

Andréa de Almeida Peduti Batista

EFEITOS DO PARECOXIBE NO INTESTINO DELGADO E CÓLON DE RATO

ANÁLISE MORFOLÓGICA E DA FORÇA DE RUPTURA

*Dissertação apresentada ao Programa de
Pós-Graduação em “Bases Gerais da
Cirurgia”, da Faculdade de Medicina de
Botucatu – UNESP, para obtenção do
Título de Mestre.*

**BOTUCATU
2006**

Andréa de Almeida Peduti Batista

EFEITOS DO PARECOXIBE NO INTESTINO DELGADO E CÓLON DE RATO

ANÁLISE MORFOLÓGICA E DA FORÇA DE RUPTURA

*Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação
em “Bases Gerais da Cirurgia”, da Faculdade de Medicina
de Botucatu – UNESP, para obtenção do Título de Mestre.*

Orientador: Prof. Dr. Luis Eduardo Naresse

Co-orientador: Prof. Dr. Oswaldo Melo da Rocha

**BOTUCATU
2006**

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉCNICA DE AQUISIÇÃO E TRATAMENTO
DA INFORMAÇÃO
DIVISÃO TÉCNICA DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - CAMPUS DE BOTUCATU - UNESP
BIBLIOTECÁRIA RESPONSÁVEL: SELMA MARIA DE JESUS

Batista, Andréa de Almeida Peduti.

Efeitos do parecoxibe no intestino delgado e cólon de rato: análise morfológica e da força de ruptura / Andréa de Almeida Peduti Batista. – 2006.

Dissertação (mestrado) – Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Medicina de Botucatu, 2006.

Orientador: Luis Eduardo Naresse

Co-orientador: Oswaldo Melo da Rocha

Assunto CAPES: 40101118

1. Gastroenterologia - Cirurgia
2. Intestino delgado - Inflamação
3. Intestino grosso - Inflamação

CDD 617.55

Palavras-chave: Anatomopatológico; Antiinflamatório não esteróide; Cólon; Intestino delgado; Força de ruptura; Parecoxibe

Dedicatória



Ao meu amor, Rodrigo, que assim como no juramento: “na saúde e na doença, na alegria e na tristeza, em todos os dias de nossas vidas”, está ao meu lado com muito carinho, atenção e paciência.

Ao meu querido filho, Gabriel, que por tantas vezes ficou sem a minha companhia durante as etapas deste desafio. Fonte de alegria nos momentos difíceis.

Aos meus pais, a quem devo minha formação pessoal e profissional – meu alicerce, minha vida. Pelo incentivo diário e amor. Obrigada por tudo...

Ao Vô Batista e à Vó Lurdinha, pela dedicação e apoio incondicionais desde os meus primeiros dias em Botucatu – nossos queridos avós.

A todos os meus familiares, especialmente aos meus irmãos Marcelo e Patrícia, minha querida Vó Isaura, ao meu sogro Emílio e minha sogra Sandra, que me acompanham e torcem por mim.

Agradecimientos

Ao meu orientador, Prof. Dr. Luiz Eduardo Naresse, pela dedicação, paciência, competência e ensinamentos de todas as etapas do desenvolvimento desta pesquisa e elaboração da dissertação, com bom humor e simpatia ímpares.

Ao meu co-orientador e mestre, Prof. Dr. Oswaldo Melo da Rocha, pelos ensinamentos, orientações, e pelo incentivo à realização da pós-graduação, desde minha chegada a esta instituição.

Agradeço a todos que, direta ou indiretamente, me ajudaram na elaboração deste trabalho, em especial:

Às pessoas que tenho admiração, pela competência e profissionalismo, que com seus ensinamentos durante as aulas da pós-graduação, mostraram-me os caminhos da pesquisa: Prof. Dr. César Tadeu Spadella, Prof. Dr. Shoit Kobayasi, Prof. Dr. William Saad Hossne, Prof. Dr. Viciany Erique Fabris, Prof. Dr. Celso Vieira de Souza Leite, Prof. Dr. Sérgio Swain Muller, e a todos os outros professores que ministraram brilhantes aulas.

À Prof. Dra. Maria Ap. Marchesan Rodrigues Kobayasi pelas orientações histopatológicas e aos funcionários do Laboratório de Patologia da Faculdade de Medicina de Botucatu – UNESP, em especial o Sr. Paulo Roberto Cardoso, pela preparação do material para o estudo histopatológico.

À Prof. Dra. Walcy R. Teodoro, professora do Departamento de Reumatologia da USP -SP e ao Prof. Dr. Edwin do Departamento de Patologia da USP-SP, pela análise morfológica, de grande valor para a conclusão do trabalho.

Ao Prof. Dr. Walmar Kerche de Oliveira, chefe do Pronto Socorro da FMB – UNESP e à Dra. Renata pela compreensão e ajuda nos momentos finais da elaboração desta dissertação.

Aos meus colegas, amigos e companheiros de trabalho – equipe do Pronto Socorro da UNESP, pelo apoio e incentivo.

