DAVID RAMOS DA SILVA

EFEITO DO ETANOL NA CICATRIZAÇÃO DO CÓLON DISTAL NO RATO

Estudo da força de ruptura, avaliação histológica, quantificação de fibroblastos e análise morfométrica da área da cicatriz.

Dissertação apresentada a Faculdade de Medicina de Botucatu da Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Campus de Botucatu, para obtenção de título de Mestre em Cirurgia (Área de concentração: Bases Gerais da Cirurgia e Cirurgia Experimental).

Orientador: Prof. Dr. Shoiti Kobayasi

BOTUCATU
2001

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO AQUIS. E TRAT. DA INFORMAÇÃO
DIVISÃO TÉCNICA DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - CAMPUS DE BOTUCATU - UNESP
BIBLIOTECÁRIA RESPONSÁVEL: ELZA NUMATA

Silva, David Ramos da

Efeito do etanol na cicatrização do cólon distal do rato : estudo da força de ruptura, avaliação histológica, quantificação de fibroblastos e análise morfométrica da área da cicatriz / David Ramos da Silva. – 2001.

Dissertação (mestrado) – Faculdade de Medicina de Botucatu, Universidade Estadual Paulista, 2001.

Orientador: Shoiti Kobayasi

1. Cólon – Efeito das drogas – Estudos experimentais

CDD 617.5547

Palavras-chave: Etanol; Força de ruptura; Histologia; Fibroblastos; Morfometria da cicatriz; Ratos

Dedicatória

Aos meus pais, Hernandes e Leda

Às minhas irmãs

À minha Izaura

Dedico este trabalho

Agradecimentos

A oportunidade de realizar um trabalho é uma benção. Agradeço a todos que de algum modo me ajudaram.

Ao **Prof. Dr. Shoiti Kobayasi**, meu orientador, pela confiança, tempo, paciência, competência e dedicação. Minha amizade e gratidão.

À **Profa. Dra. Maria Aparecida Marchesan Rodrigues**, pela boa vontade, competência e colaboração nos exames histopatológicos, análise morfométrica e documentação microscópica.

Aos **professores do Programa de Pós-Graduação em Bases Gerais da Cirurgia e Cirurgia Experimental da Faculdade de Medicina de Botucatu – UNESP**, pela oportunidade do convívio e pelos ensinamentos recebidos durante os cursos.

À bióloga **Maria Cecília Salgado Mercadante**, pelo auxílio técnico no desenvolvimento experimental e coleta de dados.

Aos **funcionários do Laboratório de Técnica Cirúrgica e Cirurgia Experimental**, especialmente à **Luzia Ferrari Gouveia** pelo auxilio técnico no desenvolvimento experimental e pela dedicação e cuidados com os animais utilizados e também a **Carlos Etevalter Bardela** pela imprescindível cooperação durante a realização de medidas da força de ruptura.

Ao **Prof. José Antonio Cordeiro** pela orientação quanto à análise estatística.

Ao **Prof. Amaury Luiz Mory Filho** pela orientação na avaliação da unidade de grandeza física estudada.

À **Profa. Adília Maria Peres Sciarra** pela revisão gramatical do texto.

À **Profa. Lívia Cais Burdmann**, pela correção gramatical da versão do resumo.

À bibliotecária **Elza Numata**, pela auxilio na elaboração da ficha catalográfica.

À bibliotecária **Rosemary Cristina da Silva**, pelo auxílio na revisão das referências bibliográficas.

A todos **funcionários da Seção de Pós-graduação da Faculdade de Medicina de Botucatu – UNESP**, em especial às Senhoras **Vera Lúcia Aparecida Mengue** e **Regina Célia Spadin**, pela compreensão e presteza no atendimento.

À **Adnice Ruiz Pedro** pelo auxílio na formatação desta dissertação.

À **Dra Izaura dos Santos**, companheira nos momentos de alegria e dificuldades, pelo incentivo e apoio.

A todos que contribuíram para a realização deste trabalho, os mais sinceros agradecimentos.

Sumário

LISTA DE FIGURAS 12

LISTA DE TABELAS 15

1. INTRODUÇÃO 20

2. OBJETIVOS 25

3. MATERIAIS E MÉTODOS 27

3.1. Animais Utilizados 27
3.2. Ambiente de experimentação 27
3.3. Delineamento experimental 27
3.4. Seqüência das etapas experimentais 30

3.4.1. Preparo da solução de etanol 30
3.4.2. Observação clínica dos animais 30
3.4.3. Anestesia 30
3.4.4. Procedimento cirúrgico 31
3.4.5. Observação clínica pós-operatória 32
3.4.6. Coleta e processamento do material 32
3.4.7. Estudo da Força de Ruptura 33

3.4.7.1. Aparelho utilizado 33
3.4.7.2. Unidade de grandeza física medida 33
3.4.7.3. Aferição do instrumento de medida e software 34

3.4.8. Exame histológico 38
3.4.8.1. Crosta da ferida 38
3.4.8.2. Regeneração epitelial 38
3.4.8.3. Tecido de granulação 39
3.4.8.4. Colágeno 39
3.4.8.5. Quantificação de fibroblastos 39
3.4.8.6. Análise morfométrica da área total da cicatriz 40

3.4.9. Delineamento da análise estatística 41

4. RESULTADOS 44

4.1. Seguimento clínico 44
4.2. Avaliação da Força de ruptura 48
4.3. Exame histológico 51

4.3.1. Crosta na cicatrização 51
4.3.2. Regeneração epitelial 53
4.3.3. Tecido de granulação 55
4.3.4. Colágeno 57
4.3.5. Quantificação de fibroblastos 59
4.3.6. Análise morfométrica da área total da cicatriz 62

5. DISCUSSÃO 72
5.1. Animal de experimentação 72
5.2. Bioquímica e metabolismo do etanol 72
5.3. Força de ruptura 75
5.4. Crosta na cicatrização 80
5.5. Regeneração epitelial 81
5.6. Tecido de granulação 82
5.7. Colágeno 83
5.8. Quantificação de fibroblastos 84
5.9. Análise morfométrica da área total da cicatriz 86

6. CONCLUSÕES 89

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS 91

8. ANEXOS 105

9. RESUMO 134

10. SUMMARY 137

Lista de Figuras

FIGURA 1 - Esquema do delineamento experimental..... 18

FIGURA 2 - Máquina de ensaios para força de ruptura. 24

FIGURA 3 - Peça cirúrgica (cólon distal na altura da anastomose). 37

FIGURA 4 - Peça cirúrgica sendo submetida à tração..... 37

FIGURA 5 - Peça cirúrgica após ruptura..... 38

FIGURA 6 - Lente ocular para microscópio com quadrilátero para delimitar o campo de contagem de fibroblastos..... 28

FIGURA 7 - Média do peso dos animais, dos grupos controle (A1) e etanol (A2), não operados (M0)..... 33

FIGURA 8 - Média do peso dos animais, dos grupos controle (A1) e etanol (A2), com sacrifício no 7º dia P.O. (M1)..... 34

FIGURA 9 - Média do peso dos animais, dos grupos controle (A1) e etanol (A2), com sacrifício no 14º dia P.O. (M2)..... 35

FIGURA 10 - Média do peso dos animais, dos grupos controle (A1) e etanol (A2), com sacrifício no 21º dia P.O. (M3)..... 36

FIGURA 11 - Força de ruptura (gf) do cólon. Média dos grupos ao longo dos momentos. Grupos controle (A1) e etanol (A2)..... 40

FIGURA 12 - Contagem de fibroblastos por campo (H.E. 400x). Média dos grupos controle (A1) e etanol (A2) nos momentos estudados.. 50

FIGURA 13 - Mensuração de área da ferida, média dos grupos controle (A1) e etanol (A2) nos momentos estudados..... 53

FIGURA 14 - Corte histológico de cicatriz do cólon distal de rato do grupo controle no 7º dia P.O. (A1M1). Aspecto da crosta e tecido de granulação (Tricrômio de Masson 20x) 55

FIGURA 15 - Corte histológico de cicatriz do cólon distal de rato do grupo controle no 7º dia P.O. (A1M1). Aspecto do tecido de granulação (Tricrômio de Masson 200x)..... 56

FIGURA 16 - Corte histológico de cicatriz do cólon distal de rato do grupo etanol no 7º dia P.O. (A2M1). Aspecto da crosta e tecido de granulação (Tricrômio de Masson 20x) 56

FIGURA 17 - Corte histológico de cicatriz do cólon distal de rato do grupo etanol no 7º dia P.O. (A2M1). Aspecto do tecido de granulação (Tricrômio de Masson 200x)..... 57

FIGURA 18 - Corte histológico de cicatriz do cólon distal de rato do grupo controle no 14º dia P.O. (A1M2). Aspecto da crosta e tecido de granulação (Tricrômio de Masson 20x) 57

FIGURA 19 - Corte histológico de cicatriz do cólon distal de rato do grupo controle no 14º dia P.O. (A1M2). Aspecto do tecido de granulação (Tricrômio de Masson 200x). 58

FIGURA 20 - Corte histológico de cicatriz do cólon distal de rato do grupo etanol no 14º dia P.O. (A2M2). Aspecto da crosta e tecido de granulação (Tricrômio de Masson 40x) 58

FIGURA 21 - Corte histológico de cicatriz do cólon distal de rato do grupo etanol no 14º dia P.O. (A2M2). Aspecto do tecido de granulação (Tricrômio de Masson 200x)..... 59

FIGURA 22 - Corte histológico de cicatriz do cólon distal de rato do grupo controle no 21º dia P.O. (A1M3). Aspecto da crosta e tecido de granulação (Tricrômio de Masson 40x) 59

FIGURA 23 - Corte histológico de cicatriz do cólon distal de rato do grupo controle no 21º dia P.O. (A1M3). Aspecto do tecido de granulação (Tricrômio de Masson 200x) 60

FIGURA 24 - Corte histológico de cicatriz do cólon distal de rato do grupo etanol no 21º dia P.O. (A2M3). Aspecto da crosta e tecido de granulação (Tricrômio de Masson 40x) 60

FIGURA 25 - Corte histológico de cicatriz do cólon distal de rato do grupo etanol no 21º dia P.O. (A2M3). Aspecto do tecido de granulação (Tricrômio de Masson 400x)..... 61

Lista de Tabelas

TABELA 1 - Média do peso dos ratos no grupo controle (A1), nos momentos estudados 32

TABELA 2 - Média do peso dos ratos no grupo etanol (A2), nos momentos estudados. 32

TABELA 3 - Valores da força de ruptura (gf) do grupo controle nos momentos estudados. 38

TABELA 4 - Valores da força de ruptura (gf) do grupo etanol nos momentos estudados. 39

TABELA 5 - Distribuição da crosta por escores, no grupo controle, nos momentos estudados. 42

TABELA 6 - Distribuição da crosta por escores, no grupo etanol, nos momentos estudados. 42

TABELA 7 - Regeneração epitelial, no grupo controle, nos momentos estudados. 44

TABELA 8 - Regeneração epitelial, no grupo etanol, nos momentos estudados. 44

TABELA 9 - Distribuição do tecido de granulação por escores, no grupo controle, nos momentos estudados. 46

TABELA 10 - Distribuição do tecido de granulação por escores, no grupo etanol, nos momentos estudados. 46

TABELA 11 - Distribuição do colágeno por escores, no grupo controle, nos momentos estudados. 48

TABELA 12 - Distribuição do colágeno por escores, no grupo etanol, nos momentos estudados. 48

TABELA 13 - Média da contagem de fibroblastos por campo, nos grupos controle e etanol, nos momentos estudados. 50

TABELA 14 - Média da área da ferida, em mm^2, nos grupos controle e etanol, nos momentos estudados. 52

TABELA 15 - Valores individuais dos pesos dos ratos, início e sacrifício, não operados, no grupo controle (A1M0). 92

TABELA 16 - Valores individuais dos pesos dos ratos, início e sacrifício, não operados, no grupo etanol (A2M0). 93

TABELA 17 - Valores individuais dos pesos dos ratos, início, cirurgia e sacrifício no 7º dia P.O., no grupo controle (A1M1). 94

TABELA 18 - Valores individuais dos pesos dos ratos, início, cirurgia e sacrifício no 7º dia P.O., no grupo etanol (A2M1). 95

TABELA 19 - Valores individuais dos pesos dos ratos, início, cirurgia e sacrifício no 14º dia P.O., no grupo controle (A1M2). 96

TABELA 20 - Valores individuais dos pesos dos ratos, início, cirurgia e sacrifício no 14º dia P.O., no grupo etanol (A2M2). 97

TABELA 21 - Valores individuais dos pesos dos ratos, início, cirurgia e sacrifício no 21º dia P.O., no grupo controle (A1M3). 98

TABELA 22 - Valores individuais dos pesos dos ratos, início, cirurgia e sacrifício no 21º dia P.O., no grupo etanol (A2M3). 99

TABELA 23 - Valores individuais da força de ruptura (gf), nos momentos estudados, no grupo controle..... 100

TABELA 24 - Valores individuais da força de ruptura (gf), nos momentos estudados, no grupo etanol..... 101

TABELA 25 - Escores da crosta em cada rato, no 7º dia P.O., no grupo controle (A1M1). 102

TABELA 26 - Escores da crosta em cada rato, no 7º dia P.O., no grupo etanol (A2M1). 103

TABELA 27 - Escores da crosta em cada rato, no 14º dia P.O., no grupo controle (A1M2). 104

TABELA 28 - Escores da crosta, em cada rato, no 14º dia P.O., no grupo etanol (A2M2). 105

TABELA 29 - Escores da crosta, em cada rato, no 21º dia P.O., no grupo controle (A1M3). 106

TABELA 30 - Escores da crosta, em cada rato, no 21º dia P.O., no grupo etanol (A2M3). 107

TABELA 31 - Regeneração epitelial individual, no 7º dia P.O., no grupo controle (A1M1). 108

TABELA 32 - Regeneração epitelial individual, no 7º dia P.O., no grupo etanol (A2M1). 109

TABELA 33 - Regeneração epitelial individual, no 14º dia P.O., no grupo controle (A1M2). 110

TABELA 34 - Regeneração epitelial individual, no 14º dia P.O., no grupo etanol (A2M2). 111

TABELA 35 - Regeneração epitelial individual, no 21º dia P.O., no grupo controle (A1M3). 112

TABELA 36 - Regeneração epitelial individual, no 21º dia P.O., no grupo etanol (A2M3). 113

TABELA 37 - Escores do tecido de granulação, em cada rato, no 7º dia P.O. no grupo controle (A1M1). 114

TABELA 38 - Escores do tecido de granulação, em cada rato, no 7º dia P.O. no grupo etanol (A2M1). 115

TABELA 39 - Escores do tecido de granulação, em cada rato, no 14º dia P.O.no grupo controle (A1M2). 116

TABELA 40 - Escores do tecido de granulação, em cada rato, no 14º dia P.O. no grupo etanol (A2M2). 117

TABELA 41 - Escores do tecido de granulação, em cada rato, no 21º dia P.O. no grupo controle (A1M3). 118

TABELA 42 - Escores do tecido de granulação, em cada rato, no 21º dia P.O. no grupo etanol (A2M3). 119

TABELA 43 - Escores do colágeno, em cada rato, no 7º dia P.O. no grupo controle (A1M1). 120

TABELA 44 - Escores do colágeno, em cada rato, no 7º dia P.O. no grupo etanol (A2M1). 121

TABELA 45 - Escores do colágeno, em cada rato, no 14º dia P.O. no grupo controle (A1M2). 122

TABELA 46 - Escores do colágeno, em cada rato, no 14º dia P.O. no grupo etanol (A2M2). 123

TABELA 47 - Escores do colágeno, em cada rato, no 21º dia P.O. no grupo controle (A1M3). 124

TABELA 48 - Escores do colágeno, em cada rato, no 21º dia P.O. no grupo etanol (A2M3). 125

TABELA 49 - Valores individuais da contagem de fibroblastos, no 7º dia P.O., no grupo controle (A1M1). 126

TABELA 50 - Valores individuais da contagem de fibroblastos, no 7º dia P.O., no grupo etanol (A2M1). 127

TABELA 51 - Valores individuais da contagem de fibroblastos, no 14º dia P.O., no grupo controle (A1M2). 128

TABELA 52 - Valores individuais da contagem de fibroblastos, no 14º dia P.O., no grupo etanol (A2M2). 129

TABELA 53 - Valores individuais da contagem de fibroblastos, no 21º dia P.O., no grupo controle (A1M3). 130

TABELA 54 - Valores individuais da contagem de fibroblastos, no 21º dia P.O., no grupo etanol (A2M3). 131

TABELA 55 - Medidas individuais de área da cicatriz, no 7º dia P.O., no grupo controle (A1M1). 132

TABELA 56 - Medidas individuais de área da cicatriz, no 7º dia P.O., no grupo etanol (A2M1). 133

TABELA 57 - Medidas individuais de área da cicatriz, no 14º dia P.O., no grupo controle (A1M2). 134

TABELA 58 - Medidas individuais de área da cicatriz, no 14º dia P.O., no grupo etanol (A2M2). 135

TABELA 59 - Medidas individuais de área da cicatriz, no 21º dia P.O., no grupo controle (A1M3). 136

TABELA 60 - Medidas individuais de área da cicatriz, no 21º dia P.O., no grupo etanol (A2M3). 137

1. Introdução

Notáveis informações têm sido obtidas sobre o complexo processo de cicatrização de tecidos (MARTINEZ-HERNANDES, 1994; COTRAN, 1996; SINGER & CLARK 1999). Particularmente em relação a cicatrização das anastomoses intestinais estudou-se a melhor técnica de sutura intestinal (ROSENBERG et al., 1973a,b; FERREIRA, et al., 1975; WARDE & CUTAIT, 1976; JIBORN et al., 1978a; KOBAYASI & MENDES,1981, 1982; HESP et al., 1984a,b; NARESSE, 1985), demonstrando-se as vantagens da sutura em plano único, da coaptação anatômica das bordas da ferida cirúrgica e do uso de fio sintético monofilamentar (CHAIB et al., 1972; ROSENBERG et al., 1973c; MANTOVANI et al., 1976 ; MARTINS, 1977; KOBAYASI, 1978; BAILEY et al, 1984; DURDEY & BUCKNALL, 1984).

Foram também desenvolvidos aparelhos para sutura mecânica que possibilitam o acesso a locais do trato gastrointestinal de difícil abordagem para sutura manual (GOLIGHER, 1979; OVERY et al., 1980; HABR-GAMA et al., 1981; TEMPLETON & McKELVEY, 1985; QUILICI et al., 1990).

Entretanto a fisiopatologia da evolução cicatricial, em condições tidas na prática clínica, como deletérias, tais como a desnutrição, a infecção peritoneal, o diabetes e o uso de antiflamatórios não esteroidais, só recentemente tem sido investigada. Para que a fisiopatologia pudesse ser melhor conhecida, nas condições anteriormente citadas, o grupo de pesquisa de Botucatu, tem estudado

modelos experimentais que simulam no laboratório as situações clínicas anteriormente mencionadas.

Desta forma foram investigadas a cicatrização na infecção peritoneal (NARESSE, 1990; LOPES 1995), na desnutrição (LEITE, 1991) e no uso de antiflamatório não esteroidal, (VERDERESSE, 1993; MINOSSI, 1995; GONÇALVES JUNIOR, 2000), em modelos experimentais em ratos. Estes estudos demonstraram retardo na evolução da cicatrização o que representa um alto risco de deiscência da anastomose. Pode-se inferir através das investigações desta linha de pesquisa experimental que o processo de cicatrização é afetado quando a lise do colágeno está aumentada ou a síntese diminuída em algumas situações clínicas. Isto ocorre na peritonite (HUNT & PAI, 1972; PETERKOFSKY, 1982; MASTBOOM et al., 1989; NARESSE 1990; LOPES, 1995). Na desnutrição, o processo de cicatrização também pode ser comprometido devido à síntese do colágeno diminuída (UDUPA et al., 1956; MOTT et al., 1969; LEITE, 1991). O uso de antiflamatório não esteroidal pode contribuir para o aumento da lise do colágeno (VERDERESSE, 1993; MINOSSI, 1995; GONÇALVES JUNIOR, 2000). O desequilíbrio entre a síntese e a lise colagênica pode ser detectado nestas condições pelas alterações biomecânicas da parede intestinal.

