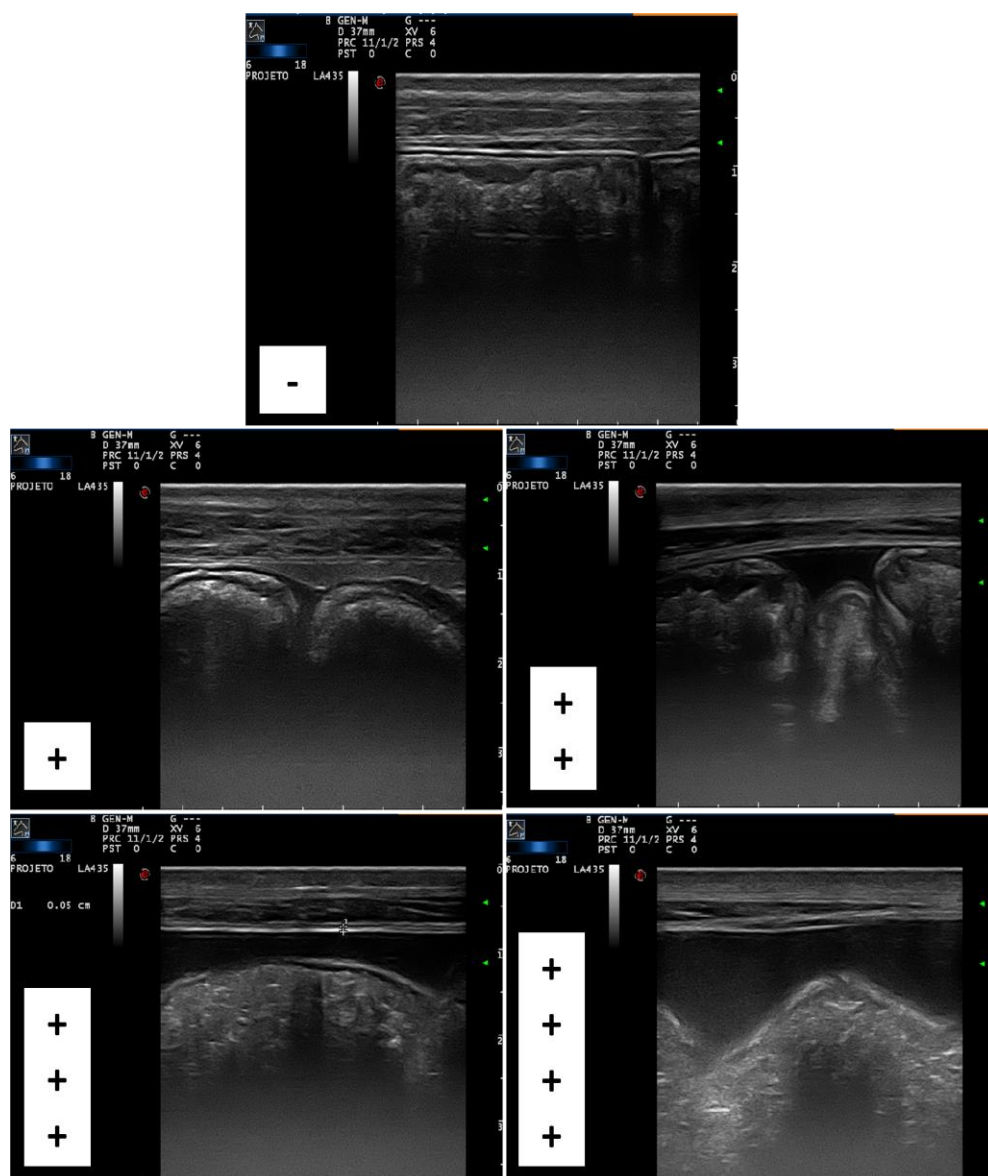


Fig. 132- Esquema de graduação da quantidade de líquido peritoneal livre no abdômen em cruzes. Representando: - (reduzida), + (normalidade), ++ (discretamente aumentado), +++ (moderadamente aumentado), ++++ (intensamente aumentado).