À bióloga Maria Cecília Salgado Mercadante pelo grande auxílio na execução e manejo da parte experimental desta pesquisa.

A todos os funcionários do Laboratório de Técnica Cirúrgica e Cirurgia Experimental, em especial ao Sr. Luiz Carlos Bardella e ao Sr. Danilo Chaguri, pelo relevante serviço nos procedimentos experimentais e manejo dos animais.

À Sra. Simone Barroso Corvino Camargo, funcionária da Pós-Graduação da Cirurgia e do Departamento de Cirurgia pela atenção aos pós-graduandos e ao Sr. Carlos Eduardo Borgatto pela ajuda na formatação da dissertação.

Aos funcionários da Seção de Pós-Graduação da Faculdade de Medicina de Botucatu – UNESP, pelas orientações e amizade: Janete Aparecida Herculano Nunes Silva, Nathanael Pinheiro Sales e Regina Célia Spadin.

A Sra. Selma, da equipe de apoio – periódicos da biblioteca da Faculdade de Medicina de Botucatu, pela elaboração da ficha catalográfica.

Ao Sr. Felipe Augusto Calani Minhone pelo auxílio na análise estatística e elaboração de gráficos estatísticos.

À Prof. Assist. Dra. Angelina Batista, docente do Departamento de Educação do Instituto de Biociências de Botucatu – UNESP, pelo auxílio na revisão ortográfica final do texto.

Epígrafe



O valor das coisas não está no tempo que elas duram, mas na intensidade com que acontecem. Por isso existem momentos inesquecíveis, coisas inexplicáveis e pessoas incomparáveis.

(Fernando Pessoa)

Resumo



O presente trabalho teve como objetivo investigar os efeitos do parecoxibe, um antiinflamatório inibidor específico da COX-2, no intestino delgado e cólon do rato, pela medida da força de ruptura e avaliação morfológica intestinal. Foram utilizados 52 ratos distribuídos aleatoriamente, em um grupo controle constituído de 27 ratos que receberam solução fisiológica a 0,9% por via intramuscular (IM), na pata traseira direita em dose única diária por 4 dias; e em um grupo tratado, constituído por 24 ratos que receberam parecoxibe, na dose de 0,66 mg/ Kg de peso corpóreo, por via IM, na pata traseira direita, em dose única diária durante 4 dias. Todos os ratos foram sacrificados no 7º dia após início das injeções. No sacrifício foram retirados segmentos de intestino delgado e cólon de ± 2 cm de extensão, para análise da força de ruptura e estudo microscópico. Os animais do grupo controle não apresentaram alterações no intestino delgado e cólon. Os fragmentos de cólon dos ratos tratados com parecoxibe tiveram a força de ruptura diminuída quando comparados com os do grupo controle. Na avaliação morfológica, o cólon dos ratos tratados com parecoxibe, mostrava-se com diminuição do número de glândulas caliciformes e com maior atividade mitótica do epitélio glandular. Assim, nas condições desse estudo experimental, concluímos que o parecoxibe diminui a força de ruptura e altera a morfologia do cólon.

Palavras-chaves: Anatomopatológico; Antiinflamatório não esteróide; Cólon; Intestino delgado; Força de ruptura; Parecoxibe.

Abstract



Histological and mechanical alterations induced by parecoxib, a COX – 2 specific inhibitor non steroidal antiinflammatory, were studied. Fifty two rats were randomly assigned to 2 experimental groups: the first group with 27 rats, treated with saline 0,9% administrated IM for 4 days; the second group with 24 rats, treated with parecoxib, in a dose of 0,66 mg/kg of body weight IM for 4 days. All rats were sacrificed on day 7 of the follow-up. In the sacrifice day, segments of small intestine and colon were used to analyse breaking strength and histology. There were no histological and mechanical alterations in the first group. Colon segments from the rats treated with parecoxib had less breaking strength compared with control group. On histological evaluation, colon of rats from the second group showed less caliciform glands and bigger mitotic activity in glandular epithelium. We conclude that parecoxib decrease breaking strength and causes histological alterations in colon.

Keywords: breaking strength, colon, histology, non steroidal antiinflammatory, Parecoxib, small intestine.

Sumário



RESUMO

ABSTRACT

1. INTRODUÇÃO	02
2. OBJETIVO.....	09
3. MÉTODO.....	11
1. Animais de experimentação.....	11
2. Ambiente de experimentação	11
3. Droga utilizada.....	11
4. Delineamento experimental.....	13
5. Etapas do delineamento experimental.....	15
5.1 Observação clínica dos animais.....	16
5.2 Anestesia.....	16
5.3 Laparotomia e avaliação da cavidade abdominal.....	16
5.4 Coleta do material.....	17
5.5 Sacrifício.....	17
5.6 Processamento do material.....	18
5.6.1 Força de ruptura.....	18
5.6.2 Análise morfológica descritiva.....	20
5.7 Ética animal.....	21
5.8 Análise estatística.....	21
4. RESULTADOS	23
1. Observação clínica	23
2. Avaliação macroscópica	23
3. Força de ruptura.....	24
4. Análise morfológica descritiva.....	29
5. DISCUSSÃO	35
1. Quanto à metodologia.....	35
1.1 Animal de experimentação.....	35
1.2 Antiinflamatórios não esteróides.....	36
1.3 Força de ruptura.....	38
2. Quanto aos resultados.....	40
6. CONCLUSÕES.....	48
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	50