Outra situação presente na prática clínica é o alcoolismo; que constitui um grave problema de saúde pública no Brasil e outros

países. Estima-se que cerca de 10% da população brasileira seja dependente do álcool (LARANJEIRA et al., 1998).

Os efeitos do álcool no tubo digestivo fazem-se de modo evidente, talvez por ser o primeiro segmento corpóreo a receber elevadas concentrações de etanol (FORTES & CARDO, 1991). A diarréia crônica faz parte do quadro clínico do alcoolismo, chegando algumas vezes a sugerir uma síndrome de má absorção, quando o paciente se encontra desnutrido. É difícil saber quando a desnutrição é causada exclusivamente pela ingestão alcoólica ou se conseqüência de uma dieta inadequada. Freqüentemente os dois fatores – alcoolismo e dieta inadequada – estão associados. Outros fatores também podem contribuir para agravar o estado nutricional do alcoólatra, como a presença de hepatopatia e/ou pancreatite crônica (FORTES & CARDO, 1991).

No rato o álcool determina erosões na mucosa gástrica e nas vilosidades jejunais. Estas alterações parecem depender do nível de concentração do etanol (BARAONA et al., 1974).

A ingestão crônica de álcool pelo homem desde que acompanhada de dieta adequada, não determina lesões na mucosa intestinal ao exame pela microscopia ótica (BECK et al., 1981). Contudo, no rato, notam-se encurtamento das vilosidade, diminuição da altura dos enterócitos e aumento da atividade mitótica das células das criptas. Essas alterações são mais intensas no íleo do que no jejuno (ZUCOLOTO & ROSSI, 1979).

No alcoólatra uma dieta deficiente, o aumento da população bacteriana e da permeabilidade da mucosa contribuem para as alterações observadas na absorção intestinal (BODE et al., 1980; ROBINSON et al., 1981; BJARNASON et al., 1984).

O consumo crônico de grandes quantidades de álcool etílico é uma causa importante de desnutrição em nosso meio. A freqüente associação de um baixo nível sócio-econômico, aliado a uma alta prevalência de alcoolismo nesta faixa populacional, resulta na presença de distúrbios carenciais nutricionais de grande repercussão clínica e social (FORTES et al., 1991).

Portanto a etiologia da desnutrição em alcoólatras é plurifatorial, sendo que os distúrbios carenciais preexistentes e os decorrentes do efeito tóxico direto do etanol levam a uma progressiva deterioração nutricional e a danos teciduais, com as respectivas manifestações clínicas (FONSECA apud FORTES et al., 1991).

Em 1999, SALVI avaliou as alterações biomecânicas e histopatológicas do intestino de ratos submetidos à ingestão de etanol a 30% por 180 dias. Este autor observou uma diminuição da resistência mecânica da parede do cólon e uma atrofia das vilosidades intestinais com 60 dias de ingestão do etanol.

As alterações anteriores são sugestivas de uma possível evolução desfavorável da cicatrização do cólon nestes animais, se forem submetidos à anastomose colônica.

2. Objetivos

Este trabalho foi delineado com o objetivo de investigar a influência da ingestão de etanol no processo de cicatrização de uma anastomose no cólon distal do rato, considerando-se os seguintes parâmetros:

1. As características biomecânicas da parede do cólon e anastomose colônica avaliadas pela força de ruptura.

2. A análise morfométrica da área do processo de cicatrização do cólon distal.

3. A quantificação de fibroblastos no tecido de granulação.

4. A análise seqüencial do processo de cicatrização a nível histológico no 7^{o}, 14^{o} e 21^{o} dias pós-operatório.

3. Materiais e Métodos

3.1. ANIMAIS UTILIZADOS

Foram utilizados 126 ratos machos da linhagem Wistar, pesando em média 180 g, provenientes do Biotério Central do Campus de Botucatu, da Universidade Estadual Paulista – UNESP.

3.2. AMBIENTE DE EXPERIMENTAÇÃO

Os animais foram mantidos no Biotério do Laboratório de Técnica Cirúrgica, em sala fechada, com um período de luz artificial de 12 horas, temperatura ambiente de 22^{o} C e alojados em gaiolas plásticas de poliuretano, quatro ratos por gaiola.

Todos os animais receberam inicialmente água e ração comercial* "ad libitum", durante 01 semana, para adaptação às condições experimentais.

3.3. DELINEAMENTO EXPERIMENTAL

Após a fase de adaptação ambiental (sete dias) os animais foram distribuídos por sorteio em 02 grupos experimentais, assim constituídos:

Grupo A1. Controle - 63 animais que receberam ração e água "ad libitum" por 60 dias. Após este período, 12 animais foram sacrificados e foi estudada a força de ruptura do segmento distal do cólon.

* NUVILAB - CR1 - NUVITAL NUTRIENTES - PRODUTOS VETERINARIOS – CURITIBA - PR.

Os demais foram operados e submetidos a uma anastomose do cólon distal e estudados no 7^{o}, 14^{o}, e 21^{o} dias pós-operatório,

Grupo A2. Etanol - 63 animais que receberam ração e etanol a 30% “ad libitum” por 60 dias. Após este período foram submetidos ao mesmo procedimento do grupo controle. Passaram a receber no pós-operatório, ração e água “ad libtum” até o final do experimento.

O delineamento experimental encontra-se esquematizado na figura 1.

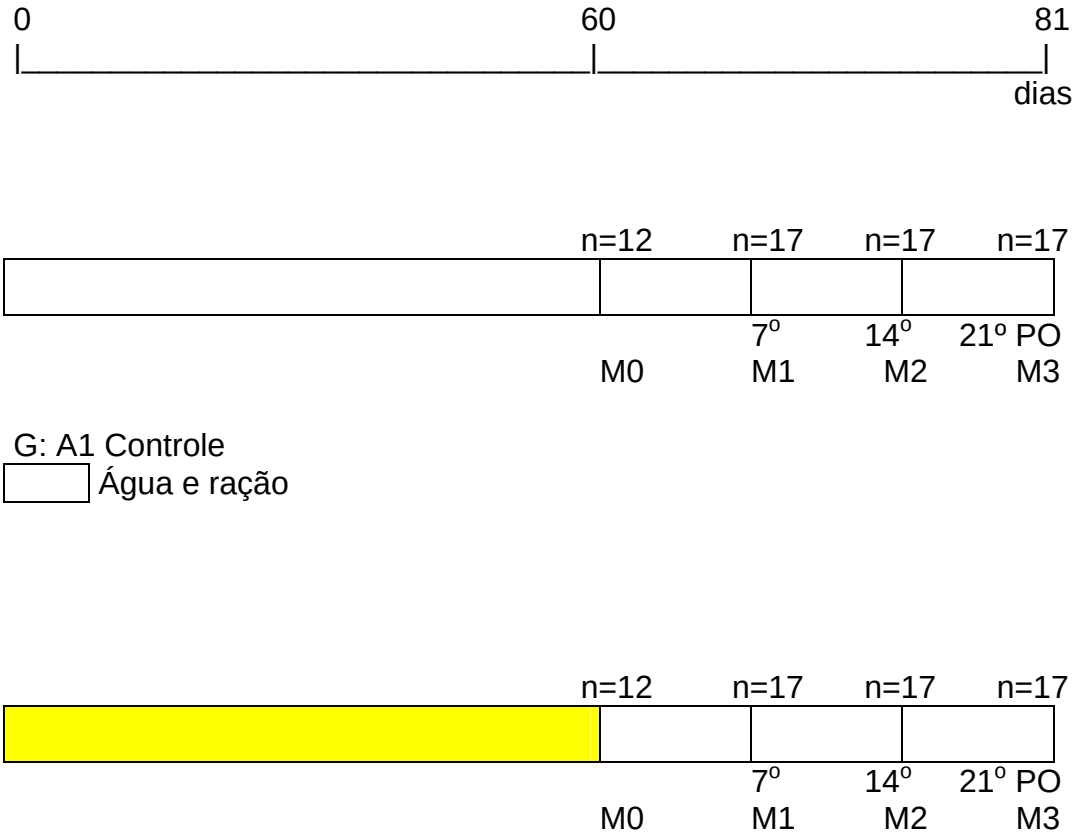


FIGURA 1 -Esquema do delineamento experimental. n = numero efetivo de animais avaliados; PO = Pós-Operatório; M = momentos avaliados; G = Grupo.

3.4. SEQÜÊNCIA DAS ETAPAS EXPERIMENTAIS

3.4.1. PREPARO DA SOLUÇÃO DE ETANOL

Para o grupo etanol (A2) procedeu-se a diluição do etanol com água destilada, utilizando alcoômetro de Guy-Lussac. Na primeira semana foi oferecido aos ratos o etanol diluído a 10% com água destilada; na segunda semana a 20% e a partir da terceira semana, a 30% até completar 60 dias.

No grupo controle (A1) os animais receberam água e ração comercial “ad libitum” até completar 60 dias.

3.4.2. OBSERVAÇÃO CLÍNICA

Os animais foram observados clinicamente, principalmente em relação ao estado geral, ingestão alimentar e pelagem.

Os animais foram pesados no início do experimento e duas vezes por semana até o sacrifício.

3.4.3. ANESTESIA

Após jejum de 12 horas, recebendo apenas água, os animais foram anestesiados com cloridrato de ketamina, (KETALAR), na dosagem de 2mg/kg de peso corpóreo. Quando necessário, foram aplicadas doses suplementares de cerca de um terço da dose inicial, (WINTERS et al., 1972).

O nível da anestesia foi determinado pela observação dos reflexos palpebrais, movimentos respiratórios e estímulos cutâneos. Foi considerado anestesiado, o animal com respiração regular e com ausência de reflexos a estímulos.

3.4.4. PROCEDIMENTO CIRÚRGICO

Foi realizada anti-sepsia do abdômen, usando-se álcool iodado a 2% na área previamente submetida à tricotomia, seguida de laparotomia mediana de aproximadamente 3cm de comprimento. Foi identificado o cólon distal, realizando-se secção transversal com tesoura reta, a cerca de 2cm da reflexão peritoneal, preservando-se a arcada marginal. Para a anastomose foi utilizado fio de prolene, monofilamentar 6-0, com agulha cilíndrica de 1,2cm.

A anastomose foi realizada em plano único extramucoso, com pontos separados e distanciados entre si cerca de 1 mm. Inicialmente as bordas mesenterial e contramesenterial foram justapostas e reparadas, realizando-se, então, a sutura anterior seguida da sutura posterior.

A parede abdominal foi fechada em plano único com pontos separados de algodão 3-0, englobando o peritônio, musculatura, subcutâneo e pele.

3.4.5. OBSERVAÇÃO CLÍNICA PÓS-OPERATÓRIA

Os animais submetidos à cirurgia foram colocados em gaiolas de poliuretano e observados quanto ao aspecto da cicatrização da pele, ingestão alimentar e evacuação.

3.4.6. COLETA E PROCESSAMENTO DO MATERIAL

Nos dias previstos para o estudo, os animais foram submetidos à anestesia com Ketalar, seguida de laparotomia mediana.

Foram preservadas as aderências do omento no local da anastomose, retirando-se a seguir, o segmento do cólon distal medindo aproximadamente 2cm de comprimento, contendo a anastomose, o qual foi mergulhado em soro fisiológico a 37^{o} C para a remoção do conteúdo fecal.

Os segmentos intestinais dos 12 animais sorteados, em cada momento, para o estudo da força de ruptura, foram colocados em um recipiente contendo soro fisiológico a 37^{o} C e cloridrato de papaverina (250 mg/l), sendo mantidos em banho-maria por 30 minutos.

Os segmentos intestinais dos 5 animais restantes em cada momento foram abertos pela borda mesentérica, estendidos pela face serosa, sobre papel de filtro e imersos em solução de formol a 10%, posteriormente foram encaminhados para exame histológico.

Após a retirada dos segmentos intestinais, a eutanásia dos animais foi realizada com superdosagem de pentobarbital.

3.4.7. ESTUDO DA FORÇA DE RUPTURA

APARELHO UTILIZADO

Para a determinação da força de ruptura foi utilizada a máquina de ensaios EMIC DL 10000, destinada à realização de ensaios de tração e compressão (EMIC, 2000). Este equipamento possui estrutura do tipo dupla coluna, instalado sobre bancada (figura 2). A faixa de variação de velocidades é bastante ampla, permitindo a realização de virtualmente qualquer tipo de ensaio até 500 mm/min. O equipamento, na sua configuração básica já é provido internamente por um medidor de deslocamento, que atua através da medição da rotação do fuso. Esta configuração permite a medição de cursos até 700mm e pode ser utilizada nos ensaios, onde o extensômetro externo possa ser dispensado (Figuras 3, 4 e 5) .

UNIDADE DA GRANDEZA FÍSICA MEDIDA

Neste estudo cada corpo de prova (peça cirúrgica) possui uma massa medida em gramas (g); o corpo de prova preso a placas de fixação é submetido a estiramento quando o sistema de tração sofre deslocamento linear, medido em milímetros (mm). Isto ocorre durante um intervalo de tempo, medido em segundos (s). O resultado obtido é uma medida de força que pode ser expressa em unidade newton (N) ou ser convertida para grama-força (gf) (RESNICK & HALLIDAY, 1976).

AFERIÇÃO DO INSTRUMENTO DE MEDIDA E SOFTWARE

Uma variedade de transdutores pode ser acoplada às três entradas de instrumentação disponíveis no equipamento, permitindo uma extensa gama de medições de cargas e deformações. Os transdutores de medição de força e medição de deformação, ligados ao equipamento se auto-identificam, permitindo a automática calibração e ajuste do equipamento às condições do ensaio. O equipamento é conectado ao microcomputador, através de um canal serial padrão RS 232 (figura 2).

O microcomputador possui instalado o programa ***MTest versão 1.01*** de uso geral em ensaios de tração e compressão, em utilização conjunta com o *Sistema Expansor.* O processamento se desenvolve em ambiente MS-DOS, sendo o sistema operacional fornecido, compatível a nível das necessidades do programa (EMIC, 2000). Para transdutores com extensômetros elétricos é preconizado um erro máximo da ordem de 2% (COBBOLD, 1974). O equipamento calibrado para a célula de força utilizada, transdutor n^{o} 18, possui margem de erro de apenas 1%, para valores igual ou superior a 100gf (EMIC, 2000).

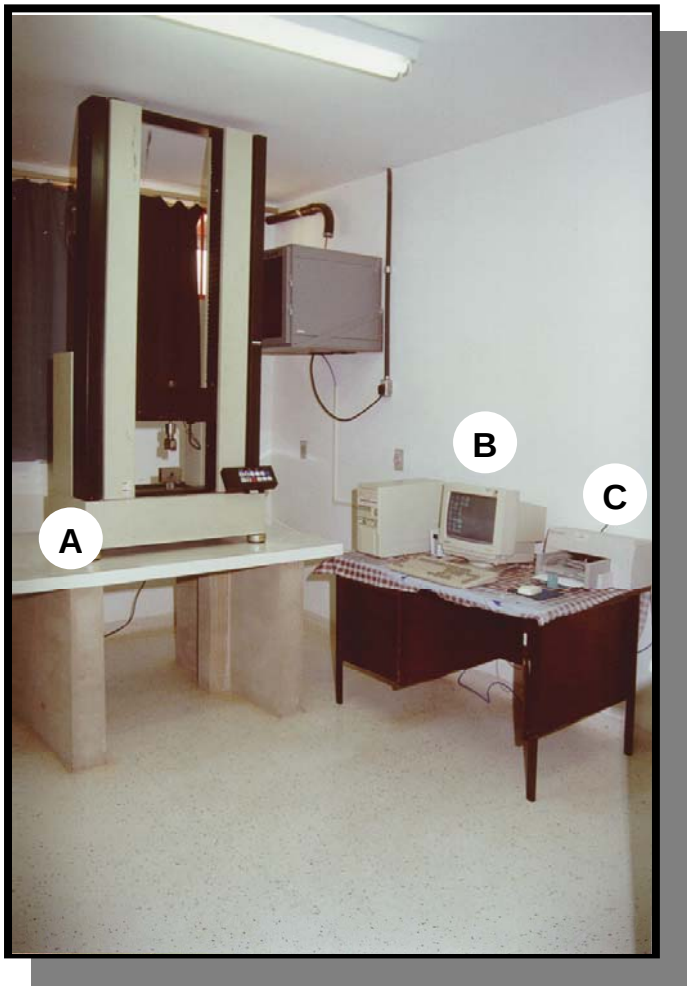


FIGURA 2 -Conjunto utilizado para estudo da força de ruptura;

A) máquina de ensaios EMIC DL – 10.000,

B) microcomputador e

C) impressora.



FIGURA 3 -Peça cirúrgica (cólon distal, na altura da anastomose) do rato nº 111, do grupo controle (A1), com sacrifício no 14º dia pós-operatório (M2).



FIGURA 4 -Peça cirúrgica, sendo submetida à tração no momento em que inicia-se a ruptura.



FIGURA 5 - Peça cirúrgica, após ruptura.

3.4.8. EXAME HISTOLÓGICO

A análise histológica do segmento do cólon distal, foi realizada em cinco animais de cada grupo, sorteados nos diferentes momentos experimentais.

Foram feitos três cortes de cada segmento intestinal (peça cirúrgica), perpendiculares à zona de anastomose. Os fragmentos foram processados pelo métodos habituais para obtenção de cortes histológicos, que foram corados pela hematoxilina-eosina (HE) e pelo Tricrômico de Masson. O exame foi feito utilizando-se o microscópio óptico Zeiss.

Os critérios adotados para o estudo histológico do processo de cicatrização foram:

3.4.8.1 CROSTA DA FERIDA DO CÓLON.

Avaliada comparativamente em escores de 0 a 3 (+++).

3.4.8.2. REGENERAÇÃO EPITELIAL.

Considerada parcial ou completa quando o epitélio regenerativo encontrava-se recobrindo toda a ferida cirúrgica.

3.4.8.3 TECIDO DE GRANULAÇÃO.

Avaliado comparativamente em escores de 0 a 3 (+++).

4.8.4 COLÁGENO.

Avaliado comparativamente em escores de 0 a 3 (+++).

3.4.8.5 QUANTIFICAÇÃO DE FIBROBLASTOS.

A contagem de fibroblastos no tecido de granulação foi feita em campo selecionado no local de maior celularidade, na área do processo de cicatrização, foi utilizada uma lente instalada na ocular do microscópio, contendo quadrilátero com 25 subdivisões. Depois de enquadrar a área de maior celularidade, contamos o número de fibroblastos por unidade de grade, e a soma do número encontrado nas 25 grades corresponde ao numero de fibroblastos naquele campo (figura 3). A contagem de fibroblastos foi feita em microscópio óptico Zeiss (aumento de 400 X).

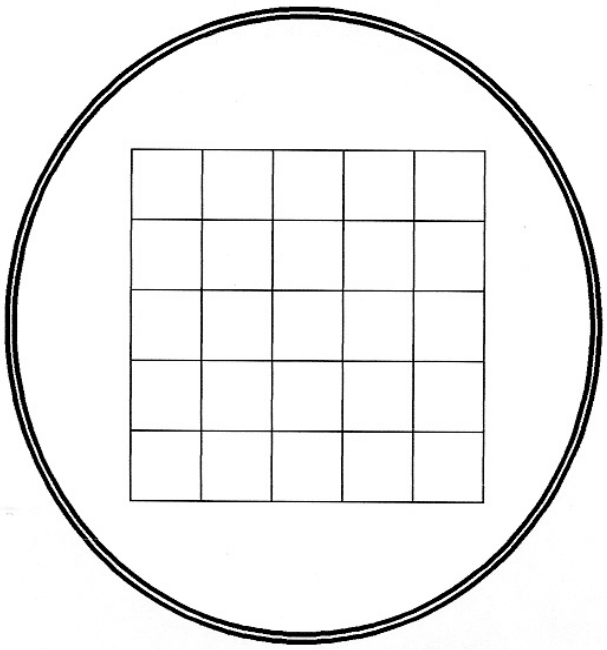


FIGURA 6 - Lente ocular para microscópio com quadrilátero para delimitação do campo de contagem de fibroblastos.