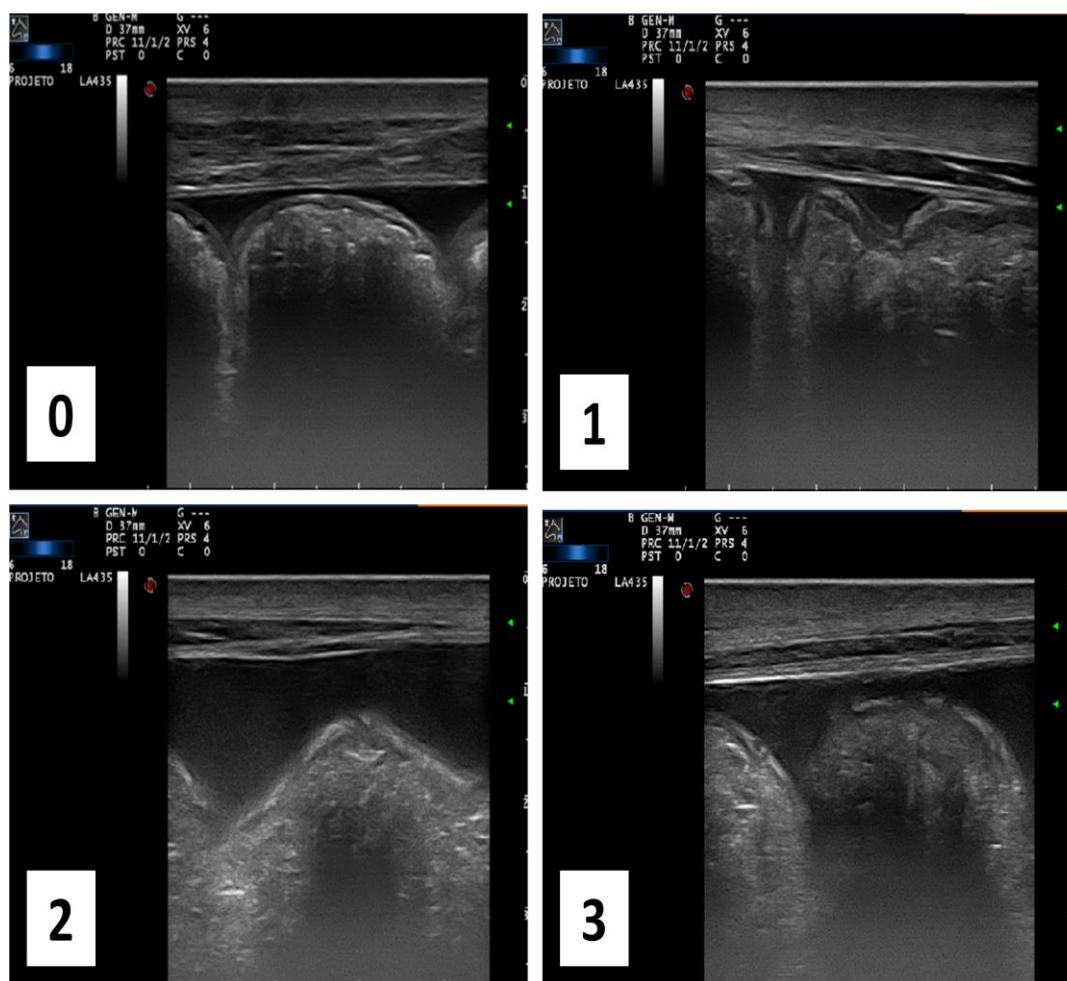


Fig. 233- Esquema demonstrativo da graduação da ecogenicidade do líquido peritoneal. Sendo, 0- (normalidade), 1 (discreto aumento), 2 (leve aumento), 3 (moderado aumento associado à presença de debris celulares).

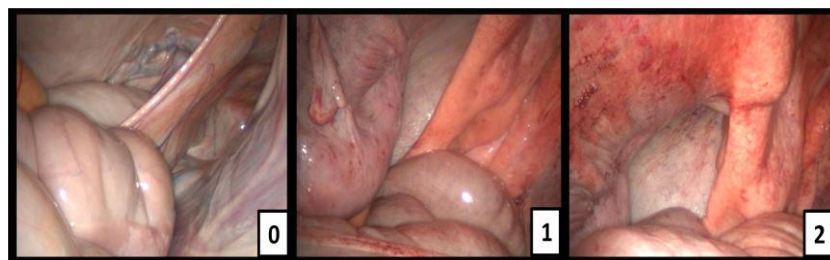


Fig. 334 - Sistema de graduação da reatividade peritoneal difusa, sendo 0 (ausência de reatividade difusa), 1 (discreta reatividade difusa), 2 (moderada reatividade difusa).