1. Introdução

INTRODUÇÃO

Há muito tempo a inflamação é uma das preocupações do homem. Na época dos egípcios utilizavam extratos de casca de salgueiro para tratar inflamação; mais tarde descobriu-se que o princípio ativo que tinha ação antiinflamatória e também antitérmica, era a salicilina (Vane, 1971). No entanto, esta substância em sua forma pura só foi isolada em 1829 por Leroux. Iniciava-se assim, o emprego da aspirina com atividades antiinflamatórias, antitérmica e analgésica.

Seguiram-se a ela vários outros fármacos, não corticóides, denominados antiinflamatórios não esteróides (AINEs). A indometacina foi introduzida no mercado em 1966, e na década de 70, o diclofenaco tornou-se o antiinflamatório não esteroidal mais prescrito. Os AINEs, são em geral, os fármacos mais freqüentemente prescritos para tratamento de dor (aguda ou crônica) e inflamação em todo o mundo (Mysler, 2004).

A inflamação é uma reação orgânica que envolve vários mediadores primários, dentre eles, histamina e bradicinina produzindo os três principais sinais da inflamação aguda, que são: vasodilatação, aumento da permeabilidade vascular às proteínas plasmáticas e a dor. As prostaglandinas contribuem para modulação da ação desses mediadores primários, ativação dos receptores que causam ativação da adenilciclase, resultando em conversão intracelular de ATP em AMP cíclico, e ainda, agem como reguladores extracelulares da função celular (Lewis, 1977).

As prostaglandinas foram descritas e caracterizadas por Von Euler em 1935, e foram assim chamadas, pois se acreditava serem originadas do sêmem humano. Bergström e colaboradores extraíram prostaglandinas de tecidos e fluidos corporais e caracterizaram melhor sua molécula como estrutura similar ao ácido

prostanóico de 20 carbonos, derivado de ácidos graxos que formam parte da estrutura da membrana celular (Ferreira et al., 1971).

A produção das prostaglandinas depende da liberação do ácido araquidônico dos fosfolípedes da membrana celular, que os libera após uma agressão ou distorção da mesma, pela enzima acetil hidrolase fosfolipase A₂, seguido da peroxidação dos cabonos C11, C15 e fechamento do anel entre C8 e C12. Esse processo é catalisado pela cicloxigenase (COX) para formação dos endoperóxidos instáveis, que são prostaglandinas PGG₂ e PGH₂, e subseqüentes prostaglandinas (PGE₂, PGF₂ α e PGD₂), tromboxanos (TXA₂ e TXB₂) e prostaciclina (PGX e metabólito 6 keto F1 α). Por outra via, por meio da lipoxigenase, o ácido araquidônico se transforma em hiperóxidos, os quais são metabolizados em leucotrienos (Lewis, 1977; Vane, 1987; Aucker, 1995; Vane, 1996; Marnett et al., 1999; Crofford et al., 2000; Souza et al., 2000; Fitzgerald & Patrono, 2001).

As prostaglandinas são produzidas em processos fisiológicos do organismo, como por exemplo: na proteção gástrica, na homeostase renal e na ação antitrombogênica; como também em ações patológicas produzindo elementos pró-inflamatórios (IL-1, TNF- α e outros), que, dessa forma, propiciam o desenvolvimento e manutenção do edema, da dor, da quimiotaxia celular e da agressão tecidual (Vainio & Morgan, 1997; Beehrle & Evan, 1999).

No trato gastrointestinal, as prostaglandinas atuam no esôfago causando a manutenção do tônus do esfíncter inferior; no estômago são inibidoras da secreção ácida e de pepsina e possuem efeito citoprotetor pelo maior estímulo à produção de muco e bicarbonato; nos intestinos delgado e cólon, aumentam a contratilidade e bloqueiam o transporte de sódio, cloro e água e, em geral, as prostaglandinas,

influenciam o fluxo sanguíneo, o *turnover* e reparo das células do epitélio e a função imunológica da mucosa (Lewis, 1977; Wallace, 1997; Beehrle & Evan, 1999).

Nos rins, as prostaglandinas têm efeito de vasodilatação e aumento do fluxo sanguíneo para esse órgão, e aumento da excreção de sódio, cloro e potássio. A PGE2 causa uma vasodilatação renal em contrapartida a uma vasoconstrição local e, ainda, atuam sobre o sistema renina-angiotensina (Souza et al., 2000). Quanto à agregação plaquetária, as prostaglandinas a diminuem, mas o que realmente ocorre é um equilíbrio fisiológico entre prostaglandinas, prostaciclina e tromboxanos (Leese et al., 2002).