3.4.8.6 ANÁLISE MORFOMÉTRICA DA ÁREA TOTAL DA CICATRIZ

A área referente ao processo de cicatrização no local da anastomose foi medida em mm^2, utilizando-se um microscópio NIKON MICROPHOTO-FXA acoplado a uma câmera SONY CCD-IRIS-RGB e, também um microcomputador compatível com o software instalado (ZEISS/KS 300 3.0).

3.4.9. DELINEAMENTO DA ANÁLISE ESTATÍSTICA

De acordo com o delineamento experimental, definimos 2 fatores (álcool e tempo pós-operatório), abaixo esquematizados.

Fator A = Álcool
A1 = Controle
A2 = Etanol

Fator M = Tempo pós-operatório (P.O.)
M0 = animal não operado
M1 = 7^o dia de pós-operatório
M2 = 14^o dia de pós-operatório
M3 = 21^o dia de pós-operatório

Os dados obtidos em cada um dos diferentes momentos estudados foram avaliados:

1. Foi usado para análise da força de ruptura, o teste não paramétrico de Mann-Whitney, em virtude da existência de pontos anômalos no grupo controle.

2. Foi usado o teste de Fisher para análise da crosta da ferida, regeneração da mucosa, tecido de granulação e colágeno.

3. Para análise da contagem de fibroblastos foi usado o Teste t de Student (comparação entre os grupos) e depois a Análise de Variância (dentro de cada grupo para comparação ao longo do tempo).

4. Para mensuração de área da ferida foi usado inicialmente o Test t de Student (comparação entre os grupos) e, depois a Análise de Variância (dentro de cada grupo para comparação ao longo do tempo).

As estatísticas foram calculadas e seus respectivos níveis de significância (P). As diferenças foram consideradas significativas quando $P < 0,05$ (P= probabilidade de se concluir erroneamente pela significância).

4. Resultados

4.1. SEGUIMENTO CLÍNICO

No grupo controle (A1) observamos: ganho de peso corpóreo, boa aceitação da dieta e pelagem espessa. A tabela 1 apresenta os valores médios do peso no grupo controle em cada momento estudado. Os valores individuais estão listados nas tabelas 15, 17, 19 e 21 do anexo.

No grupo etanol (A2) observamos: pelagem fina e menor ganho de peso no subgrupo A2M0 no momento do sacrifício e nos subgrupos A2M2, A2M3 no momento da cirurgia, quando comparados aos controles. A tabela 2 apresenta os valores médios do peso no grupo etanol em cada momento estudado. Os valores individuais estão listados nas tabelas 16, 18, 20 e 22 do anexo.

As figuras 7, 8, 9 e 10 ilustram os valores médios do peso nos grupos em cada momento estudado.

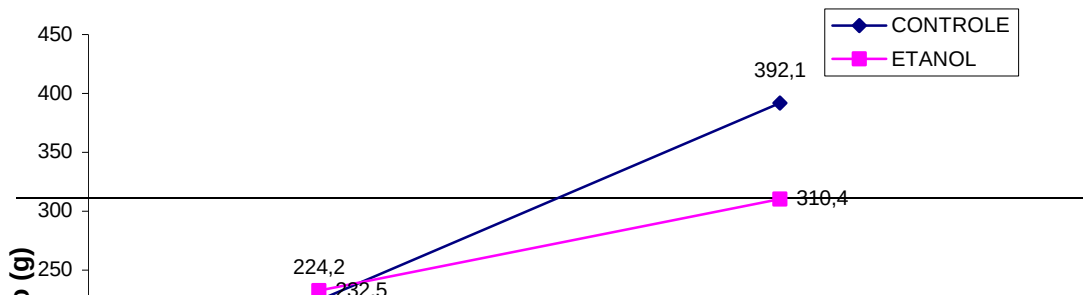
Observamos apenas 01 óbito que ocorreu no grupo controle (A1M3), dentre os animais operados e com sacrifício programado para o 21^{o} dia pós-operatório, tendo ocorrido no pós-operatório imediato e sendo atribuído possivelmente à depressão respiratória por anestésico, que não respondeu à ventilação.

TABELA 1- Média do peso dos ratos no grupo controle (A1). Média ($\overline{X}$) e desvio padrão (s), nos quatro momentos estudados; I = Início; C = Cirurgia; S = Sacrifício; M0 = ratos não operados; M1 = 7º dia pós- operatório; M2 = 14º dia pós-operatório; M3 = 21º dia pós- operatório.

A1	M0		M1			M2			M3		
	I	S	I	C	S	I	C	S	I	C	S
$\overline{X}$	224,2	392,1	175,8	227	237	180,8	285,8	308,3	165	262,5	312,7
S	5,14	19,59	12,40	19,28	26,34	9,00	25,53	23,67	5,22	33,06	36,35

TABELA 2- Média do peso dos ratos no grupo etanol (A2). Média ($\overline{X}$) e desvio padrão (s), nos quatro momentos estudados; I = Início; C = Cirurgia; S = Sacrifício; M0 = ratos não operados; M1 = 7º dia pós-operatório; M2 = 14º dia pós-operatório; M3 = 21º dia pós- operatório.

A2	M0		M1			M2			M3		
	I	S	I	C	S	I	C	S	I	C	S
$\overline{X}$	232,5	310,4	177,5	240,8	246,6	184,2	244,2	273,3	166,7	235,8	315
s	8,66	39,16	10,55	48,32	41,41	9,96	36,04	30,55	6,51	38,48	36,80



INÍCIO DO EXPERIMENTO

FIGURA 7 - Média do peso dos animais dos grupos controle (A1) e etanol (A2), não operados, no início do experimento e após 60 dias, na data do sacrifício.

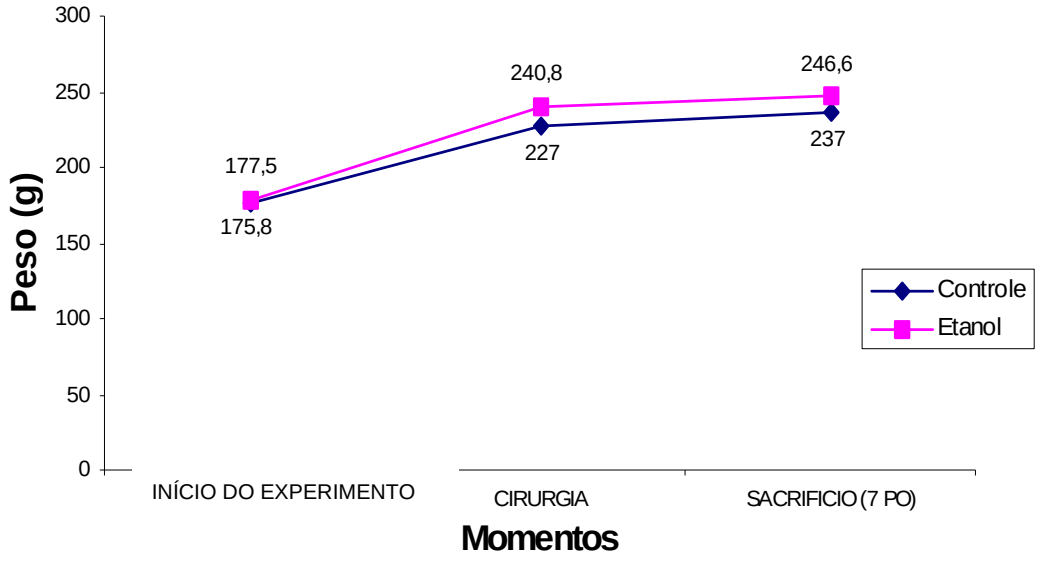


FIGURA 8 - Média do peso de animais dos grupos controle (A1) e etanol (A2), no início do experimento, após 60 dias (dia da cirurgia) e no dia do sacrifício (7º dia pós-operatório).

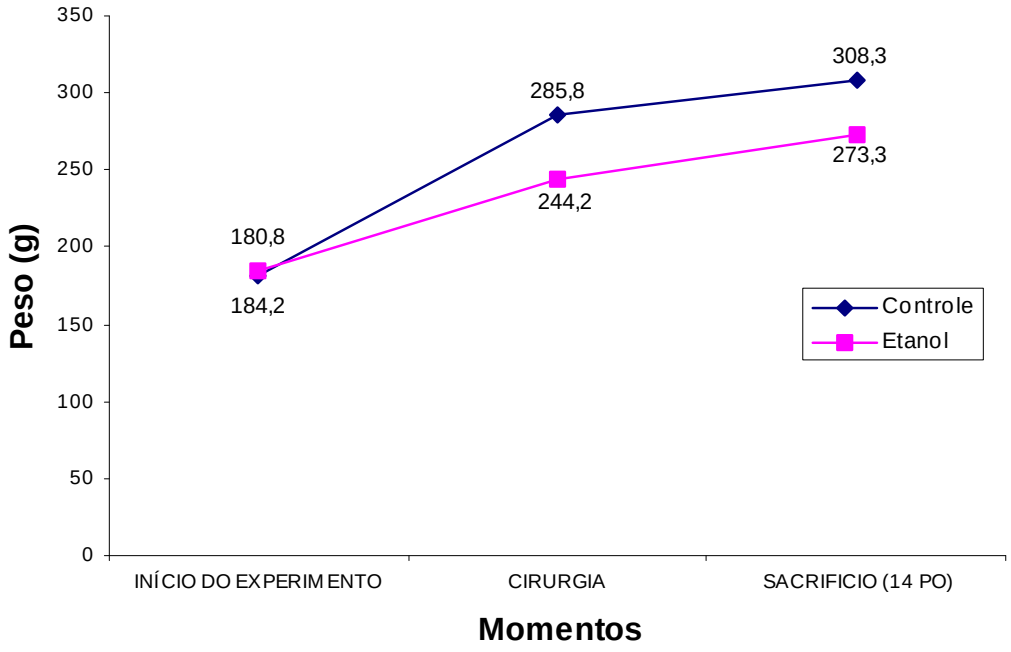


FIGURA 9 - Média do peso de animais dos grupos controle (A1) e etanol (A2), no início do experimento, após 60 dias (dia da cirurgia) e no dia do sacrifício (14º dia pós-operatório).

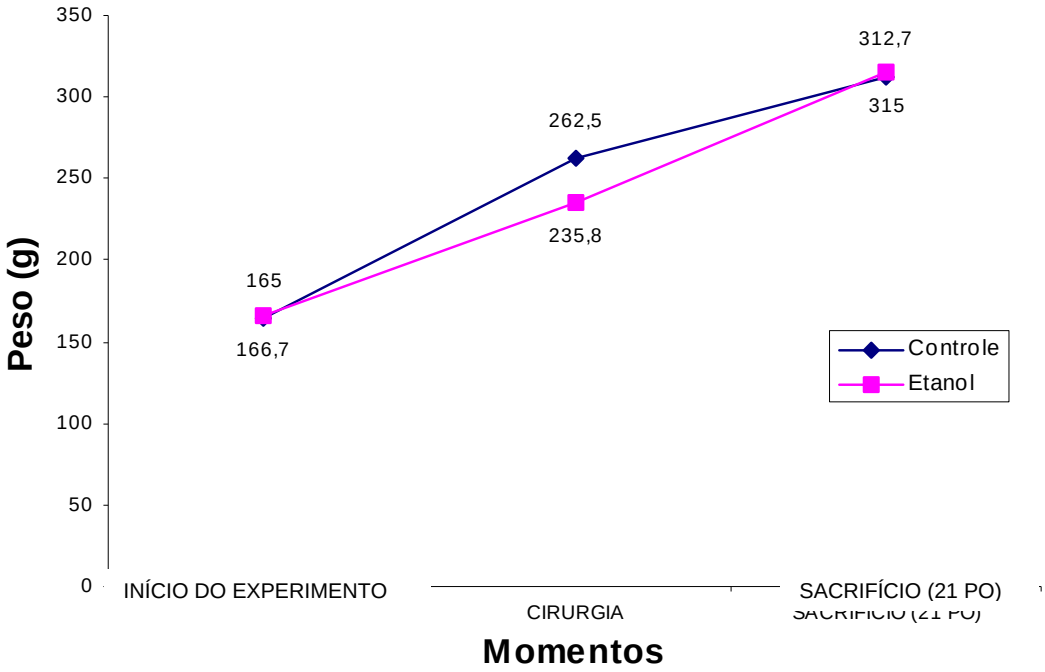


FIGURA 10 - Média do peso de animais dos grupos controle (A1) e etanol (A2), no início do experimento, após 60 dias (dia da cirurgia) e no dia do sacrifício (21º dia pós-operatório).

4.2. AVALIAÇÃO DA FORÇA DE RUPTURA

As tabelas 3 e 4 apresentam os valores médios ($\overline{X}$) e desvio padrão (s) da força de ruptura dos grupos controle e etanol nos diferentes momentos estudados. A figura 11 ilustra os valores médios desta variável, nos grupos controle e etanol em cada momento estudado. Os valores individuais estão listados nas tabelas 23 e 24 do anexo.

TABELA 3 - Força de ruptura (gf) do cólon, no grupo controle (A1). Média ($\overline{X}$) e desvio padrão (s), nos quatro momentos estudados; M0 = ratos não operados; M1 = 7º dia pós-operatório; M2 = 14º dia pós-operatório; M3 = 21º dia pós-operatório.

GRUPO CONTROLE A1	M0	M1	M2	M3
$\overline{X}$	781,7	256,4	427,1	448,8
s	67,23	88.70	116,3	56,31

TABELA 4 - Força de ruptura (gf) do cólon no grupo etanol (A2). Média ($\overline{X}$) e desvio padrão(s), nos quatro momentos estudados; M0= ratos não operados; M1 = 7º dia pós-operatório; M2=14º dia pós-operatório; M3 = 21º dia pós-operatório.

GRUPO ETANOL A2	M0	M1	M2	M3
$\overline{X}$	652,5	271,9	347,8	446,1
s	45,56	41,02	65,24	81,31

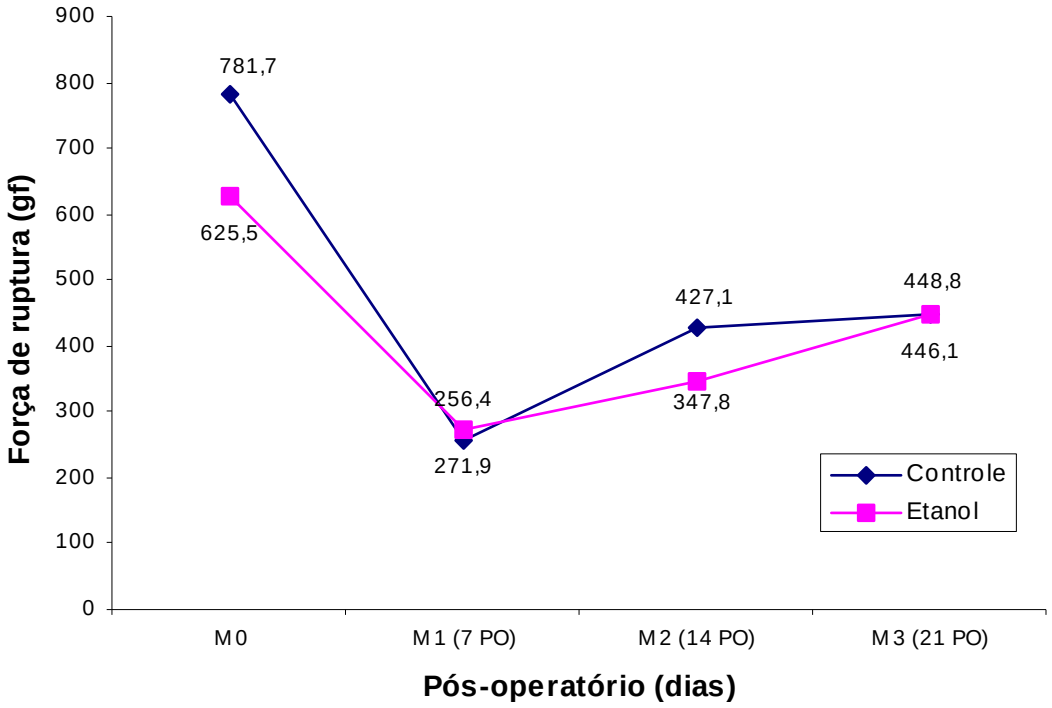


FIGURA 11 - Força de ruptura (gf) do cólon. Média dos grupos controle (A1) e etanol (A2), nos momentos estudados.

- **RESULTADO DA ANÁLISE ESTATÍSTICA NA FORÇA DE RUPTURA**

Foi usado o teste não paramétrico de Mann-Whitney para verificação de diferenças entre os grupos etanol e controle nos momentos avaliados. Foi testada a hipótese unilateral (o etanol diminui a resistência à força de ruptura).

Nos animais não operados, M0, ocorre diferença significante (p=0,03) de resistência à força de ruptura entre os grupos (A1>A2). No 7º dia pós-operatório não se pode considerar diferença significante (p=0,06) de resistência à força de ruptura entre os grupos A1 e A2. No 14º dia pós-operatório ocorre diferença significante (p=0,04) de resistência à força de ruptura entre os grupos (A1>A2). No 21º dia pós-operatório não se pode considerar diferença significante (p=0,84) de resistência à força de ruptura entre os grupos A1 e A2.

4.3. EXAME HISTOLÓGICO

As principais alterações histológicas observadas nos diferentes momentos, em ambos os grupos foram as seguintes:

4.3.1. CROSTA NA CICATRIZAÇÃO

As tabelas 5 e 6 apresentam a distribuição da crosta por escores (0 a +++) dos grupos controle e etanol nos diferentes momentos estudados. Os valores individuais estão listados nas tabelas 25,26,27,28,29 e 30 do anexo. As figuras 14,16,18,20 e 22 mostram a crosta constituída por fibrina, leucócitos e hemácias recobrindo a ferida cirúrgica e ilustram a distribuição desta variável nos grupos controle e etanol em cada momento estudado.

TABELA 5 - Distribuição da crosta por escores (0 a +++), em 05 ratos do grupo controle (A1), em cada momento estudado. P.O. = Pós-operatório; R = rato.

ANIMAL	7º P.O.	14º P.O.	21º P.O.
R1	+	0	+
R2	+	0	+
R3	+	+	+
R4	+	+	+
R5	++	+	++

TABELA 6 - Distribuição da crosta por escores (0 a +++), em 05 ratos do grupo etanol (A2), em cada momento estudado. P.O. = Pós-operatório; R = rato.

ANIMAL	7º P.O.	14º P.O.	21º P.O.
R1	++	+	+
R2	+++	+	+
R3	+++	+	+
R4	+++	+	+
R5	+++	+	+

- **RESULTADO DA ANÁLISE ESTATÍSTICA DA CROSTA NA CICATRIZAÇÃO**

Foi usado o Teste de Fisher para comparações dos grupo controle e etanol, em relação a distribuição da crosta por escores**.** No 7º dia pós-operatório a freqüência de maior escore (cruzes) no grupo etanol é significantemente diferente (valor-p=0,02). No 14º dia pós-operatório a freqüência de escores nos grupos etanol e controle não são significantemente diferentes (valor-p=0,44). No 21º dia pós-operatório a freqüência de escores nos grupos etanol e controle não são significantemente diferentes (valor-p=1,00)

4.3.2. REGENERAÇÃO EPITELIAL

As tabelas 7 e 8 apresentam a distribuição da regeneração epitelial (parcial ou completa) dos grupos controle e etanol nos diferentes momentos estudados. Os valores individuais estão listados nas tabelas 31,32,33,34,35 e 36 do anexo. As figuras 14,16,18,20,22 e 24 mostram a regeneração epitelial constituída por proliferação e migração de células epiteliais da mucosa que devem recobrir a ferida operatória e ilustram a distribuição desta variável nos grupos controle e etanol em cada momento estudado.