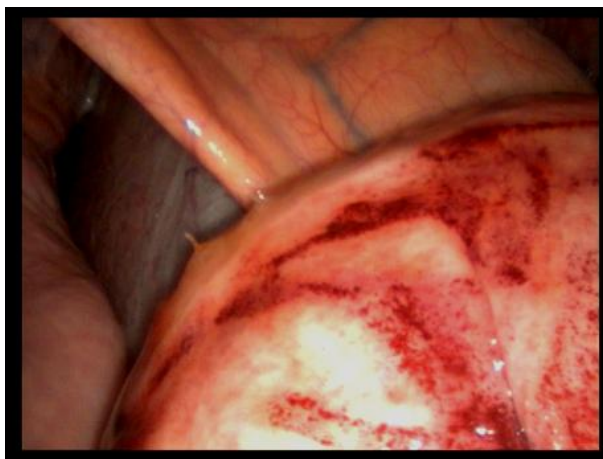


Fig. 4: Região submetida à enterotomia em animal do GT. Observa-se a presença da sutura e a serosa hemorrágica após breve manipulação.

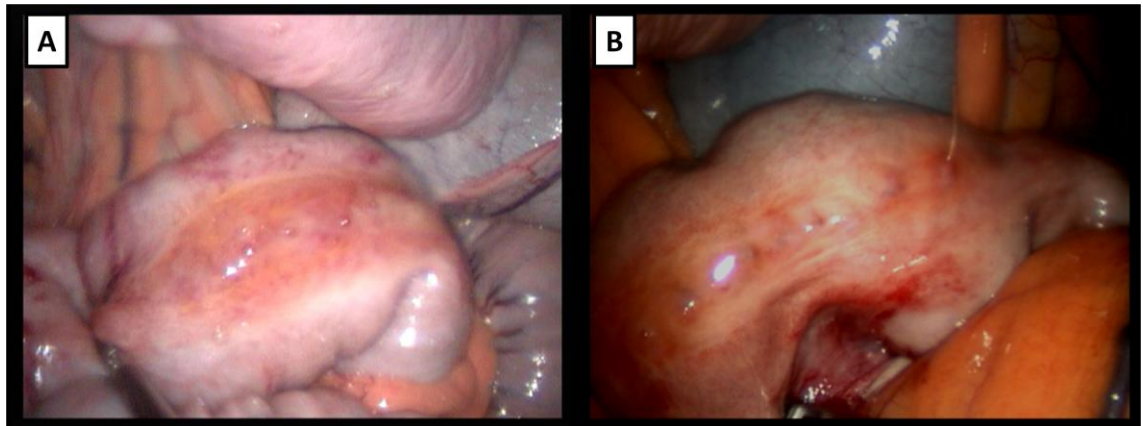


Fig.5: Deposição de fibrina na região submetida à enterotomia. A – animal do GC; B- animal do GT.

Tabela 1 - Evolução da ecogenicidade do líquido peritoneal ao exame ultrassonográfico baseado no sistema de *scores* (porcentagem de animais).

	GC				GT			
	<i>score 0</i>	<i>score 1</i>	<i>score 2</i>	<i>score 3</i>	<i>score 0</i>	<i>score 1</i>	<i>score 2</i>	<i>score 3</i>
M0	100%							
M1			80%	20%			80%	20%
M2			100%				80%	20%
M3			100%				100%	
M4		60%	40%				100%	
M5	20%	60%	20%		40%		60%	
M6	60%	20%	20%			100%		
M7	80%	20%				100%		

0 = normalidade, 1 = discreto aumento de ecogenicidade, 2 = leve aumento de ecogenicidade, 3 = moderado aumento de ecogenicidade acompanhado da presença de fibrina e debris celulares.