As prostaglandinas apresentam ações importantes no sistema reprodutor; como participação na ovulação; na motilidade tubária; na contração uterina e na dismenorréia (Sirois & Richards, 1992). São também encontradas no fluido cérebro espinhal durante episódio de febre. Sabe-se, ainda, que estão presentes nos diversos sistemas do nosso organismo.

Desde 1971, graças a Vane (1971), descobriu-se que o principal mecanismo de ação dos antiinflamatórios não esteróides (AINEs) está ligado à capacidade destas substâncias inibirem as prostaglandinas ao bloquear o sítio ativo da cicloxigenase, explicando as ações terapêuticas dos AINES ao impedir a formação de prostaglandina, principalmente a PGE2, que é importante mediador das doenças inflamatórias. Outros produtos da ação da cicloxigenase que são detectados nas lesões inflamatórias, como: PGF2 α , PGD2, prostaciclina e TXA2 e TXB2; estão presentes em quantidade menor que 25% da concentração da PGE2 (Vane, 1987).

Grande avanço para o melhor entendimento das prostaglandinas e fisiopatologia do processo inflamatório deu-se no início da década de 90 com a

identificação das isoformas da COX. A cicloxigenase é efetivamente constituída por duas isoformas com características químicas e funções diferentes e bem definidas, a cicloxigenase um (COX-1) e a cicloxigenase dois (COX-2). Além de 17 aminoácidos a mais na porção amino-terminal, há uma isoleucina na posição 523 da COX-1 que torna a estrutura tridimensional diferente da COX-2 (Sirois & Richards, 1992; Davies & Skjodt, 2000; Graham, 2002).

A COX-1, considerada constitutiva, está presente na maioria dos tecidos; é também responsável por importantes atividades fisiológicas do organismo, como já citadas anteriormente, na proteção gástrica, na homeostase renal e, junto às plaquetas, é anti trombogênica e previne hemorragia (Ferreira et al., 1971; Whittle et al., 1980; Funk et al., 1991; Wallace, 1997; Fitzgerald & Patrono, 2001).

A COX-2 é uma enzima induzida por estímulos inflamatórios em diversas células como sinoviócitos, macrófagos, monócitos, fibroblastos, células endoteliais e outras. Está intimamente ligada à produção de elementos pró-inflamatórios como interleucina um (IL-1), fator de necrose tumoral alfa (TNF- α) e outros (Lipsky et al., 2000; Simon, 2001). Experimentalmente, a COX-2 é também expressa em resposta a um estímulo mitogênico e, mais recentemente, postula-se a existência da COX-3 como variante da COX-1 (Constantino, 2005).

O perfil de seletividade dos AINEs, para uma ou outra isoforma da cicloxigenase, foi definido pela concentração inibitória a 50% (IC₅₀), ou seja, a concentração necessária da droga para inibir 50% da produção de PGE₂. Dessa maneira, criou-se um índice em que o IC₅₀ de COX-2 e COX-1 são divididos um pelo outro e, assim, permitindo uma proposta alternativa de classificação dos AINEs: COX-1 preferencial, COX-1 e COX-2 inespecíficos, COX-2 preferencial e COX-2 específico.

Os AINEs são fármacos largamente empregados em todo mundo e, muitas vezes, sem a devida prescrição médica, observando-se elevada frequência de efeitos gástricos adversos e, até mesmo, complicações como hemorragia e perfuração, provavelmente como decorrência do bloqueio da COX-1. Em pacientes cirúrgicos têm sido também empregados, notadamente, com finalidade analgésica.

Sendo o processo inflamatório parte integrante da cicatrização da ferida cirúrgica, os AINEs poderiam constituir-se em moduladores positivos da resposta biológica, pois diminuindo a fase inflamatória poderiam acelerar o processo de cicatrização.

Nessa linha, vários trabalhos experimentais, inclusive em nosso meio, foram desenvolvidos com objetivo de avaliar o processo cicatricial na vigência do diclofenaco de sódio, tendo em vista a grande atividade antiinflamatória desse fármaco associado ao fato de também ser um dos mais utilizados em investigações clínicas e experimentais (Verderese, 1995; Minossi, 1996, 1998; Gonçalves Jr, 2000).

Nesses trabalhos, foi observado um número maior de deiscências intestinais, com peritonite e óbito de animais. A força de ruptura dos segmentos intestinais nos animais previamente tratados mostrava redução significativa desta quando comparada àquela dos que não receberam o diclofenaco. Na alça íntegra, a força de ruptura já mostrava também redução significativa desses valores em relação à amostra controle (Verderese, 1995; Minossi, 1996, 1998; Gonçalves Jr, 2000).

Em outras investigações experimentais realizadas em nosso meio para avaliar o processo cicatricial de anastomoses intestinais, tais como peritonite e desnutrição, utilizando a força de ruptura, foi encontrada também, uma correlação

positiva entre a diminuição da força de ruptura nos segmentos intestinais íntegros dos animais tratados, com o aumento do número de deiscências intestinais. (Naresse et al., 1993; Leite et al., 1993; Minossi, 1994).