TABELA 7 - Regeneração epitelial no grupo controle (A1) em cada momento estudado. P.O. = pós-operatório; n = número de animais.

Momento	Regeneração epitelial	
	Parcial	Completa
	n	n
7º P.O.	4	1
14º P.O.	3	2
21º P.O.	5	0

TABELA 8 - Regeneração epitelial no grupo etanol (A2) em cada momento estudado. P.O. = pós-operatório; n = numero de animais.

Momento	Regeneração epitelial	
	Parcial	Completa
	n	n
7º P.O.	5	0
14º P.O.	4	1
21º P.O.	5	0

- **Resultado da análise estatística na regeneração epitelial**

Foi usado o Teste de Fisher para comparações dos grupos controle e etanol em relação à classificação da reepitelização (completa ou parcial). No 7º dia pós-operatório as freqüências de reepitelização nos grupos etanol e controle não são significantemente diferentes (valor-p=1,00). No 14º dia pós-operatório as freqüências de reepitelização nos grupos etanol e controle não são significantemente diferentes (valor-p=1,00). No 21º dia pós-operatório as freqüências de reepitelização nos grupos etanol e controle não são significantemente diferentes (valor-p=1,00).

4.3.3. TECIDO DE GRANULAÇÃO

As tabelas 9 e 10 apresentam a distribuição do tecido de granulação por escores (+ a +++) dos grupos controle e etanol nos diferentes momentos estudados. Os valores individuais estão listados nas tabelas 37,38,39,40,41 e 42 do anexo. As figuras 15,17,19,21,23 e 25 mostram o tecido de granulação constituído por neoformação de vasos capilares, proliferação de fibroblastos, células inflamatórias e deposição de colágeno e ilustram a distribuição desta variável nos grupos controle e etanol em cada momento estudado.

TABELA 9 - Distribuição do tecido de granulação por escores (+ a +++), em 05 ratos do grupo controle (A1) em cada momento estudado. P.O. = pós- operatório; n = número de animais.

ANIMAL	7º P.O.	14º P.O.	21º P.O.
R1	++	+	+
R2	++	+	+
R3	++	+	++
R4	+++	++	++
R5	++	+++	++

TABELA 10 - Distribuição do tecido de granulação por escores (+ a +++), em 05 ratos do grupo etanol (A2) em cada momento estudado. P.O. = pós- operatório; n = número de animais.

ANIMAL	7º P.O.	14º P.O.	21º P.O.
R1	+++	+	+
R2	+++	+	+
R3	+++	++	+
R4	+++	++	+
R5	+++	++	+

- **Resultado da análise estatística no tecido de granulação**

Foi usado o Teste de Fisher para comparações dos grupos controle e etanol em relação aos escores (cruzes). No 7º dia pós-operatório a freqüência de maior escore (cruzes) no grupo etanol é significantemente diferente (valor-p=0,048). No 14º dia pós-operatório a freqüência de escores nos grupos etanol e controle não são significantemente diferentes (valor-p=0,52). No 21º dia pós-operatório a freqüência de escores nos grupos etanol e controle não são significantemente diferentes (valor-p=0,17).

4.3.4 COLÁGENO

As tabelas 11 e 12 apresentam a distribuição do colágeno por escores (+ a +++) dos grupos controle e etanol nos diferentes momentos estudados. Os valores individuais estão listados nas tabelas 43,44,45,46,47 e 48 do anexo. As figuras 15,17,19,21,23 e 25 mostram o colágeno constituído por fibras amorfas, geralmente frouxas, dispostas entre os vasos neoformados, e ilustram a distribuição desta variável nos grupos controle e etanol em cada momento estudado.

TABELA 11 - Distribuição do colágeno por escores (+ a +++), em 05 ratos do grupo controle (A1), em cada momento estudado. P.O. = pós-operatório; n = número de animais.

ANIMAL	7º P.O.	14º P.O.	21º P.O.
R1	++	+	+
R2	++	+	+
R3	++	+	++
R4	++	++	++
R5	+++	+++	+++

TABELA 12 - Distribuição do colágeno por escores (+ a +++), em 05 ratos do grupo etanol (A2), em cada momento estudado. P.O. = pós-operatório; n = número de animais.

ANIMAL	7º P.O.	14º P.O.	21º P.O.
R1	+++	+	+
R2	+++	+	+
R3	+++	++	++
R4	+++	++	++
R5	+++	+++	++

- **Resultado da análise estatística no Colágeno**

Foi usado Teste de Fisher para comparações dos grupos controle e etanol em relação aos escores (cruzes). No 7º dia pós-operatório a freqüência de maior escore (cruzes) no grupo etanol é significantemente diferente (valor-p=0,048). No 14º dia pós-operatório a freqüência de escores nos grupos etanol e controle não são significantemente diferentes (valor-p=1,00). No 21º dia pós-operatório a freqüência de escores nos grupos etanol e controle não são significantemente diferentes (valor-p=1,00).

4.3.5 QUANTIFICAÇÃO DE FIBROBLASTOS

A tabela 13 apresenta os valores médios ($\overline{X}$) da contagem de fibroblastos dos grupos controle e etanol nos diferentes momentos estudados. A figura 12 ilustra os valores médios desta variável, nos grupos controle e etanol em cada momento estudado. Os valores individuais estão listados nas tabelas 49,50,51,52.53 e 54 do anexo. As figuras 15,17,19,21,23 e 25 mostram a presença de fibroblastos, sendo esta a célula mais comum no tecido conjuntivo e principal responsável pela síntese das fibras colágenas e material intercelular amorfo, e ilustram a distribuição desta variável nos grupos controle e etanol em cada momento estudado.

TABELA 13 - Contagem de Fibroblastos por campo, média ($\overline{X}$), nos grupos controle (A1) e etanol (A2), em cada momento estudado. P.O. = pós-operatório.

Momento	$\overline{X}$	
	CONTROLE (A1)	ETANOL (A2)
7º P.O.	144,4	105,4
14º P.O.	105,8	144,4
21º P.O.	131,2	149,4

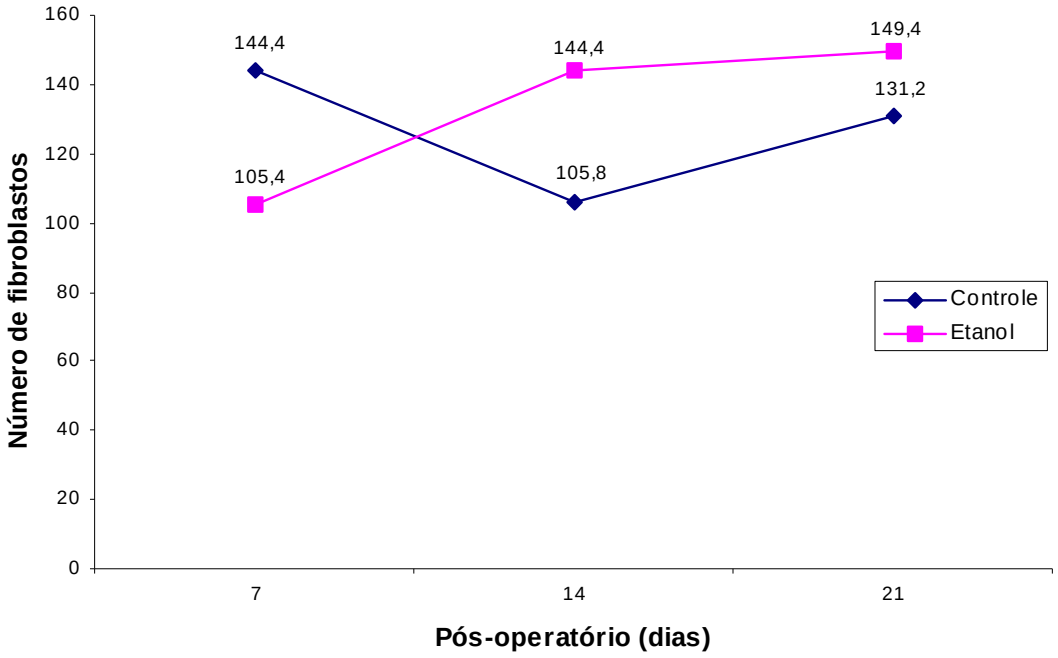


FIGURA 12 - Contagem de fibroblastos por campo (aumento 400X). Média dos grupos controle (A1) e etanol (A2), nos momentos estudados.

- **Resultado da análise estatística na contagem de Fibroblastos**

4.3.5.1 Foi usadoTeste t de Student para comparações dos grupos controle e etanol, nos momentos estudados. No 7º dia pós-operatório não há diferenças significantes entre as médias das contagens de fibroblastos dos grupos controle e etanol com T = 1,30 e P = 0,23. No 14º dia pós-operatório não há diferenças significantes entre as médias das contagens de fibroblastos dos grupos controle e etanol com T = -1,16 e P = 0,29. No 21º dia pós-operatório não há diferenças significantes entre as médias das contagens de fibroblastos dos grupos controle e etanol com T = - 0,63 e P = 0,55.

4.3.5.2 Foi usado Análise de Variância para comparações dentro dos grupos, ao longo do tempo, nos diferentes momentos estudados. No grupo controle (A1) comparando o 7^o P.O. x 14^o P.O. x 21^o P.O., comparação ao longo do tempo, não há diferenças significantes nas contagens médias (valor-p=0,40).

No grupo etanol (A2) comparando o 7^o P.O. x 14^o P.O. x 21^o P.O., comparação ao longo do tempo, não há diferenças significantes nas contagens médias (valor-p=0,37).

4.3.6 ANÁLISE MORFOMETRICA DA ÁREA DA CICATRIZ

A tabela 14 apresenta os valores médios (X) da medida de área da cicatriz dos grupos controle e etanol nos diferentes momentos estudados. A figura 13 ilustra os valores médios desta variável, nos grupos controle e etanol em cada momento estudado. Os valores individuais estão listados nas tabelas 55,56,57,58,59 e 60 do anexo. As figuras 14,16,18,20,22 e 24 mostram a área da cicatriz compreendida por tecido de granulação e reepitelização, e ilustram a distribuição desta variável nos grupos controle e etanol em cada momento estudado.

TABELA 14 - Medidas de área da cicatriz, em mm^2, média ($\overline{X}$), nos grupos controle (A1) e etanol (A2) em cada em cada momento estudado. P.O. = pós-operatório.

Momento	$\overline{X}$	
	CONTROLE (A1)	ETANOL (A2)
7^o P.O.	3,784	9,430
14^o P.O.	2,774	3,024
21^o P.O.	3,096	2,518

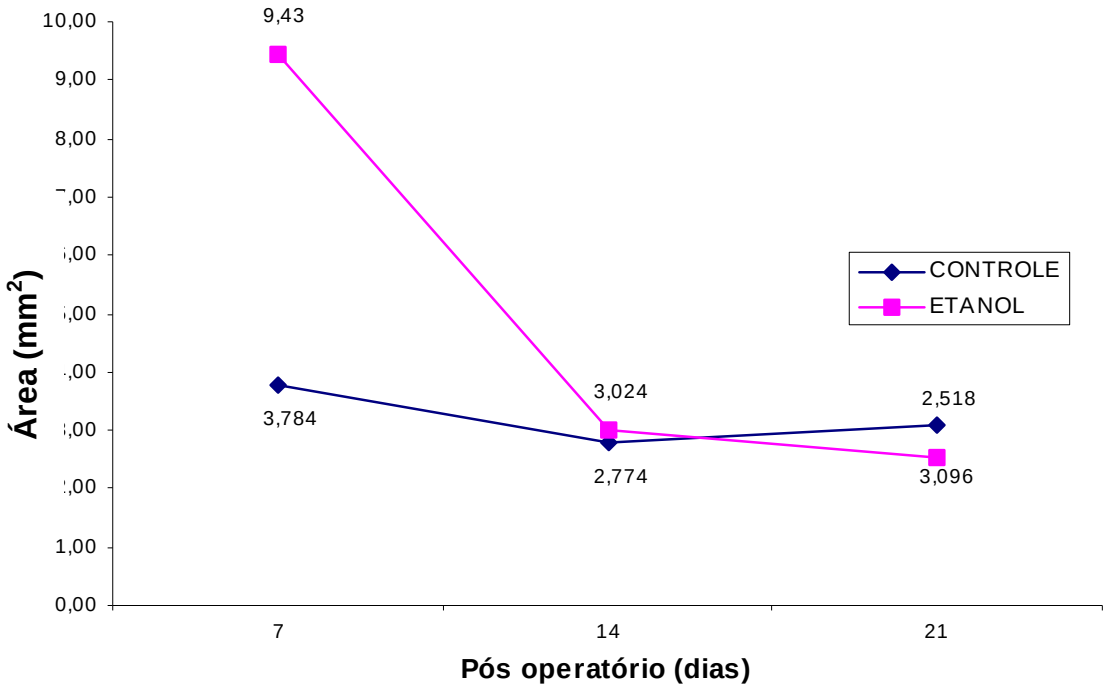


FIGURA 13 - Medidas de área da cicatriz, médias dos grupos controle (A1) e etanol (A2), nos momentos estudados.

- **Resultado da análise estatística nas medidas de área da cicatriz**

4.3.6.1 Foi usado o Teste t de Student para comparações dos grupos controle e etanol nos momentos estudados. No 7º dia pós-operatório a média das medidas de área do grupo etanol é significantemente maior que no grupo controle (valor-p=0,014). No 14º dia pós-operatório a diferença de médias dos dois grupos não é significante (valor-p=0,74). No 21º dia pós-operatório a diferença de médias dos dois grupos não é significante (valor-p=0,62).

4.3.6.2 Foi usado análise de Variância para comparações dentro dos grupos, ao longo do tempo, nos momentos estudados.

No grupo controle (A1) comparando o 7º P.O. x 14º P.O. x 21º P.O., comparação ao longo do tempo, não há diferenças significantes nas medidas médias (valor-p=0,61).

No grupo etanol (A2) comparando o 7º P.O. x 14º P.O. x 21º P.O., comparação ao longo do tempo, há diferenças significantes nas medidas médias (valor-p=0,000).

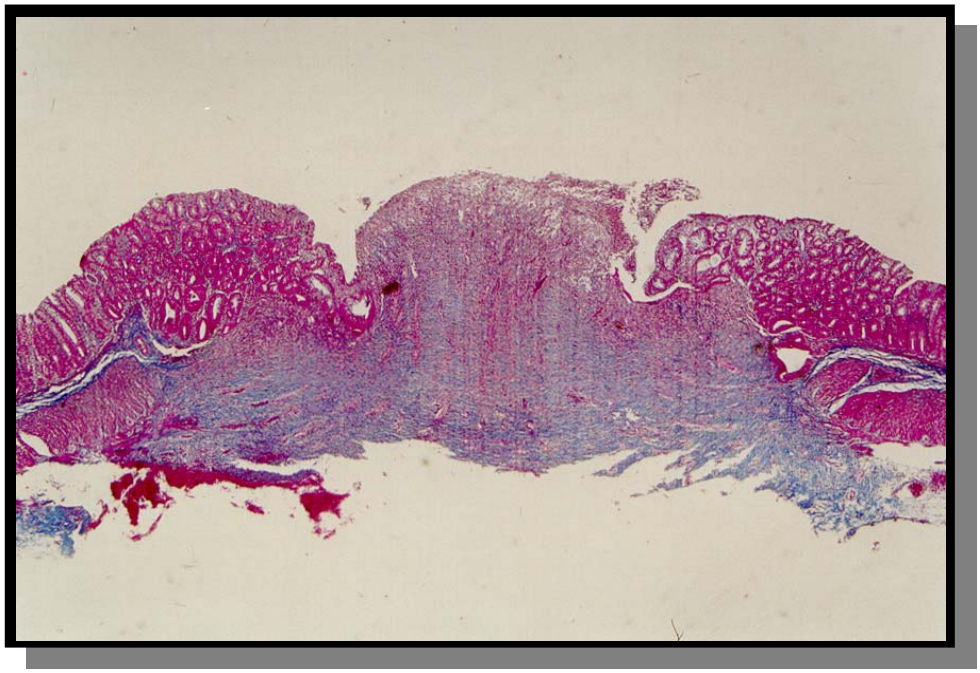


FIGURA 14 - Corte histológico de cicatriz do cólon distal de rato do grupo controle no 7 º dia P.O. (A1M1). Aspecto da crosta e tecido de granulação (Tricrômio de Masson 20x).

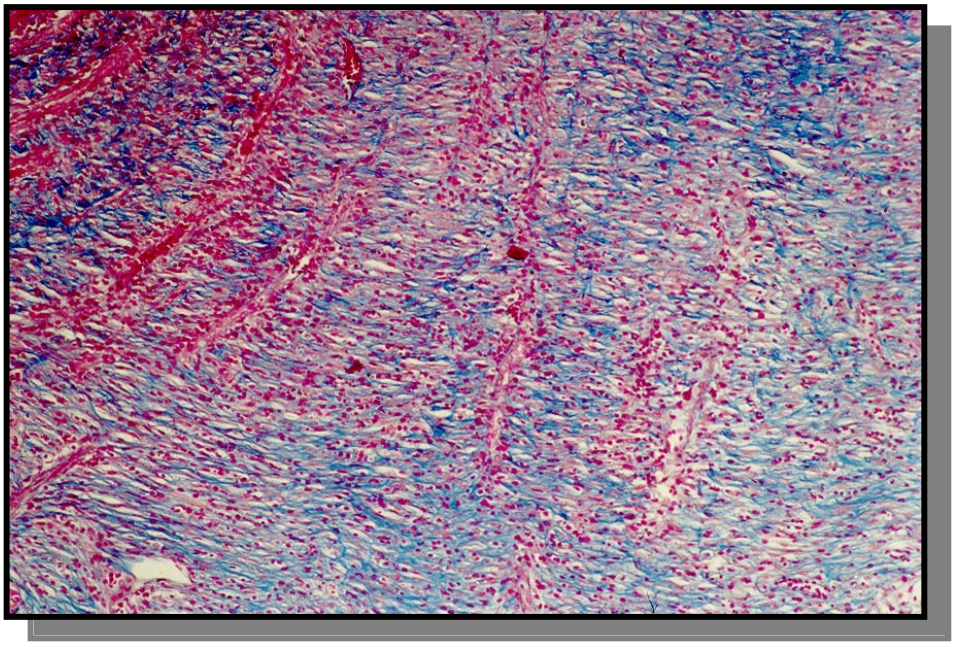


FIGURA 15 - Corte histológico de cicatriz do cólon distal de rato do grupo controle no 7º dia P.O. (A1M1). Aspecto do tecido de granulação (Tricrômio de Masson 200x).