A introdução no mercado farmacêutico de AINEs inibidores específicos da COX-2 mostraram que estas possuem o IC_{50} COX-2 muito menor que o IC_{50} da COX-1, elegendo-a como droga ideal, com menor risco de eventos adversos gastrointestinais e com a mesma capacidade de controlar a dor e a inflamação (Mysler, 2004).

No entanto, dados relativos a sua ação em anastomoses intestinais não são ainda disponíveis. Como a linha de pesquisa de nosso grupo tem procurado conhecer melhor os fatores moduladores da cicatrização intestinal, julgamos oportuno investigar inicialmente os efeitos deste fármaco na parede intestinal sem anastomose, para posterior efeito comparativo de sua repercussão na cicatrização intestinal.

2. Objetivo

OBJETIVO

O presente trabalho foi desenvolvido para investigar os efeitos do parecoxibe, antiinflamatório não esteróide (AINE) inibidor específico da COX-2, no intestino delgado e cólon do rato, por meio da força de ruptura e avaliação morfológica intestinal.

3. Método

MÉTODO

1 – Animais de experimentação

Foram utilizados 52 ratos *Rattus norvegicus*, da linhagem Wistar, com peso inicial médio de 180 gramas, provenientes do Biotério Central do Campus de Botucatu, da Universidade Estadual Paulista.

2 – Ambiente de experimentação

Os animais foram mantidos no Biotério do Laboratório de Técnica Cirúrgica e Cirurgia Experimental por um período de sete dias para adaptação às condições locais. Foram alojados em gaiolas de poliuretano, em número de 6 ratos por gaiola, recebendo ração comercial* e água a vontade, e mantidos em sala fechada, ar condicionado com temperatura ambiente de 22 graus centígrados e período de luz artificial de 12 horas.

3 – Droga utilizada

A substância utilizada nesse experimento foi o parecoxibe sódico**, identificado quimicamente como um sal sódico (N-[[4-95-metil-3fenil-4-isoxazolil]fenil]sulfonil]propanamida), com fórmula empírica $C_{19}H_{17}N_2NaO_4S$, e fórmula estrutural apresentada na **figura 01**.

*Ração comercial (Labina®) - Purina

**Parecoxibe sódico (Bextra®) - Pharmacia Pfizer

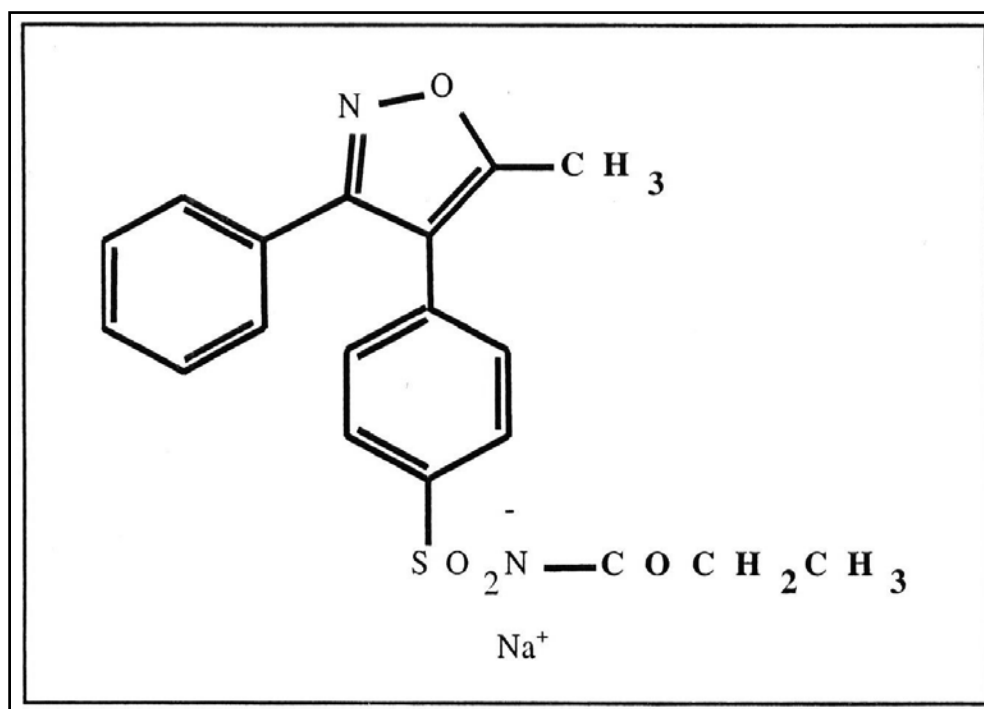


Figura 01 - Fórmula estrutural do parecoxibe.

4 – Delineamento experimental

Após o período de adaptação, os animais foram aleatoriamente sorteados em 2 grupos experimentais, denominados grupo tratado e grupo controle.

Grupo tratado

Constituído por 25 ratos que receberam parecoxibe por via intramuscular (IM), na dose de 0,66 mg/ Kg de peso corpóreo. A droga foi inicialmente diluída em soro fisiológico para composição da solução, e o volume de cada dose foi de 0,5ml, aplicado na pata traseira direita, no mesmo horário, por 4 dias consecutivos e em dose única diária.

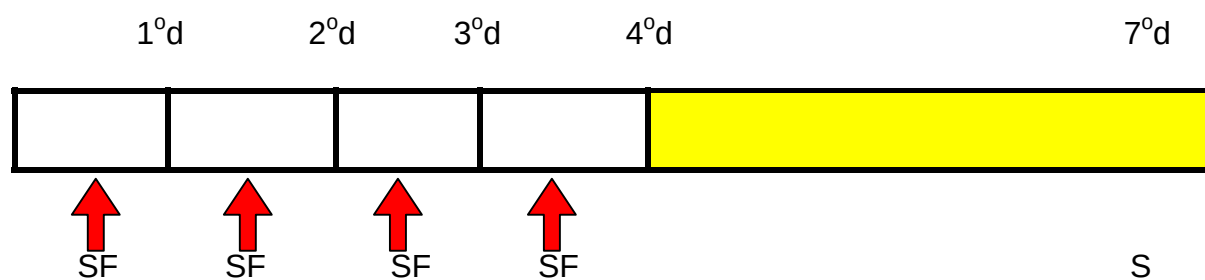
Grupo controle

Constituído por 27 ratos que receberam solução salina (soro fisiológico 0,9%) por via intramuscular (IM), num volume de 0,5 ml, por 4 dias consecutivos, em dose única diária e aplicados na pata traseira direita.

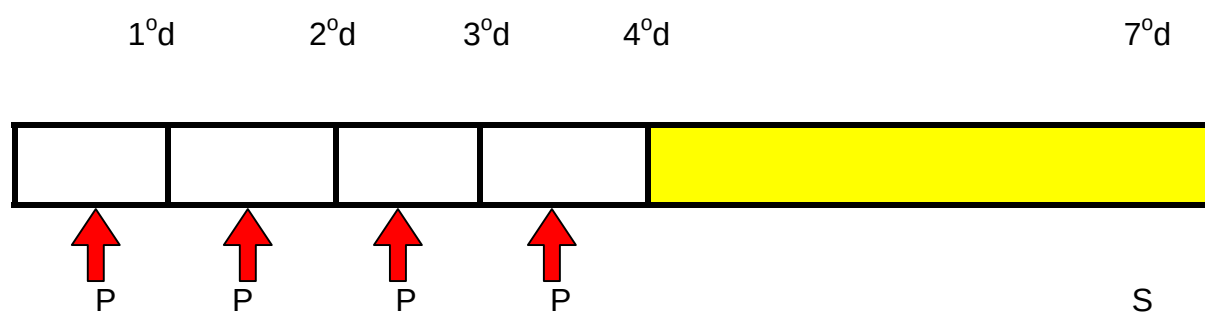
Os dois grupos experimentais tiveram todos os animais sacrificados no sétimo dia após início das injeções intramusculares de soro fisiológico e parecoxibe. No momento do sacrifício foram avaliadas as características macroscópicas dos órgãos e cavidade abdominal, a força de ruptura do delgado e cólon e, ainda, análise morfológica do delgado e cólon.

O delineamento experimental encontra-se esquematizado na **figura 02**.

Grupo controle



Grupo tratado



S: sacrifício

d: dia

SF: soro fisiológico

P: parecoxibe

Figura 2 - Delineamento experimental.

5 – Etapas do delineamento experimental

5.1 - Observação clínica dos animais

5.2 - Anestesia

5.3 - Laparotomia e avaliação da cavidade abdominal

5.4 - Coleta do material

5.5 - Sacrifício

5.6 - Processamento do material

5.6.1 – Força de ruptura

5.6.2 – Análise morfológica descritiva

5.7 - Ética animal

5.8 - Análise estatística

5.1 – Observação clínica dos animais:

Os animais foram observados quanto à ingestão alimentar e hídrica; quanto ao comportamento durante o experimento; quanto ao local de injeção do soro fisiológico e do parecoxibe; e quanto à ocorrência de óbito.

5.2 – Anestesia:

Para a anestesia dos animais foi utilizado o pentobarbital sódico* na dosagem de 30 mg/kg de peso corporal, ou seja, 1 ml/Kg de peso, por meio de injeção intraperitoneal. Os animais foram considerados anestesiados quando apresentaram respiração regular, superficial e flacidez da musculatura esquelética com desaparecimento dos reflexos. Nesse momento, foram retirados da caixa de poliuretano e levados à mesa cirúrgica.

5.3 – Laparotomia e avaliação da cavidade abdominal:

Depois de atingido o plano anestésico, foi realizada tricotomia da região abdominal e abertura do abdome por laparotomia mediana ampla, a partir do processo xifóide, para análise das condições da cavidade abdominal, em especial gânglios do mesentério, secreções abdominais e/ou perfurações, e para coleta do material a ser utilizado.