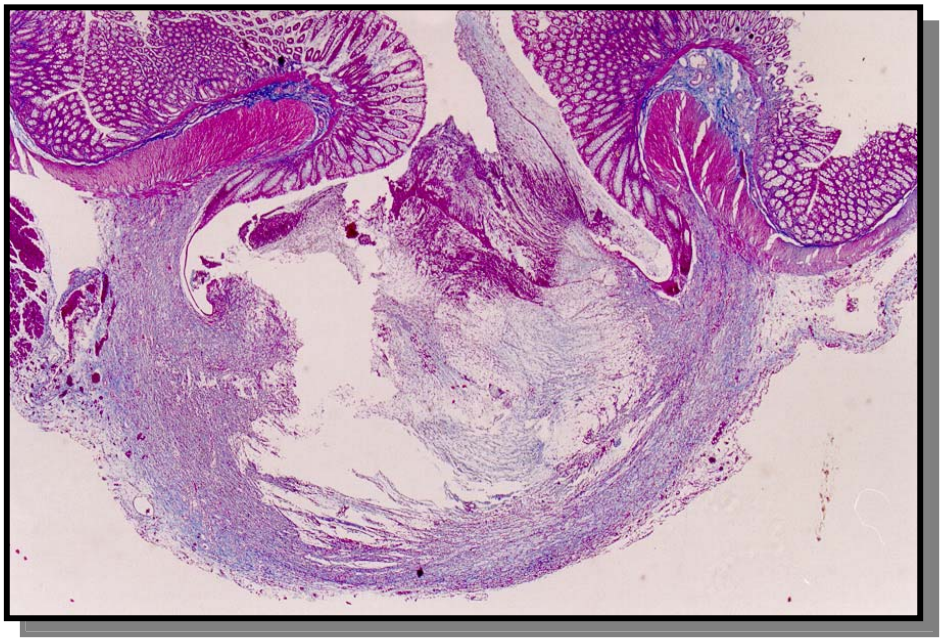


FIGURA 16 - Corte histológico da anastomose do cólon distal de rato do grupo etanol no 7º dia P.O. (A2M1). Aspecto geral da cicatriz (Tricrômico de Masson 20x).

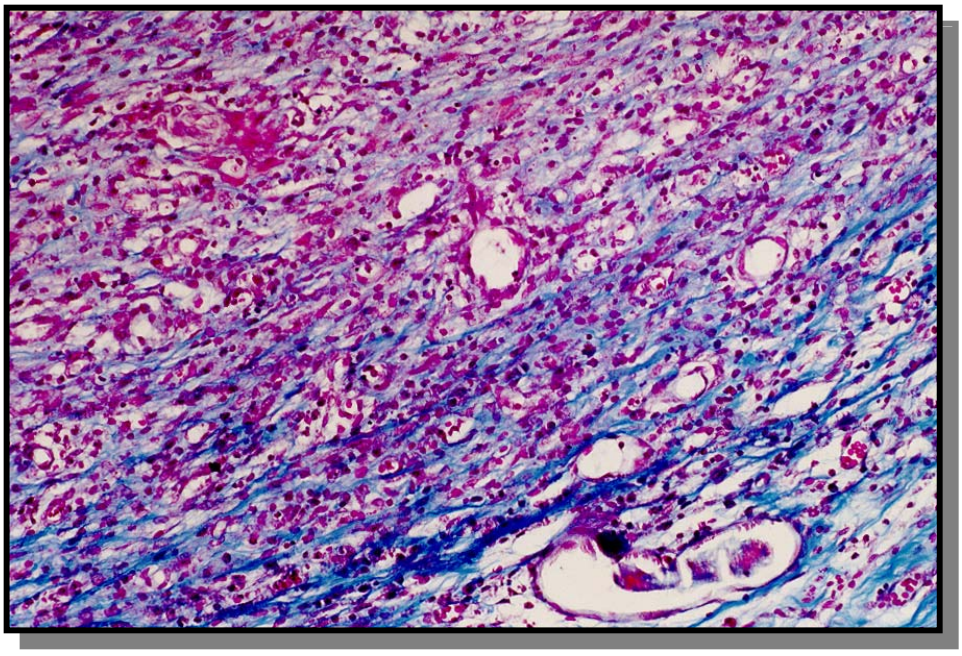


FIGURA 17 - Corte histológico da anastomose do cólon distal de rato do grupo etanol no 7º dia P.O. (A2M1). Aspecto do tecido de granulação (Tricrômico de Masson 200x).

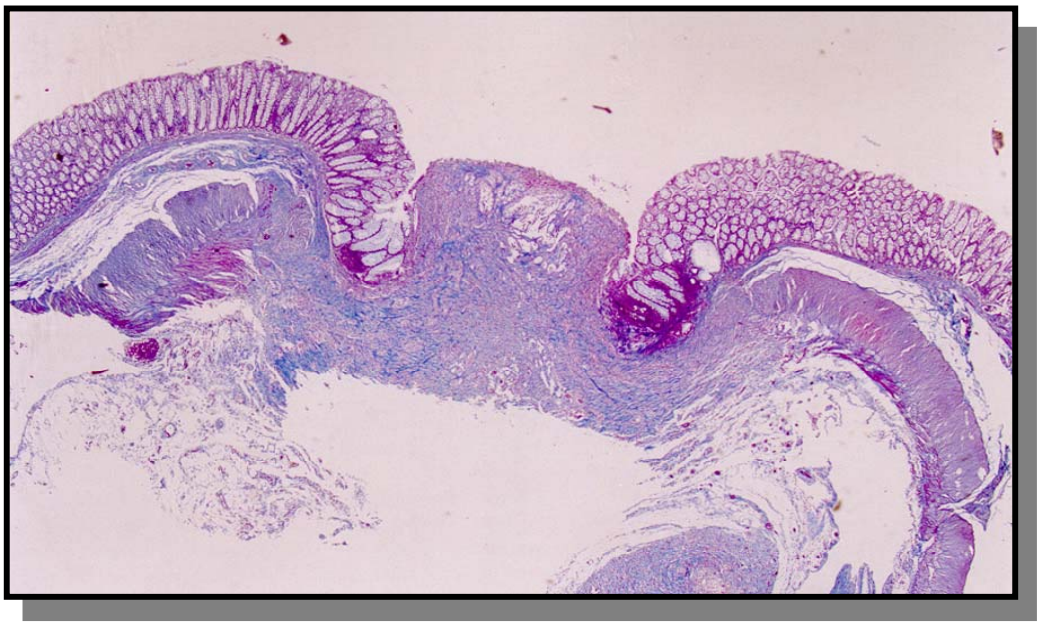


FIGURA 18 - Corte histológico da anastomose do cólon distal de rato do grupo controle no 14º dia P.O. (A1M2). Aspecto geral da cicatriz (Tricrômico de Masson 20x).

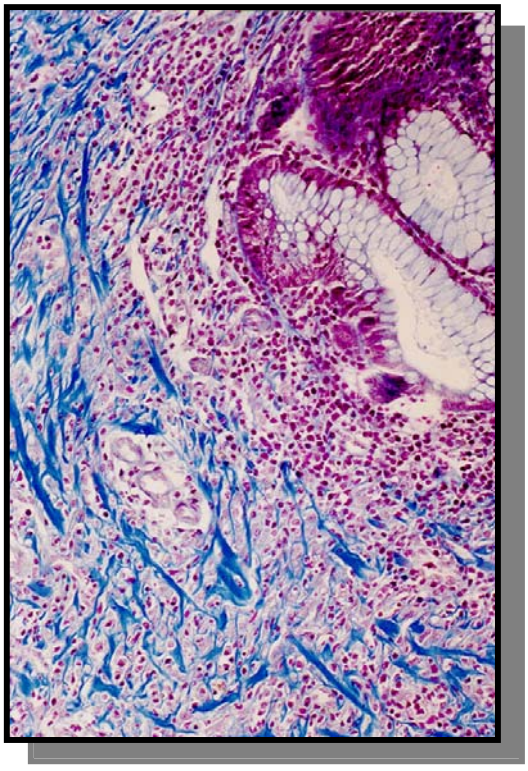


FIGURA 19 - Corte histológico da anastomose do cólon distal de rato do grupo controle no 14º dia P.O. (A1M2). Aspecto do tecido de granulação (Tricrômico de Masson 200x).

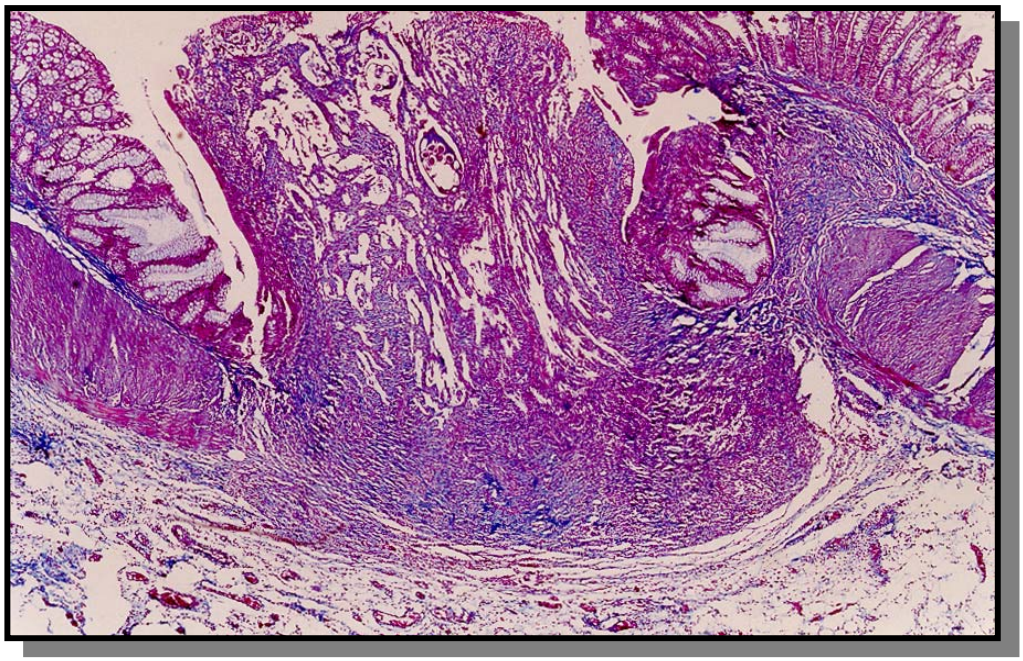


FIGURA 20 - Corte histológico da anastomose do cólon distal de rato do grupo etanol no 14º dia P.O. (A2M2). Aspecto geral da cicatriz (Tricrômico de Masson 40x).

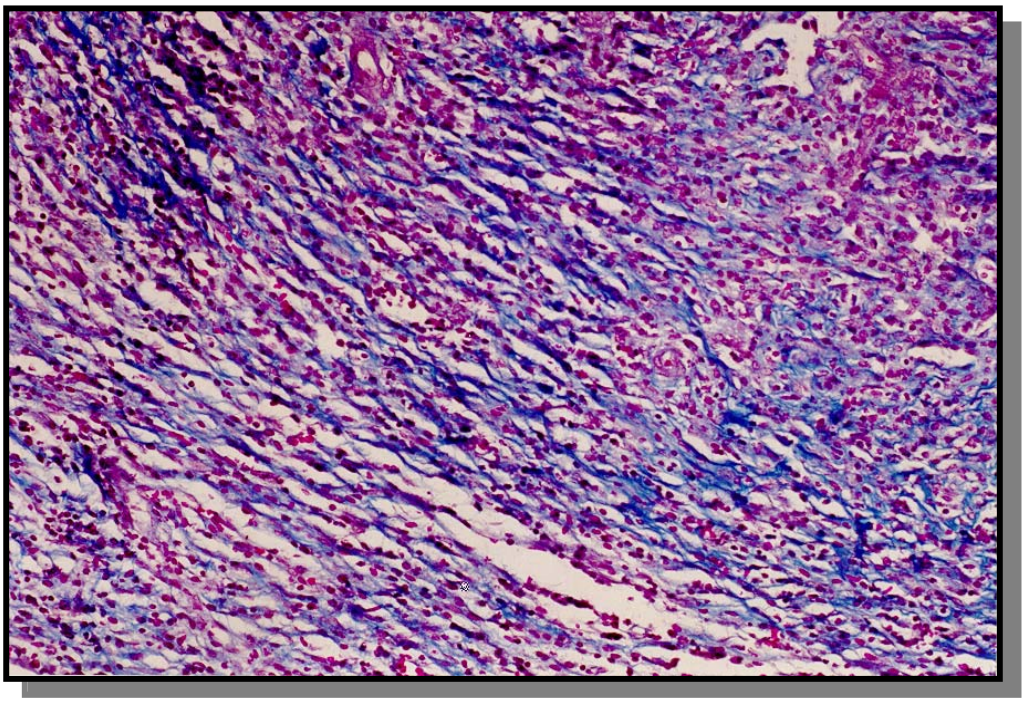


FIGURA 21 - Corte histológico da anastomose do cólon distal de rato do grupo etanol no 14º dia P.O. (A2M2). Aspecto do tecido de granulação (Tricrômico de Masson 200x).

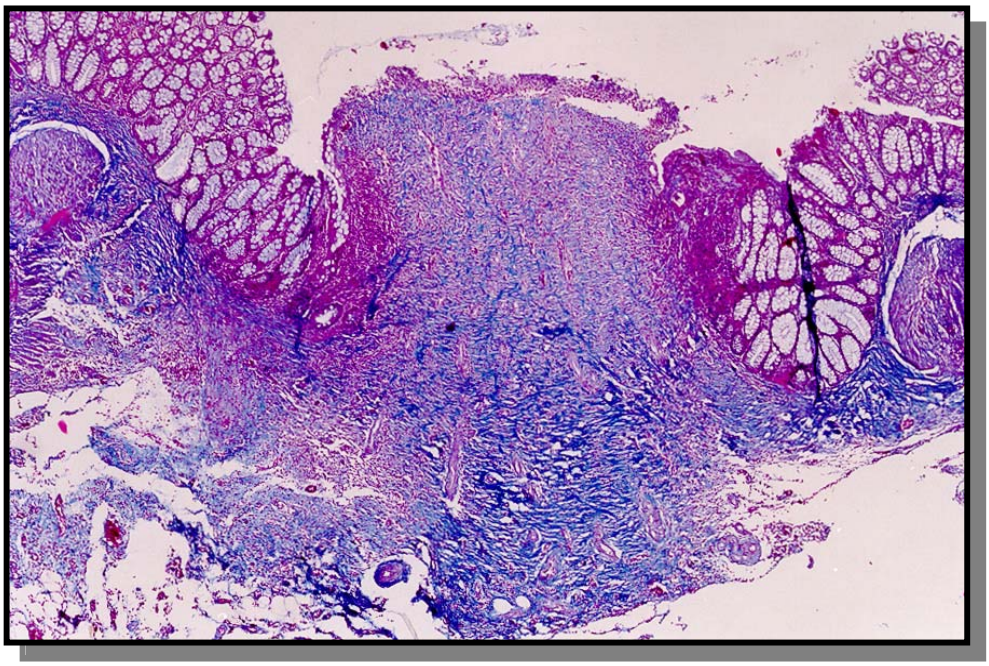


FIGURA 22 - Corte histológico da anastomose do cólon distal de rato do grupo controle no 21º dia P.O. (A1M3). Aspecto geral da cicatriz (Tricrômico de Masson 40x).

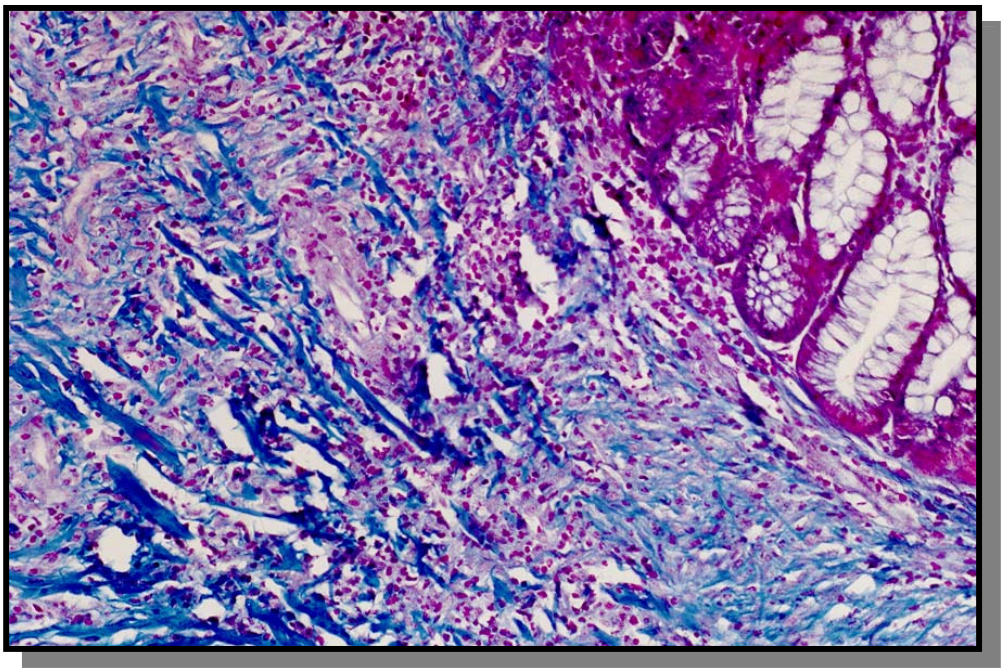


FIGURA 23 - Corte histológico de cicatriz do cólon distal de rato do grupo controle no 21º dia P.O. (A1M3). Aspecto da deposição de fibras colágenas e do tecido de granulação residual (Tricrômico de Masson 200x).



FIGURA 24 - Corte histológico da anastomose do cólon distal de rato do grupo etanol no 21º dia P.O. (A2M3). Aspecto Aspecto geral da cicatriz (Tricrômico de Masson 40x).

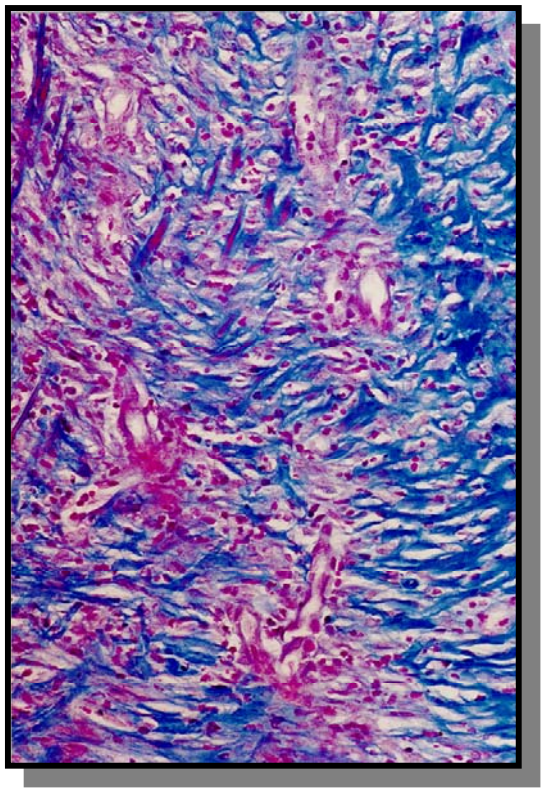


FIGURA 25 - Corte histológico de cicatriz do cólon distal de rato do grupo etanol no 21º dia P.O. (A2M3). Aspecto da deposição de fibras colágenas e do tecido de granulação residual (Tricrômico de Masson 200x).

5.Discussão

5.1 ANIMAL DE EXPERIMENTAÇÃO

O rato é o animal empregado com freqüência em modelos experimentais para o estudo da cicatrização das anastomoses intestinais (CRONIN et al., 1968; MUNDAY & McGINN, 1976; LORD et al., 1977; JIBORN et al., 1978a; STROMBERG & KLEIN, 1982; BLOMQUIST et al., 1985; UDÉN et al., 1988; NARESSE, 1990; LEITE,1991) e, também em estudos do alcoolismo (ZUCOLOTO et al., 1979, 1985), sendo por estas razões escolhido para esta experimentação.

5.2. BIOQUÍMICA E METABOLISMO DO ETANOL

O etanol possui um alto conteúdo energético, produzindo cerca de 7,1 kcal/g quando oxidado (LEHNINGER, 1985). Porém independente dos efeitos prejudiciais, sociais e econômicos do alcoolismo, o etanol possui desvantagens como fonte de energia na alimentação. Por exemplo as calorias consumidas como etanol, além da necessidade calórica diária, são necessariamente convertidas em gordura via acetil-CoA, uma vez que o etanol não pode ser convertido em glicose ou glicogênio no organismo. O consumo agudo de etanol também pode levar muitos indivíduos à hipoglicemia, pois inibe a neoglicogênese a partir do lactato e aminoácidos (LEHNINGER, 1985).

A absorção do etanol ocorre principalmente na mucosa do trato gastrointestinal, podendo ocorrer também no trato respiratório

(CORBETT, 1982). A absorção ocorre por difusão simples; é mais rápida no início e diminui posteriormente em função do gradiente de concentração, sendo 90% absorvidos na 1ª hora e o restante nas seis horas seguintes (LITTER, 1980; CORBETT, 1982). A velocidade de absorção do etanol guarda relação linear com sua concentração na luz intestinal, porém vários fatores podem interferir na sua absorção, tais como a concentração da bebida alcoólica, o volume, a ingestão rápida ou fracionada, a plenitude gástrica e o tempo de esvaziamento gástrico (GIRDWOOD & DILLING, 1976; LITTER, 1980; CORBETT, 1982).

O etanol absorvido distribui-se por todos os líquidos corpóreos, intra ou extracelulares de acordo com o conteúdo hídrico dos tecidos, e a maior concentração é encontrada nos seguintes órgãos, em ordem decrescente: cérebro, rins, pulmões, coração, paredes intestinais, músculos estriados e fígado (CORBETT, 1982).

Cerca de 90% do etanol ingerido sofre metabolização hepática. Uma pequena porção é metabolizada em outros órgãos, como no cérebro e no músculo estriado, sendo de 2% a 10% excretados, inalterados através dos pulmões, rins, suor e saliva (PETTERS, 1982). A metabolização pode completar-se no prazo de oito a dez horas. A velocidade de metabolização e remoção varia de acordo com fatores étnicos, idade, patologia hepática, uso de drogas e uso crônico de álcool (EWING et al., 1974).

Há evidências no alcoolismo crônico da indução de esteatorréia, má absorção intestinal e desnutrição (MEZEY, 1975). É comum a associação de alcoolismo e dieta inadequada, levando à desnutrição, também podendo ocorrer a presença de hepatopatia e ou de pancreatite crônica, que agravam o estado nutricional (FORTES et al., 1991).

O álcool no organismo humano determina maior velocidade de trânsito com prejuízo na absorção do sal e água. Ocorre também uma inibição no processo de transporte ativo responsável pela absorção de vitaminas e nutrientes, além da reduzida ingestão de vitaminas e minerais, comum nestes pacientes. Isto pode resultar em deficiências especificas de nutrientes, por exemplo, da tiamina (WORLD et al., 1985).

As deficiências nutricionais decorrentes do alcoolismo, podem determinar graves danos teciduais e prejuízos funcionais em órgãos como o fígado e o cérebro (WORLD et al., 1985).

A ação do álcool no intestino é melhor observada em trabalhos experimentais, assim, DRAPER et al. em 1983, demonstraram em estudo experimental em ratos, que a presença de quantidades substanciais de álcool no intestino desestabiliza temporariamente as junções do epitélio e promove desta forma a absorção de materiais que normalmente são excluídos. Isto talvez possa favorecer a translocação bacteriana à semelhança do que ocorre com o uso do diclofenaco de

sódio (VERDERESSE, 1999). A ingestão de etanol pode também causar a redução na síntese de proteínas nas camadas musculares do intestino delgado de ratos, principalmente da fração contrátil (PREEDY & PETTERS, 1990; MARWAY et al., 1993).

5.3. FORÇA DE RUPTURA

O tecido de reparação da cicatriz deve possuir a propriedade mecânica de resistência, quando submetido às tensões normais, às quais o organismo é exposto em condições fisiológicas. Esta propriedade física, nos órgãos cavitários pode ser avaliada em laboratório, por dois métodos:

a) Força de explosão, promovida pela insuflação gasosa ou líquida da víscera (NELSEN & ANDERS, 1966). Este procedimento avalia a resistência da parede de um órgão cavitário ao aumento da pressão no seu interior, até ocorrer uma ruptura puntiforme ou parcial da anastomose.

A força de explosão é dependente da Pressão intraluminal e da Tensão da parede da víscera.

A tensão da parede do intestino é função do seu diâmetro e formato.

Para um cilindro: Tensão = Pressão x Raio (Lei de Laplace).

Ocorre que a parede intestinal é elástica, havendo modificações do raio durante a insuflação. O local da anastomose em fase de remodelação é menos distensível, apresentando, assim, menor raio e por conseqüência, sofrerá menor tensão que o segmento intestinal íntegro. Portanto a ruptura da parede intestinal pode ocorrer em tecido adjacente à anastomose (NELSEN & ANDERS, 1966; JIBORN et al., 1978b).

b) Força de ruptura, que permite avaliar a resistência de um segmento intestinal à forças opostas (tração). Pode ser utilizado um segmento da anastomose (MUNDAY & Mc GINN, 1976; DEVENEY & WAY, 1977) ou toda a sua extensão (JIBORN et al., 1978c). A uniformidade das amostras intestinais e a metodologia empregada no presente estudo permitiu a utilização de toda a extensão da anastomose.

O uso de garras com dentes para preensão das amostras intestinais pode causar lacerações puntiformes. Utilizamos placas de preensão sem dentes para evitar este risco.

Outro problema no estudo da resistência mecânica da parede intestinal é conseqüente à composição desta parede, que não é homogênea e possui formato cilíndrico. A parede intestinal contem camadas de tecidos que incluem musculatura e pequena quantidade de colágeno, concentrado na camada submucosa (LORD et al., 1977). Portanto os fragmentos retirados podem sofrer alterações nas propriedades mecânicas ao apresentarem maior ou menor estado de

contratura, o que pode alterar a leitura da resistência à força de tração. Este problema foi contornado, fazendo-se a imersão dos segmentos intestinais em solução fisiológica, contendo cloridrato de papaverina (GOTTRUP, 1980).

Muitos autores optaram por preservar os fios e nós cirúrgicos em estudos de força de ruptura (HERRMANN et al., 1964; JIBORN et al., 1978c; BLOMQUIST et al., 1985; HÖGSTRÖM & HAGLUND, 1985; JÖNSSON et al., 1985; UDÉN et al., 1988; NARESSE, 1990; LEITE, 1991).

Neste estudo optou-se pela não retirada dos fios e nós cirúrgicos para não traumatizar a anastomose e, também porque em estudo da cicatrização intestinal no cólon do rato, verificou-se que a força de ruptura não era influenciada pela sutura remanescente após o 7^{o} dia de pós-operatório (BLOMQUIST et al., 1985).

Encontramos diferença significante na força de ruptura no cólon distal no momento inicial (M0), sendo menor no grupo etanol (A2) quando comparado ao grupo controle (A1). Isto pode ser conseqüência de fatores que interferem na composição da parede intestinal, tais como a lise aumentada do colágeno, a diminuição da síntese colagênica, a ação tóxica do álcool sobre a parede muscular e também sobre a matriz colagênica alterando a qualidade do colágeno. A determinação de quais destes fenômenos ocorreram e com qual intensidade deve ser motivo para estudos posteriores.

Nos animais de ambos os grupos, após o procedimento cirúrgico, foi fornecida apenas uma dieta padrão e água, com abstinência de etanol no grupo que o recebia previamente. Procuramos, assim, estabelecer analogia com a situação clínica do alcoólatra que submetido à cirurgia é privado do etanol no pós-operatório.

Nos dois grupos (controle e etanol), no período pós-operatório, observamos que o valor da resistência mecânica no cólon distal, foi progressivamente crescente nos momentos avaliados (M1, M2 e M3).

Não encontramos diferença significante na força de ruptura no cólon distal no 7^{o} dia pós-operatório (M1), entre o grupo controle (A1) e o grupo que previamente à cirurgia foram tratados com etanol (A2). É provável que até o 7^{o} dia pós-operatório, a resistência mecânica da zona anastomótica fosse mantida principalmente pela sutura. Posteriormente assumindo de maneira gradual, maior importância à fibroplasia e à remodelação colágenica, explicando-se, assim, os valores semelhantes obtidos nesta ocasião.

Encontramos diferença significante na força de ruptura no cólon distal apenas no 14^{o} dia pós-operatório (M2), sendo menor no grupo etanol (A2) quando comparado ao grupo controle (A1). No 14^{o} dia pós-operatório, o tecido cicatricial encontrava-se em plena fase de fibroplasia, sendo nesta ocasião de maior importância, a quantidade e qualidade do colágeno depositado na ferida para o valor de sua resistência mecânica.

Observamos, portanto, que nesta ocasião os animais que previamente à cirurgia foram tratados com etanol (A2), não conseguiram ainda igual desempenho no processo de cicatrização.

Não encontramos diferença significante na força de ruptura no cólon distal no 21^{o} dia pós-operatório entre o grupo controle (A1) e o grupo que previamente à cirurgia foi tratado com etanol (A2). Isto demonstra que nesta fase, os animais do grupo etanol (A2), submetidos à abstinência no pós-operatório, assemelharam-se aos do grupo controle (A1), quanto à evolução do seu processo de cicatrização.

5.4. CROSTA NA CICATRIZAÇÃO

A crosta na ferida é constituída por sangue coagulado, desidratado, contendo fibrina e células do sangue, a qual isola a ferida do meio externo (MARTINEZ-HERNANDES, 1994; COTRAN et al., 1996).

Os resultados obtidos em escores, na avaliação da formação de crosta na ferida do cólon distal, no 7º dia pós-operatório, demonstraram maiores escores nos animais do grupo etanol (A2) quando comparados ao controle (A1).

Este resultado está de acordo com as medidas de área da cicatriz, obtidas no 7º dia pós-operatório, que também mostrou média significantemente maior no grupo etanol (A2).

Nos resultados obtidos em escores, na avaliação da formação de crosta na ferida do cólon distal, dos animais no 14º e 21º dias pós-operatórios (M1 e M2), não se observou diferença significante na freqüência de escores nos animais dos grupos controle (A1) e etanol (A2).

Este resultado está de acordo com as medidas de área da cicatriz que mostraram médias sem diferença significante entre os grupo controle e etanol no 14º e 21º dias pós-operatório.

5.5. REGENERAÇÃO EPITELIAL

A regeneração da mucosa ocorre por proliferação e migração de células epiteliais que recobrem a ferida (MARTINEZ-HERNANDES, 1994; COTRAN et al., 1996).

Os resultados obtidos na avaliação da reepitelização na ferida do cólon distal, dos animais no 7^{o}, 14^{o} e 21^{o} dias pós-operatório (M1, M2 e M3), não mostraram diferença significante na freqüência de reepitelização nos animais dos grupos controle e etanol.

Foi descrito em ratos sob consumo crônico de etanol, uma estimulação à maior síntese de DNA em células intestinais (SEITZ et al., 1983), possivelmente de natureza compensatória às lesões encontradas na mucosa intestinal de ratos que consumiram etanol na sua dieta (ZUCOLOTO et al., 1979; SALVI, 1999).

O fato de não encontrarmos diferença estatística significante na reepitelização dos grupos, pode ser decorrente da abstinência, pós operatória, imposta ao grupo que fazia consumo de etanol (A2) previamente à cirurgia, possibilitando a regeneração da mucosa sem interferência do etanol no pós operatório.

5.6. TECIDO DE GRANULAÇÃO

O tecido de granulação formado no processo de cicatrização é constituído por tecido conectivo, capilares neoformados, fibroblastos, células inflamatórias, colágeno e matriz extracelular (MARTINEZ-HERNANDES, 1994; SINGER & CLARK, 1999).

Os resultados obtidos em escores, na avaliação da formação do tecido de granulação na ferida do cólon distal, nos animais do grupo controle (A1) e etanol (A2) no 7º dia pós-operatório (M1), indicaram maior freqüência de maior escore nos animais do grupo etanol (A2).

Este resultado correlaciona-se com a mensuração de área da ferida, que mostrou média significantemente maior no grupo etanol (A2), neste momento do pós-operatório.

Nos resultados obtidos em escores, na avaliação da formação de tecido de granulação na ferida do cólon distal, dos animais no 14º e 21º dias pós-operatório, (M2) e (M3), não se observou diferença significante na freqüência de escores nos animais dos grupos controle (A1) e etanol (A2).

Este resultado correlaciona-se com a mensuração de área da ferida, que mostrou médias sem diferença significante entre os grupo controle e etanol, no 14º e 21º dias do pós-operatório.

5.7. COLÁGENO

O colágeno constitui uma família de proteínas que se diferenciaram, assumindo morfologia característica e formando a estrutura extracelular de todos os organismos multicelulares (JUNQUEIRA & CARNEIRO, 1995).

Os resultados obtidos em escores, na avaliação da presença de colágeno na cicatriz do cólon distal, nos animais do grupo controle (A1) e etanol (A2) no 7º dia pós-operatório (M1), indicaram maior freqüência de colágeno nos animais do grupo etanol (A2). Este resultado correlaciona-se com o estudo do tecido de granulação também mais abundante nos animais do grupo etanol (A2) no 7º dia pós-operatório (M1). Ambos correlacionam-se com a área da cicatriz, que mostra área média maior no grupo etanol (A2), no 7º dia pós-operatório (M1).

Os resultados obtidos em escores, na avaliação da presença de colágeno na cicatriz do cólon distal, dos animais no 14º dia pós-operatório (M2) e 21º dia pós-operatório (M3), não mostraram diferença significante na freqüência de escores nos animais dos grupos controle (A1) e etanol (A2).

5.8. QUANTIFICAÇÃO DE FIBROBLASTOS

O fibroblasto é a célula mais comum no tecido conjuntivo e o principal responsável pela síntese das fibras colágenas e do material intercelular amorfo (JUNQUEIRA & CARNEIRO, 1995).

Os resultados obtidos da contagem de fibroblastos em campo selecionado da cicatriz do cólon distal, nos animais do grupo controle (A1) e grupo etanol (A2) no 7^{o} dia pós-operatório (M1), não mostraram diferenças significantes entre os animais previamente tratados com etanol e controle.

Os resultados obtidos da contagem de fibroblastos em campo selecionado da cicatriz do cólon distal, nos animais do grupo controle (A1) e grupo etanol (A2) no 14^{o} e 21^{o} dia pós-operatório, (M2) e (M3), não mostraram diferenças estatísticas significantes. Neste momento também não se verifica diferença significante na medida de área dos dois grupos.

Os resultados obtidos da contagem de fibroblastos em campo selecionado da cicatriz do cólon distal, nos animais dos grupos controle (A1) e etanol (A2), foram comparados ao longo do tempo, dentro de cada grupo, nos momentos estudados.

No grupo controle (A1), a comparação entre os momentos estudados M1, M2 e M3, não mostrou diferença significante na contagem de fibroblastos.

No grupo etanol (A2), a comparação entre os momentos estudados M1, M2 e M3, não mostrou diferença significante na contagem de fibroblastos.

Contudo podemos observar que no grupo controle (A1), houve uma redução na contagem de fibroblastos entre o 7^{o} e 21^{o} dia pós-operatório em cerca de 9%. No grupo que previamente à cirurgia havido recebido etanol (A2), houve um aumento progressivo na contagem de fibroblastos entre o 7^{o} e 21^{o} dia pós-operatório em cerca de 41,7%. É possível que o aumento observado no grupo etanol (A2) possa ser decorrente de um mecanismo compensatório em atingir a condição adequada no processo de cicatrização, necessário à reconstituição da homeostase tecidual.

5.9. ANÁLISE MORFOMÉTRICA DA ÁREA DA CICATRIZ

Os resultados obtidos da medida de área da cicatriz do cólon distal, nos animais do grupo controle (A1) e grupo etanol (A2) no 7º dia pós-operatório, mostraram valor significantemente maior nos animais do grupo etanol (A2).

No 7º dia pós-operatório a área do grupo controle correspondeu apenas em 40% da área obtida do grupo etanol.

A maior área de cicatriz relatada no 7º dia pós-operatório no grupo etanol (A2), pode ser uma conseqüência de diversos fatores tais como: maior intensidade de fenômenos exsudativos pela ação tóxica do etanol sobre a mucosa e a parede muscular; decréscimo da quantidade de proteínas na parede intestinal, principalmente na fração contrátil (PREEDY et al 1990); interferência do etanol na ação dos miofibroblastos que atuam na contração da cicatriz a partir do 2º dia da lesão e também sobre a matriz colagênica alterando à qualidade do colágeno. Determinar quais destes fenômenos ocorreram e com qual intensidade deve ser objeto de estudos posteriores.

Os resultados obtidos de área da cicatriz do cólon distal, nos animais do grupo controle (A1) e grupo etanol (A2) no 14º e 21º dia pós-operatório não mostraram valores com diferença significante.

Possivelmente nos animais do grupo A2, a suspensão do etanol no período pós-operatório tenha permitido no 14º dia pós-

operatório uma ação dos miofibroblastos possibilitando a contração da cicatriz.

A comparação das médias de área da cicatriz do grupo controle (A1) ao longo do tempo, nos momentos estudados, não apresentou diferença estatística significante. Portanto não ocorreram mudanças acentuadas na área da cicatriz após o 7º dia pós-operatório no grupo controle (A1).

A comparação das médias de área da cicatriz do grupo etanol (A2) ao longo do tempo, nos momentos estudados, apresentou diferença significante, demonstrando que ocorreram mudanças acentuadas na área da cicatriz após o 7º dia pós-operatório no grupo etanol.

6.Conclusões

Considerando-se os resultados obtidos, nas condições experimentais do presente estudo, pode-se concluir que:

1. Animais tratados com etanol tem diminuição da resistência mecânica da parede do cólon distal.

2. Há retardo na evolução da cicatrização do cólon distal em animais tratados com etanol assim caracterizado:

- retardo no ganho de resistência mecânica.
- maior crosta e tecido de granulação da ferida no 7^{o} dia de pós-operatório.
- maior quantidade de colágeno, não caracterizando maior fibroplasia na cicatriz.
- Maior área de reparação cicatricial no 7^{o} dia de pós-operatório.

7. Referências Bibliográficas*

BAILEY, H. R., LAVOO, J.W., MAX, E. **Single-layer polypropylene colorrectal anastomosis**: experience with 100 cases. Dis. Colon Rectum, v. 27, p. 19, 1984.

BARAONA, E., PIROLA, R. C., LIEBER, C. S. Small intestinal damage and changes in cell population produced by ethanol ingestion in the rat. **Gastroentrology**, v. 66, p. 226-34, 1974.

BECK, I.T., DINDA, P. K. Acute exposure of small intestine to ethanol: effects on morphology and function. **Dig. Dis. Sci**., v. 26, p. 817-38, 1981.

BERGMAN, I., LOXLEY, V. The determination of hydroxyproline in urine hidrolysates. **Clin. Chim. Acta**, v.27, p. 347-49, 1970.

BJARNASON, I., PETERS, T.J., WISE, R. J. The leaky gut of alcoholism; possible roule of entry for toxic compounds. **Lancet**, v. 1, n. 8.370, p. 179-82, 1984.

BODE, J. C., HEILDELBACH, R., BODE, C., MANNHEIM, W. DÜRR, H.K., MATINI, G.A. Bacterial microflora in the jejunum of cronic alcoholiecs. In: STOCK, C. SARLES H. (Eds) **Alcohol and the gastrointestinal tract.** Paris: INSRM, 1980.

*UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA. Coordenadoria geral de Bibliotecas. **Normas para publicações da UNESP.** São Paulo: Editora UNESP, 1994. v. 2: Referencias Bibliográficas.
NATIONAL LIBRARY OF MEDICINE. **List of journals indexed in Index Medicus.** Washinton, 1977.
240p.

BOVILL, J.G., CLARKE, R. S. J., DAVIS, E. A., DUNDEE, J.W. Some cardiovascular effects of ketamine in man. **Br. J. Pharmacol.,**v.96,p.283-9, 1971.

BLOMQUIST, P., JIBORN, H., ZEDERFELDT, B. **Effect of diverting colostomy on breaking strength of anastomoses after resection of the left side of the colon:** studies in the rat. **Amer. J. Surg**., v. 149, p. 712-5, 1985.