*Pentobarbital sódico (Hypnol 3%®) – Cristália Produtos Químicos Farmacêuticos Ltda.

5.4 – Coleta do material:

Pela abertura abdominal realizada por laparotomia, retiramos um segmento de intestino delgado de ± 2 cm de extensão, localizado a 5 cm da válvula íleo-cecal, e outro segmento do cólon de ± 2 cm de extensão, localizado a ± 2 cm da deflexão peritoneal para análise da força de ruptura. Cada segmento foi lavado com soro fisiológico para limpeza do conteúdo fecal. O restante do trato digestivo foi aberto pela borda mesenterial e estendida pela face serosa sobre placa de isopor, para análise macroscópica da superfície mucosa, após limpeza local com a solução salina.

Os segmentos intestinais retirados de 24 ratos do grupo controle e de 22 ratos do grupo tratado foram mergulhados em um recipiente contendo soro fisiológico com temperatura de 37°C e cloridrato de papaverina na concentração de 250 mg/l durante 30 minutos em banho-maria e, a seguir, submetidos à medida da força de ruptura. Os fragmentos dos 3 ratos restantes do grupo controle e dos 3 ratos do grupo tratado foram colocados em recipientes individuais com solução de formoldeído a 10% para fixação, e posterior análise histopatológica.

5.5 – Sacrifício:

Após coletar o material, cada rato foi sacrificado com dose letal de anestésico.

5.6 – Processamento do material:

5.6.1 – Força de ruptura

Para o estudo da força de ruptura foi utilizada máquina universal de ensaios biomecânicos – EMIC*, modelo DL 10.000. **(Figura 03)** A máquina é apurada dentro das especificações das normas da Associação Brasileira de Normas Técnicas, e a aferição é realizada periodicamente pelo fabricante.

Está acoplada a um microcomputador com programa M Test versão 1.00. Este programa permite a realização de ensaios segundo método pré-definido pelo próprio usuário, que escolhe parâmetros e unidades. Neste estudo utilizou-se uma velocidade de aplicação da carga de 30mm/min.

Os segmentos intestinais foram fixados por garras paralelas, deixando-se um espaço de 0,5 cm entre elas, englobando uniformemente as amostras, dispensando o uso de papel filtro entre os dentes das garras e o tecido intestinal. Esse conjunto foi colocado entre o transdutor de força e o sistema de tração do aparelho previamente calibrado e ajustado, para um peso padrão de 5Kg **(Figura 04)**.

*EMIC – Equipamentos e Sistemas de Ensaio Ltda. (Curitiba – PR)



Figura 03 – Máquina universal de ensaios biomecânicos - EMIC, modelo DL 10.000.

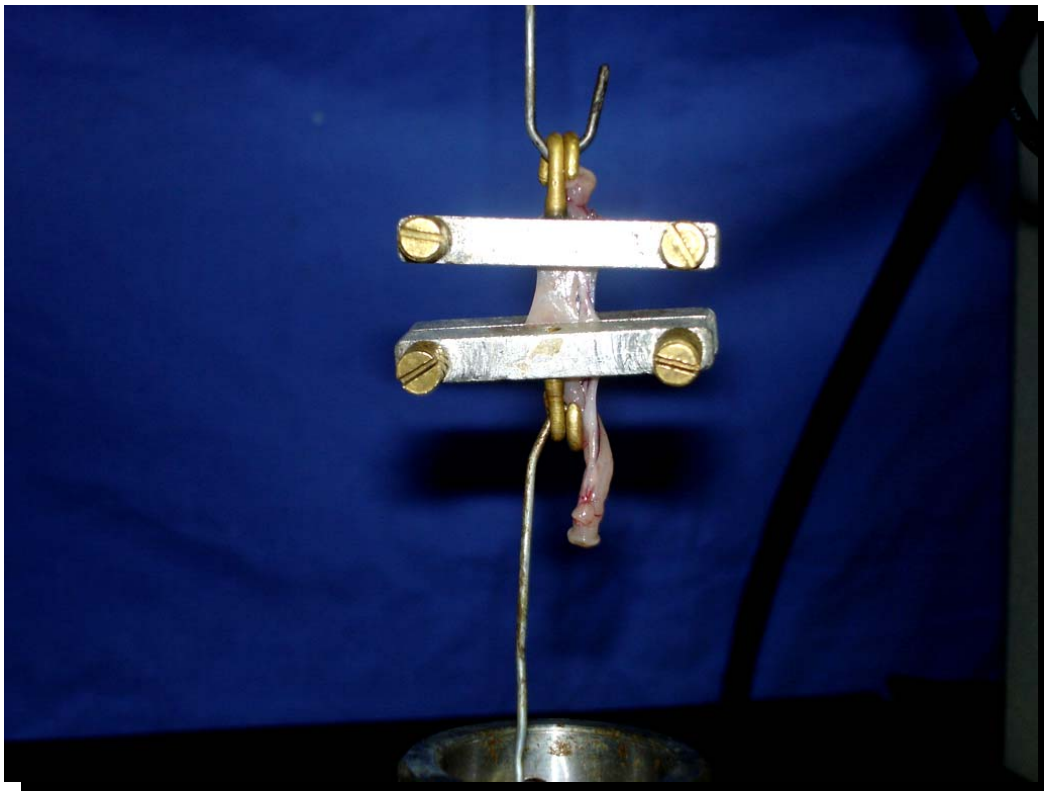


Figura 04 – Garras com segmento intestinal posicionado para tração.