CHAIB, S.A., LING, W.S., VASCONCELOS, E. Avaliação experimental dos fios na sutura em um só plano. **Rev. Paul. Méd.,** v.8,p. 217, 1972.

COBBOLD, R. S. C. **Transducers for biomedical measurement.** New York: John Willey and Sons, 1974. 486 p.

CORBETT, C. E. Hipnóticos. In: COBERTT, C. E. **Farmacodinâmica.** 6 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1982.

COTRAN, R. S., KUMAR, V., ROBBINS, S. L. **Patologia estrutural e funcional.** 5 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 1996.

CRONIN, K., JACKSON, D. S., DUNPHY, J. E. Changing bursting strength and collagen content of the healing colon. Surg. Gynec. Obstet., v. 126, p. 747-753, 1968.

DEVENEY, K.E., WAY, L.M. Effect of different absorbable sutures on healing of gastrointestinal anastomoses. **Am. J. Surg.**, v.133, p. 86-94, 1977.

DRAPPER, L. R., GYURE, L. A., HALL, J. G. ROBERTSON, D. Effect of alcohol on the integrity of the intestinal epithelium. **Gut**, v. 24, p. 399-404, 1983.

DURDEY, P., BUCKNALL, T.E. Assessment of sutures for use in colonic surgery: an experimental study. **J. R. Soc. Med., v.**77,p. 472, 1984.

EMIC, Equipamentos e Sistemas de Ensaio Ltda., **Manual da linha DL 5000/10.000.** São José dos Pinhais-PR, 2000. p.2-54.

EMIC, Equipamentos e Sistemas de Ensaio Ltda. **Manual de instruções sistema expansor**. São José dos Pinhais-PR, 2000. p.2-44.

EWING, J. A., ROUSE, B. A., PELLIZZARI, E. D. Alcohol sensibility and etinic background. **Am. J. Psychiatry**, v. 131, p. 206-10, 1974.

FARIA, P.A. J. **Sutura gastrointestinal em plano único extramucoso e em dois planos, um total e um seromuscular invaginante**: Estudo experimental no cão. São Paulo, 1972. 106p. Tese (Doutoramento) - Escola Paulista de Medicina.

FERREIRA, J. J., FIGUEIREDO, J. G., SILVA, L. F., CAVALCANTE JUNIOR, B. F., ANDRADE, M. **Anastomose do cólon**: estudo experimental com três tipos de suturas. **Rev. Col. Bras. Cir.,** v.2, p.218-27, 1975.

FORTES, J. R. A., CARDO, W. N. **Alcoolismo:** diagnóstico e tratamento, São Paulo: Sarvier, 1991. 327p.

GIRDWOOD, R. H., DILLING, W. J. **Clinical pharmacology.** 23.ed. London: Bailliere Tindall, 1976.

GOLIGHER, J.C. Use of circular stapling gun peranal insertion of anorectal purse. String suture construction of very lox colorectal or colo-anal anastomoses. **Br. J. Surg.,** v.66,p.501, 1979.

GONÇALVES JUNIOR, I. **Ação do diclofenaco de sódio e/ou imipenem na mucosa intestinal de ratos. Estudo biomecânico e anátomo-patológico.** Botucatu, 2000. 117 p. Dissertação (Mestrado) - Faculdade de Medicina de Botucatu, Universidade Estadual Paulista.

GOTTRUP, F. Healing in incisional wounds in stomach and duodenum: a biomechanical study. **Am. J. Surg.**, v. 140, p. 296-301, 1980.

HABR-GAMA, A., ALUCS, P.R.A., D'ALBUQUERQUE, L.A.C. et al. Sutura mecânica na anastomose coloretal. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE COLOPROCTOLOGIA, 1981, São Paulo. **Anais**... São Paulo: Sociedade Brasileira de Coloproctologia, 1981. p. 31.

HERRMANN, J. B., WOOSWARD, S. C., PULASKI, E. J. Healing of colonic anastomoses in the rat. **Surg. Gynec. Obstet**., v. 119, p. 269-75, 1964.

HESP, F.L.E.M., HENDRIKS, T., LUBBERS, E.J.C., BOER, H.H.M. Wound healing in the intestinal wall. Effects of infection on experimental ileal and colonic anastomoses. **Dis.Colon Rectum**, v.27,p. 462-7, 1984a.

HESP, F.L.E.M., HENDRIKS, T., LUBBERS, E.J.C., BOER, H.H.M. Wound healing in the intestinal wall. A comparison between ileal and colonic anastomoses. **Dis.Colon Rectum**, v.27,p. 99-104, 1984b.

HÖGSTRÖM, H., HAGLUND, U. Postoperative decrease in suture holding capacity in laparotomy wounds and anastomoses. **Acta Chir. Scand**., v. 151, p. 533-5, 1985.

HUNT, T. K., PAI, M. P. The effect of varying ambient oxygen tensions on wound metabolism and collagen synthesis. Surg. Gynec. Obstet., v. 135, p. 561-7, 1972.

JIBORN, H., AHONEN, J., ZEDERFELDT, B. Healing of experimental colonic anastomoses. The effect of suture technic on collagen

concentration in the colonic wall. **Am. J. Surg.,** v.135, p. 333-40, 1978a.

JIBORN, H., AHONEN, J., ZEDERFELDT, B. Healing of experimental colonic anastomoses. I. Bursting strength of the colon after left colon resection and anastomosis. **Am. J. Surg.,** v.136, p. 587-94, 1978b.

JIBORN, H., AHONEN, J., ZEDERFELDT, B. Healing of experimental colonic anastomoses. II. Breaking strength of the colon after left colon resection and anastomosis. **Am. J. Surg.,** v.136, p. 595-99, 1978c.

JÖNSSON, K., JIBORN, H., ZEDERFELDT, B. Healing of ileocolic anastomosis: breaking strength and collagen content in the intestinal wall after ileocolic ressection and anastomosis in the rat. **Acta Chir. Scand.**, v.151, p. 629-33, 1985.

JUNQUEIRA, L. C., CARNEIRO, J. **Histologia Básica.** 8 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 433p., 1995.

KOBAYASI, S. Sutura contínua em plano único, extra-mucosa, sem hemostasia prévia, em gastrojejunoanastomose após gastrectomia no cão. Botucatu, 1978. 55p. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Medicina de Botucatu, Universidade Estadual Paulista.

KOBAYASI, S., MENDES, E. F. Sutura contínua em plano único extra-mucoso, sem hemostasia prévia, em gastrojejunoanastomose no cão. **Rev. Assoc. Méd. Bras**.,v.27,p.55-9 1981.

KOBAYASI, S., MENDES, E. F. Estudo clínico prospectivo entre suturas contínuas, em plano único e em dois planos, em gastrojejunoanastomoses. **Rev. Paul. Med.**, v. 100, p. 11-4, 1982.

LARANJEIRA, R., PINSKY, I. **O alcoolismo.** São Paulo: Contexto, 1998.

LEITE, C. V. S. **Efeito da carência proteica na evolução da cicatrização do cólon distal, no rato:** avaliação da força de ruptura, da hidroxiprolina tecidual e estudo anátomo-patológico. Botucatu, 1991. 189 p. Tese (Doutorado) - Faculdade de Medicina de Botucatu, Universidade Estadual Paulista.

LEHNINGER, A. L. **Princípios de bioquímica.** São Paulo: Sarvier, 1985. 725 p.

LITTER, M. Farmacologia del sistema nervoso central. Depressores: el alcohol. In: —— **Farmacologia**. Buenos Aires: Ateneo, 1980.

LOPES, A. A. **PERITONITE FECAL.** Alterações biomecânicas, bioquímicas e ultraestruturais no íleo terminal e no cólon distal de ratos. Botucatu, 1995. 116 p. Dissertação (Mestrado) - Faculdade de Medicina de Botucatu, Universidade Estadual Paulista.

LORD, M. G., VALIES, P. BROUGHTON, A. C. A morphologic study of the submucosa of the large intestine. **Surg. Gynec. Obstet**., v. 145, p. 55-60, 1977..

MANTOVANI, M., LEONARDI, L. S., ALCÂNTARA, F.G., MEDEIROS, R. R., FAGUNDES, J. J., HADLER, W. A. Estudo comparativo entre

diferentes variedades de sutura em um e dois planos no intestino grosso. **Rev. Assoc. Méd. Bras.,** v**.** 22 p.245-51, 1976.

MARTINEZ-HERNANDES, A. Repair, Regeneration and Fibrosis. In. RUBIN, E., FARBER, J.L. **Pathology**. 2nd ed. Philadelphia: J.B. Lippincott, 1994.

MARTINS, M. S. Anastomose digestiva em um só plano extramucoso com suturas de ácido poliglicólico (P.G. A.). **Rev. Bras. Cir**., v. 67, p. 313-5, 1977.

MARWAY, J. S., BATEMAN, C. J., PREDDY, V. R. The extraction of smooth muscle contractile and noncontractile proteins from the rat small intestine: measurement of protein synthesis and effects of ethanol toxicity. **Anal. Biochem.**, v. 209, p. 95-103, 1993.

MASTBOOM, W. J. B., HENDRIKS, T., BOER, H. H. M. Collagen changes around intestinal anastomoses in germ-free rats. **Brit. J. Surg**., v. 76, p. 797-801, 1989.

MEZEY, E. Intestinal function in chronic alcoholism. **Ann. N. Y. Acad. Sci.**, v. 252, p. 215-27, 1975.

MINOSSI, J.G. **Ação do diclofenaco de sódio na cicatrização de anastomoses realizadas no íleo terminal e cólon distal de ratos.** Botucatu, 1995. 160p. Dissertação (Mestrado) - Faculdade de Medicina de Botucatu, Universidade Estadual Paulista.

MOTT, T. J., ASHBY, E. C., FLANNERY, B. P. The effect of protein deficiency upon peritoneal healing and peritoneal wound contraction in the rat. Br. J. Nutr., v. 23, p. 497-504, 1969.

MUNDAY, C., Mc GINN, F.P. A comparasion of polyglycolic acid and catgut sutures in rat colonic anastomose. **Br. J. Surg.**, v. 63, p.870-72, 1976.

NARESSE, L.E. **Estudo comparativo da cicatrização de anastomose em plano único e em dois planos, no intestino delgado do cão.** Botucatu, 1985. 92p. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Medicina, Universidade Estadual Paulista.

NARESSE, L.E. **Efeito da peritonite fecal na cicatrização do cólon distal no rato:** avaliação anátomo-patológica, estudo da força de ruptura e da hidroxiprolina tecidual. Botucatu, 1990. 109p. Dissertação (Doutorado) - Faculdade de Medicina de Botucatu, Universidade Estadual Paulista.

NELSEN, T.S., ANDERS, C.J. Dynamic aspects of small intestinal rupture with special consideration of anastomotic strenght. **Arch. Surg.**, v.93, p.309-13, 1966.

OVERY, R. D., GODFREY, P. J., EVANS, M. Staples or sutures in the colon? A random controlled trial of tree methods of colonic anastomosis. Br. J. Surg., London, v. 67, p. 363, 1980.

PREDDY, V. R., PETTERS, T. J. Protein synthesis of muscle fractions from the small intestine in alcohol fed rats. **Gut**, v. 31, p. 305-10, 1990.

PETTERS, J. A. Ethanol metabolism. **Br. Med. Bull.**, v. 38, p. 17-20, 1982.

QUILICI, F. A., CORDEIRO, F., FARIA Jr., P. C., REIS NETO, J. A. Mechanical and manual anastomoses of the extraperitoneal rectum. Experimental comparative study in dogs. **ABCD Arq. Bras. Cir. Dig.,** v.5, p. 41-50, 1990.

RESNICK, R., HALLIDAY, D. Fatores de conversão. In: —— **Física** I. Rio de Janeiro: Livros Técnicos e Científicos, 1976 p.366-69.

ROBINSON, G. M., ORREGO, H., ISRAEL, Y., DEVENYI, P., KAPUT, B. M. Low molecular-weight polyethylene glycol a probe of gastrointestinal permeability after alcohol ingestion. **Dig. Dis. Sci.,** v. 26, p. 971-7, 1981.

ROSENBERG, D., FRAZATTO Jr, C., MANTOVANI, M., VIEIRA, I. W., MEDEIROS, R. R. Estudo experimental comparativo entre as suturas em plano único, total, extramucoso e de eversão. **Rev. Paul. Med**., v.81, p.5-12, 1973a.

ROSENBERG, D., NASSER, A, REGEN, J.B., BEHMER, O. A. **Suturas intestinais**: estudo comparativo entre a sutura clássica em dois planos e a sutura extramucosa num plano único com emprego de

um novo fio absorvível, o ácido poliglicólico. **Rev. Ass. Méd. Bras.,** v.19, p. 249-58, 1973b.

ROSENBERG, D., NASSER, A, REGEN, J.B., BEHMER, O. A. Estudo comparativo entre o fio de algodão e um novo fio absorvível, sintético, o ácido poliglicólico, em suturas intestinais num só plano extramucoso. **Rev. Paul. Med**., v.81, p.201-14, 1973c.

SALVI, J. A. **Alterações biomecânicas da parede intestinal em ratos submetidos a ingestão de etanol:** Estudo da força de ruptura e alterações histopatológicas. Botucatu, 1999. 111p. Dissertação (Mestrado) - Faculdade de Medicina de Botucatu, Universidade Estadual Paulista.

SEITZ, H. K., CZYGAN, P., KIENAPFEL, H., VEITH, S., SCHMIDT-GAYK, H., KOMMERELL, B. **Changes in gastrointestinal DNA synthesis produced by acute and chronic ethanol consumption in the rat:** a biochemical study. **Z. Gastroenterol**., v. 21, p. 79-84, 1983.

SINGER, A. J., CLARK, R. A. F. Cutaneous Wound Healing. **The New England Journal of Medicine**., v. 10, p. 738-46, 1999.

STROMBERG, B. V., KLEIN, L. Collagen formation during the healing of colonic anastomoses. **Dis. Colon Rect**., v. 25, p. 301-4, 1982.

TEMPLETON, J.L., McKELVEY, S.T.D. Low colorectal anastomosis – an experimental assessment of two sutured and two stapled techiniques. **Dis. Colon Rectum,** v. 28: 38-41, 1985.

UDÉN, P., BLOMQUIST, P., JIBORN, H., ZEDERFELDT, B. Influence of proximal colostomy on the healing of a left cólon anastomosis an experimental study in the rat. **Br. J. Surg**., v.75, p.325-9,1988.

UDUPA, K. N., WOESSNER, J. F., DUNPHY, J. E. The effect of methionine on the production of mucopolysaccharides and collagen in healing wounds of protein-depleted animal. **Surg. Gynec. Obstet**., v. 102, p. 639-645, 1956.

VERDERESSE, L. R. M. **A influência do diclofenaco de sódio na peritonite bacteriana, tratada com lavagem da cavidade peritoneal e gentamicina. Estudo da translocação bacteriana.** Botucatu, 1999. 130p. Tese (Doutorado) – Faculdade de medicina de Botucatu, Universidade Estadual Paulista.

ZUCOLOTO, S., ROSSI, M. A. Effect of cronic ethanol consuption on mucosal morphology and mitotic index in the rat small intestine. **Digestion**, v. 19, p. 277-83, 1979.

ZUCOLOTO, S., MUCCILO. G., WRIGHT, N. A., ALISON, M. R. Chronic effects of alcohol on the epithelium of the small intestine using two experimental models. **Virchows Arch. B. Cell Pathol. Incl. Mol. Pathol.**, v. 49, p. 365-73, 1985.

WARDE, P. J., CUTAIT, D. E**. Anastomose colo-retal experimental em um e dois planos de sutura:** estudo comparativo. **Rev. Col. Bras. Cir.**,v. 3, p. 95-102, 1976.

WINTERS, H., FERRER-ALLADO,T., GUZMAN-FLORES, C. The cataleptic state induced by ketamine: a review of the neuropharmacology of anesthesia. **Neuropharmacology,** v.11,p. 303-15, 1972.

WORLD, M. J., RYLE, P. R., THOMSON, A. D. Alcoholic malnutrition and small intestine. **Alcohol.**, v. 20, p. 89-124, 1985.

8. Anexos

TABELA 15 - Valores individuais dos pesos (g) dos ratos do grupo controle não operados (A1M0), peso inicial e após 60 dias (na data do sacrifício).

RATO Nº	PESO INICIAL	SACRIFÍCIO
1	220	400
2	230	410
3	220	370
4	220	395
5	220	420
6	230	415
7	230	380
8	230	370
9	220	360
10	220	385
11	230	390
12	220	410
MÉDIA	224,16	392,08
DESV PAD	5,14	19,59

TABELA 16 - Valores individuais dos pesos (g) dos ratos do grupo etanol não operados (A2M0), peso inicial e após 60 dias (na data do sacrifício).

RATO Nº	PESO INICIAL	SACRIFÍCIO
1	230	370
2	230	315
3	240	320
4	240	300
5	220	275
6	230	290
7	250	370
8	240	225
9	230	330
10	230	320
11	230	310
12	220	300
MÉDIA	232,5	310,4
DESV PAD	8,66	39,16

TABELA 17 - Valores individuais dos pesos (g) dos ratos do grupo controle (A1M1), 60 dias antes da cirurgia, na data da cirurgia e ao sacrifício no 7º dia pós-operatório.

RATO Nº	60 DIAS ANTES DA CIRURGIA	CIRURGIA	SACRIFÍCIO 7 P O
1	160	200	210
2	170	200	200
3	190	270	290
4	160	210	230
5	170	220	250
6	170	230	230
7	190	260	210
8	180	220	230
9	190	230	230
10	160	220	220
11	190	240	220
12	180	210	300
MÉDIA	175,8	227	237
DESV. PADRÃO	12,40	19,28	26,34

TABELA 18 - Valores individuais dos pesos (g) dos ratos do grupo etanol (A2M1), 60 dias antes da cirurgia, na data da cirurgia e ao sacrifício no 7º dia pós-operatório.

RATO Nº	60 DIAS ANTES DA CIRURGIA	CIRURGIA	SACRIFÍCIO 7 P O
1	170	170	190
2	190	260	220
3	170	300	300
4	190	210	220
5	170	180	200
6	160	250	250
7	180	200	220
8	190	300	300
9	180	220	240
10	190	320	320
11	170	230	240
12	170	250	260
MÉDIA	177,5	240,8	246,6
DESV. PADRÃO	10.55	48,32	41,41

TABELA 19 - Valores individuais dos pesos (g) dos ratos do grupo controle (A1M2), 60 dias antes da cirurgia, na data da cirurgia e ao sacrifício no 14º dia pós-operatório.

RATO Nº	60 DIAS ANTES DA CIRURGIA	CIRURGIA	SACRIFÍCIO 14 P O
1	180	300	300
2	170	270	300
3	190	330	340
4	190	280	320
5	180	300	330
6	170	290	300
7	190	250	300
8	170	260	300
9	190	320	350
10	190	280	300
11	180	280	260
12	170	270	300
MÉDIA	180,8	285,8	308,3
DESV. PADRÃO	9,00	23,53	23,67

TABELA 20 - Valores individuais dos pesos (g) dos ratos do grupo etanol (A2M2), 60 dias antes da cirurgia, na data da cirurgia e ao sacrifício no 14º dia pós-operatório.

RATO Nº	60 DIAS ANTES DA CIRURGIA	CIRURGIA	SACRIFÍCIO 14 P O
1	190	270	280
2	170	270	300
3	180	180	200
4	170	200	250
5	180	270	290
6	190	310	310
7	190	240	280
8	190	240	270
9	190	240	270
10	200	220	270
11	170	220	250
12	190	270	310
MÉDIA	184,2	244,2	273,3
DESV. PADRÃO	9,96	36,04	30,55

TABELA 21 - Valores individuais dos pesos (g) dos ratos do grupo controle (A1M3), 60 dias antes da cirurgia, na data da cirurgia e ao sacrifício no 21º dia pós-operatório.

RATO Nº	60 DIAS ANTES DA CIRURGIA	CIRURGIA	SACRIFÍCIO 21 P O
1	160	240	270
2	170	300	350
3	160	230	290
4	160	230	300
5	170	270	310
6	170	230	300
7	170	310	350
8	170	260	300
9	160	260	330
10	160	220	260
11	170	300	380
12	160	300	
MÉDIA	165	262,5	312,7
DESV. PADRÃO	5,22	33,06	36,35

TABELA 22 - Valores individuais dos pesos (g) dos ratos do grupo etanol (A2M3), 60 dias antes da cirurgia, na data da cirurgia e ao sacrifício no 21º dia pós-operatório.

RATO Nº	60 DIAS ANTES DA CIRURGIA	CIRURGIA	SACRIFÍCIO 21 P O
1	160	190	260
2	160	280	340
3	170	280	320
4	170	200	320
5	160	230	330
6	170	260	330
7	160	260	310
8	170	250	300
9	170	250	320
10	170	270	400
11	160	180	270
12	180	180	280
MÉDIA	166,7	235,8	315
DESV. PADRÃO	6,51	38,48	36,80

TABELA 23 - Valores da força de ruptura (gf) no cólon, do grupo controle, nos quatro momentos estudados. C.P. = corpo de prova (cólon do rato); M0 = ratos não operados; M1 = ratos operados e sacrifício no 7º dia pós operatório; M2 = ratos operados e sacrifício no 14º dia pós operatório; M3 = ratos operados e sacrifício no 21º dia pós operatório.

CP	M0	M1	M2	M3
CP 1	692,0	230,7	486,3	435,6
CP 2	707,7	254,7	612,5	498,9
CP 3	533,5	209,4	525,2	388,6
CP 4	1.314,0	268,2	296,2	479,3
CP 5	807,9	156,8	312,1	545,6
CP 6	823,0	296,7	493,5	468,1
CP 7	838,7	507,8	224,2	456,0
CP 8	841,5	270,4	468,1	432,5
CP 9	335,4	202,1	432	343,2
CP 10	879,0	238,2	475,6	484,9
CP 11	902,6	183,6	300,1	404,5
CP 12	706,2	257,5	499,4	
Média	781,7	256,4	427,1	448,8
Desv.Padrão	67,23	88.70	116,3	56,31

TABELA 24 - Valores da força de ruptura (gf) no cólon, do grupo etanol, nos quatro momentos estudados. C.P. = corpo de prova (cólon do rato); M0 = ratos não operados; M1 = ratos operados e sacrifício no 7º dia pós operatório; M2 = ratos operados e sacrifício no 14º dia pós operatório; M3 = ratos operados e sacrifício no 21º dia pós operatório.

CP	MO	M1	M2	M3
CP 1	529,9	227,0	411,2	339,6
CP 2	479,0	274,9	492,7	345,5
CP 3	628,2	257,8	327,3	544,5
CP 4	669,6	267,6	362,5	470,3
CP 5	993,0	272,4	355,5	443,2
CP 6	695,7	312,4	341,3	391,1
CP 7	491,0	343,5	255,3	362,5
CP 8	661,8	289,2	307,9	430,3
CP 9	444,6	303,2	389,4	456,9
CP 10	841,0	226,2	285,3	612,0
CP 11	675,2	196,2	278,0	500,5
CP 12	721,3	292,3	367,6	457,2
Média	652,5	271,9	347,8	446,1
Desv.Padrão	45,56	41,02	65,24	81,31

TABELA 25 - Distribuição da crosta por escores (0 a +++), em 05 ratos do grupo controle no 7º dia pós operatório (A1M1). Onde N= número da lâmina (correspondente a uma peça cirúrgica), P O = pós-operatório.

7º P O N	Escores
2201/98	+
2202/98	+
2203/98	+
2204/98	++
2205/98	+

TABELA 26 - Distribuição da crosta por escores (0 a +++), em 05 ratos do grupo etanol no 7º dia pós operatório (A2M1). Onde N = número da lâmina (correspondente a uma peça cirúrgica), P O = pós-operatório.

7º P O N	Escores
2176/98	+++
2177/98	++
2178/98	+++
2179/98	+++
2180/98	+++

TABELA 27 - Distribuição da crosta por escores (0 a +++), em 05 ratos do grupo controle no 14º dia pós operatório (A1M2). Onde N = número da lâmina (correspondente a uma peça cirúrgica), P O = pós-operatório.

14º P O N	Escores
2196/98	+
2197/98	0
2198/98	+
2199/98	0
2200/98	+

TABELA 28 - Distribuição da crosta por escores (0 a +++), em 05 ratos do grupo etanol no 14º dia pós operatório (A2M2). Onde N = número da lâmina (correspondente a uma peça cirúrgica), P O = pós-operatório.

14º P O N	Escores
2191/98	+
2192/98	+
2193/98	+
2194/98	+
2195/98	+

TABELA 29 - Distribuição da crosta por escores (0 a +++), em 05 ratos do grupo controle no 21º dia pós operatório (A1M3). Onde N = número da lâmina (correspondente a uma peça cirúrgica), P O = pós-operatório.

21º P O N	Escores
2186/98	+
2187/98	++
2188/98	+
2189/98	+
2190/98	+

TABELA 30 - Distribuição da crosta por escores (0 a +++), em 05 ratos do grupo etanol no 21º dia pós operatório (A2M3).
Onde N = número da lâmina (correspondente a uma peça cirúrgica), P O = pós-operatório.

21º P O N	Escores
2181/98	+
2182/98	+
2183/98	+
2184/98	+
2185/98	+

TABELA 31 - Regeneração epitelial no grupo controle no 7º dia pós-operatório (A1M1). Onde N = número da lâmina (correspondente a uma peça cirúrgica), P O = pós-operatório.

Momento	Regeneração epitelial	
	Parcial	Completa
	N	N
7º P O	2201/98	
	2202/98	
	2203/98	
		2204/98
	2205/98	

TABELA 32 - Regeneração epitelial no grupo etanol no 7º dia pós-operatório (A2M1). Onde N = número da lâmina (correspondente a uma peça cirúrgica), P O = pós-operatório.

Momento	Regeneração epitelial	
	Parcial	Completa
	N	N
7º P O	2176/98	
	2177/98	
	2178/98	
	2179/98	
	2180/98	

TABELA 33 - Regeneração epitelial no grupo controle no 14º dia pós-operatório (A1M2). Onde N = número da lâmina (correspondente a uma peça cirúrgica), P O = pós-operatório.

Momento	Regeneração epitelial	
	Parcial	Completa
	N	N
	2196/98	
		2197/98
14º P O	2198/98	
		2199/98
	2200/98	

TABELA 34 - Regeneração epitelial no grupo etanol no 14º dia pós-operatório (A2M2). Onde N = número da lâmina (correspondente a uma peça cirúrgica), P O = pós-operatório.

Momento	Regeneração epitelial	
	Parcial	Completa
	N	N
	2191/98	
		2192/98
14º P O	2193/98	
	2194/98	
	2195/98	

TABELA 35 - Regeneração epitelial no grupo controle no 21º dia pós-operatório (A1M3). Onde N = número da lâmina

(correspondente a uma peça cirúrgica), P O = pós-operatório.

Momento	Regeneração epitelial	
	Parcial	Completa
	N	N
	2186/98	
	2187/98	
21º P O	2188/98	
	2189/98	
	2190/98	

TABELA 36 - Regeneração epitelial no grupo etanol no 21º dia pós-operatório (A2M3). Onde N = número da lâmina (correspondente a uma peça cirúrgica), P O = pós-operatório.

Momento	Regeneração epitelial	
	Parcial	Completa
	N	N
	2181/98	
	2182/98	
21º P O	2183/98	
	2184/98	
	2185/98	

TABELA 37 - Distribuição do tecido de granulação por escores (+ a +++), em 05 ratos do grupo controle no 7º dia pós operatório (A1M1). Onde N = número da lâmina (correspondente a uma peça cirúrgica), P O = pós-operatório.

7º P O N	Escores
2201/98	++
2202/98	++
2203/98	++
2204/98	+++
2205/98	++

TABELA 38 - Distribuição do tecido de granulação por escores (+ a +++), em 05 ratos do grupo etanol no 7º dia pós operatório (A2M1). Onde N = número da lâmina (correspondente a uma peça cirúrgica), P O = pós-operatório.

7º P O N	Escores
2176/98	+++
2177/98	+++
2178/98	+++
2179/98	+++
2180/98	+++

TABELA 39 - Distribuição do tecido de granulação por escores (+ a +++), em 05 ratos do grupo controle no 14º dia pós operatório (A1M2). Onde N = número da lâmina (correspondente a uma peça cirúrgica), P O = pós-operatório.

14º P O N	Escores
2196/98	+
2197/98	+
2198/98	+++
2199/98	+
2200/98	++

TABELA 40 - Distribuição do tecido de granulação por escores (+ a +++), em 05 ratos do grupo etanol no 14º dia pós operatório (A2M2). Onde N = número da lâmina (correspondente a uma peça cirúrgica), P O = pós-operatório.

14º P O N	Escores
2191/98	+
2192/98	++
2193/98	++
2194/98	+
2195/98	++

TABELA 41 - Distribuição do tecido de granulação por escores (+ a +++), em 05 ratos do grupo controle no 21º dia pós operatório (A1M3). Onde N = número da lâmina (correspondente a uma peça cirúrgica), P O = pós-operatório.

21º P O N	Escores
2186/98	+
2187/98	++
2188/98	++
2189/98	+
2190/98	++

TABELA 42 - Distribuição do tecido de granulação por escores (+ a +++), em 05 ratos do grupo etanol no 21º dia pós operatório (A2M3). Onde N = número da lâmina (correspondente a uma peça cirúrgica), P O = pós-operatório.

21º P O N	Escores
2181/98	+
2182/98	+
2183/98	+
2184/98	+
2185/98	+

TABELA 43 - Distribuição do colágeno por escores (+ a +++), em 05 ratos do grupo controle no 7º dia pós operatório (A1M1). Onde N = número da lâmina (correspondente a uma peça cirúrgica), P O = pós-operatório.

7º P O N	Escores
2201/98	++
2202/98	+++
2203/98	++
2204/98	++
2205/98	++

TABELA 44 - Distribuição do colágeno por escores (+ a +++), em 05 ratos do grupo etanol no 7º dia pós operatório (A2M1). Onde N = número da lâmina (correspondente a uma peça cirúrgica), P O = pós-operatório.

7º P O N	Escores
2176/98	+++
2177/98	+++
2178/98	+++
2179/98	+++
2180/98	+++

TABELA 45 - Distribuição do colágeno por escores (+ a +++), em 05 ratos do grupo controle no 14º dia pós operatório (A1M2). Onde N = número da lâmina (correspondente a uma peça cirúrgica), P O = pós-operatório.

14º P O N	Escores
2196/98	+
2197/98	+
2198/98	+++
2199/98	+
2200/98	++

TABELA 46 - Distribuição do colágeno por escores (+ a +++), em 05 ratos do grupo etanol no 14º dia pós operatório (A2M2). Onde N = número da lâmina (correspondente a uma peça cirúrgica), P O = pós-operatório.

14º P O N	Escores
2191/98	+
2192/98	+++
2193/98	++
2194/98	+
2195/98	++

TABELA 47 - Distribuição do colágeno por escores (+ a +++), em 05 ratos do grupo controle no 21º dia pós operatório (A1M3). Onde N = número da lâmina (correspondente a uma peça cirúrgica), P O = pós-operatório.

21º P O N	Escores
2186/98	+
2187/98	++
2188/98	++
2189/98	+
2190/98	+++

TABELA 48 - Distribuição do colágeno por escores (+ a +++), em 05 ratos do grupo etanol no 21º dia pós operatório (A2M3). Onde N = número da lâmina (correspondente a uma peça cirúrgica), P O = pós-operatório.

21º P O N	Escores
2181/98	++
2182/98	+
2183/98	++
2184/98	+
2185/98	++

TABELA 49 - Contagem de Fibroblastos por campo, no grupo controle, no 7º dia pós-operatório (A1M1). Onde N = número da lâmina (correspondente a uma peça cirúrgica), P O = pós – operatório, n = número de fibroblastos no campo selecionado.

7º P O N	n
2201/98	180
2202/98	116
2203/98	205
2204/98	142
2205/98	79

TABELA 50 - Contagem de Fibroblastos por campo, no grupo etanol, no 7º dia pós-operatório (A2M1). Onde N = número da lâmina (correspondente a uma peça cirúrgica), P O = pós – operatório, n = número de fibroblastos no campo selecionado.

7º P O N	N
2180/98	110
2179/98	68
2178/98	179
2177/98	64
2176/98	106

TABELA 51 - Contagem de Fibroblastos por campo, no grupo controle, no 14º dia pós-operatório (A1M2). Onde N = número da lâmina (correspondente a uma peça cirúrgica), P O = pós–operatório, n= número de fibroblastos no campo selecionado.

14º P O N	n
2196/98	157
2197/98	72
2198/98	85
2199/98	124
2200/98	91

TABELA 52 - Contagem de Fibroblastos por campo, no grupo etanol, no 14º dia pós-operatório (A2M2). Onde N = número da lâmina (correspondente a uma peça cirúrgica), P O = pós – operatório, n = número de fibroblastos no campo selecionado.

14º P O N	n
2191/98	208
2192/98	107
2193/98	63
2194/98	178
2195/98	166

TABELA 53 - Contagem de Fibroblastos por campo, no grupo controle, no 21º dia pós-operatório (A1M3). Onde N = número da lâmina (correspondente a uma peça cirúrgica), P O = pós–operatório, n = número de fibroblastos no campo selecionado.

21º P O N	n
2190/98	121
2189/98	186
2188/98	147
2187/98	60
2186/98	142

TABELA 54 - Contagem de Fibroblastos por campo, no grupo etanol, no 21º dia pós-operatório (A2M3). Onde N = número da lâmina (correspondente a uma peça cirúrgica), P O = pós – operatório, n = número de fibroblastos no campo selecionado.

21º P O N	N
2181/98	138
2182/98	104
2183/98	233
2184/98	126
2185/98	146

TABELA 55 - Medidas de área da cicatriz, em mm^2, no grupo controle, no 7^o dia pós-operatório (A1M1). Onde N = número da lâmina (correspondente a uma peça cirúrgica), P O = pós–operatório, m = medidas de área em mm^2.

7^o P O N	**m**
2201/98	5,80
2202/98	3,70
2203/98	3,25
2204/98	2,16
2205/98	4,01

TABELA 56 - Medidas de área da cicatriz, em mm^2, no grupo etanol, no 7^o dia pós-operatório (A2M1). Onde N = número da lâmina (correspondente a uma peça cirúrgica), P O = pós–operatório, m = medidas de área em mm^2.

7^o P O N	**M**
2176/98	8,62
2177/98	6,05
2178/98	9,81
2179/98	14,48
2180/98	8,19

TABELA 57 - Medidas de área da cicatriz, em mm^2, no grupo controle, no 14^o dia pós-operatório (A1M2). Onde N = número da lâmina (correspondente a uma peça cirúrgica), P O = pós–operatório, m = medidas de área em mm^2.

14^o P O N	**m**
2196/98	2,03
2197/98	0,78
2198/98	3,50
2199/98	3,19
2200/98	4,15

TABELA 58 - Medidas de área da cicatriz, em mm^2, no grupo etanol, no 14^o dia pós-operatório (A2M2). Onde N = número da lâmina (correspondente a uma peça cirúrgica), P O = pós – operatório, m = medidas de área em mm^2.

14^o P O N	**m**
2191/98	2,21
2192/98	3,66
2193/98	4,96
2194/98	1,38
2195/98	2,91

TABELA 59 - Medidas de área da cicatriz, em mm^2, no grupo controle, no 21^o dia pós-operatório (A1M3). Onde N = número da lâmina (correspondente a uma peça cirúrgica), P O = pós–operatório, m = medidas de área em mm^2.

21^o P O N	**m**
2186/98	1,64
2187/98	6,93
2188/98	2,06
2189/98	1,86
2190/98	2,99

TABELA 60 - Medidas de área da cicatriz, em mm^2, no grupo etanol, no 21^o dia pós-operatório (A2M3). Onde N = número da lâmina (correspondente a uma peça cirúrgica), P O = pós – operatório, m = medidas de área em mm^2.

21^o P O N	**m**
2181/98	1,66
2182/98	1,69
2183/98	3,39
2184/98	1,93
2185/98	3,92

9. Resumo

Este trabalho investigou o processo de reparação de uma ferida cirúrgica do cólon distal de ratos tratados com etanol. Foi utilizado o estudo da força de ruptura, avaliação histológica, quantificação de fibroblastos e análise morfométrica da área da cicatriz. Foram utilizados 126 ratos distribuídos por sorteio em 02 grupos: Grupo A1-controle e Grupo A2-etanol.

Os animais do grupo A1 receberam ração e água “ad libitum” por 60 dias, após este período 12 animais foram sacrificados e submetidos ao estudo da força de ruptura. Os demais foram operados e submetidos a uma anastomose do cólon distal e estudados no 7^{o}, 14^{o} e 21^{o} dias pós-operatório.

Os animais do grupo A2 receberam ração e solução hidroalcoólica a 30% por 60 dias. Após este período foram submetidos ao mesmo procedimento do grupo controle; receberam ração e água no período pós-operatório, até o final do experimento.

Verificou-se que a força de ruptura do segmento intestinal estudado foi menor em animais não operados tratados com etanol (A2M0) e, também foi menor nos animais tratados com etanol, operados e estudados no 14^{o} dia pós-operatório (A2M2) quando comparados ao controle.

A análise morfométrica da área da cicatriz demonstrou valores significantemente maiores nos animais tratados com etanol e estudados no 7^{o} dia pós-operatório (A2M1) quando comparados ao controle.

A crosta da ferida, o tecido de granulação e o colágeno apresentaram valores significantemente maiores nos animais tratados com etanol e estudados no 7º dia pós-operatório (A2M1) quando comparados ao controle.

Com base neste estudo experimental, evidenciou-se que o tratamento com etanol apresentou efeito deletério na cicatrização do cólon distal no rato com diminuição na força de ruptura e alteração na quantidade de crosta, no tecido de granulação, no colágeno, como também na área da cicatriz que se apresentou maior nos animais tratados com etanol; estas alterações evidenciaram um retardo no processo de cicatrização.

10. Summary

This study investigated the healing process of a distal colon surgical wound in rats treated with ethanol. The rupture strength, histological evaluation, fibroblast quantification and morphometric analysis of the healing tissue were performed. One hundred and twenty-six rats were randomized into 2 groups: Group A1 – control group and Group A2 – ethanol group.

Group A1 animals received food and water *ad libidum* for 60 days, after this period, 12 animals were sacrificed and underwent an evaluation of rupture strength. The remaining rats were operated and underwent distal colon anastomosis and were evaluated on the 7^{th} /14^{th} and 21^{st} postoperative days.

Group A2 animals received food and hydroalcoholic solution at 30% for 60 days. After this period they underwent the same procedure used for the control group. In the postoperative period they received food and water until the end of the investigation.

It was observed that the rupture strength of the studied intestinal segment was lower in the animals which were not operated and treated with ethanol (A2T0). This strength was also lower in the animals which were operated and treated with ethanol evaluated on the 14^{th} postoperative day (A2T2), when compared to the control group.

Morphometric analysis of the wound showed significantly higher values in the ethanol treated animals evaluated on the 7th postoperative day (A2T1), when compared to the control group.

The wound crust, the granulation tissue and the collagen had significantly higher values in the animals treated with ethanol and evaluated on 7th postoperative day (A2T1), when compared to control animals.

Based on this experimental study, (it was observed) the treatment with ethanol had an adverse effect on distal colon healing in rats, decreasing the rupture strength and some changes on the amount of the crust, the granulation tissue, the collagen, as well as in the healing area which was larger in the animals treated with ethanol, showing a delay in the healing process.