5.6.2 – Análise morfológica descritiva

A análise morfológica foi realizada por meio de estudo histopatológico. Dessa forma, a partir dos segmentos de intestino delgado e cólon de 3 ratos do grupo controle e de 3 ratos do grupo tratado, fixados em formoldeido 10% e incluídos em parafina, foram realizados cortes de 4 a 5 micras de espessura, com confecção de 3 lâminas coradas pela hematoxilina e eosina e 3 lâminas coradas pelo tricrômico de Masson. A análise foi realizada em microscópio óptico, com aumentos de 100, 200 e 400 vezes.

5.7 – Ética animal:

Este protocolo de pesquisa foi aprovado pela Comissão de ética em experimentação animal da Faculdade de Medicina de Botucatu – UNESP (Processo nº 290).

5.8 – Análise estatística:

Foi estabelecida a média dos valores da força de ruptura do intestino delgado e, também, do cólon nos grupos tratado e controle, para aplicação da análise estatística. O teste estatístico usado foi o Test t para comparação da média de duas populações (Soares, 1999). O nível de significância adotado em todos os testes foi de 5% ($p < 0,05$).

4. Resultados

RESULTADOS

1 – Observação clínica:

Durante o experimento, os ratos dos dois grupos não apresentaram diminuição da ingesta alimentar e hídrica. Em geral, ganharam peso durante o período do experimento. Quanto ao comportamento, ficavam agitados e com os pêlos eriçados apenas por alguns minutos após a aplicação injetável da droga e do soro fisiológico. Houve apenas um óbito no grupo tratado com parecoxibe, dez minutos após a injeção intramuscular da droga, no terceiro dia de aplicação, sem causa aparente.

2 – Avaliação Macroscópica:

No momento do sacrifício, ao serem avaliadas as características macroscópicas dos órgãos e da cavidade abdominal dos ratos dos dois grupos após laparotomia, não encontramos qualquer alteração. Os órgãos abdominais mostravam-se com disposição habitual, sem sinais de peritonite, bloqueios e abscessos. Também não observamos lesões ulceradas nas mucosas do intestino delgado e cólon, quando abertos pela borda mesenterial e estendida pela face serosa sobre placa de isopor.

3 – Força de ruptura:

Os resultados da força de ruptura dos segmentos de intestino delgado dos grupos tratado e controle (**Tabela 01**), quando analisados estatisticamente, não mostram diferença significativa, com $p > 0.05$ / valor 0.0512 (**Tabela 02 e Figura 05**).

Nos valores da força de ruptura dos segmentos de cólon dos animais dos grupos tratado e controle (**Tabela 03**), a análise estatística revelou diminuição significativa dos valores nos animais do grupo tratado, com $p < 0.05$ / valor 0.0194 (**Tabela 04 e Figura 06**).

Tabela 01 – Valores de força de ruptura, em gramas-força (gf), dos segmentos de intestino delgado dos animais dos grupos controle e tratado, com média ($\bar{x}$) e desvio padrão (s).

<u>Rato</u>	<u>Grupo Controle</u> <u>Força de ruptura</u> <u>delgado</u>	<u>Rato</u>	<u>Grupo Tratado</u> <u>Força de ruptura</u> <u>delgado</u>
25	206,60	121	147,30
26	85,10	122	173,30
27	196,80	123	211,10
28	168,50	124	237,40
29	90,14	126	166,00
30	124,00	127	125,10
31	109,50	128	70,83
32	155,10	129	237,70
33	163,50	130	107,80
34	127,70	150	130,80
35	136,60	151	226,40
36	117,60	152	139,00
37	120,10	153	265,30
38	119,50	154	40,97
39	141,40	155	189,80
40	187,00	156	112,00
41	114,50	157	196,70
42	111,40	158	108,60
43	75,03	159	188,50
44	175,20	160	231,50
45	135,80	161	179,30
46	93,22		
136	147,50		
137	184,00		
$\bar{x}$	136,90		165,97
s	36,43		59,41

Tabela 02 – Análise estatística dos valores da força de ruptura do intestino delgado dos animais dos grupos controle e tratado.

	<i>Grupo controle</i>	<i>Grupo Tratado</i>
Mínimo	75,03	40,97
1º Quartil	136,07	155,30
Mediana	152,05	163,30
3º Quartil	168,02	171,30
Máximo	206,6	265,3

$p > 0,05$ (0,0512)

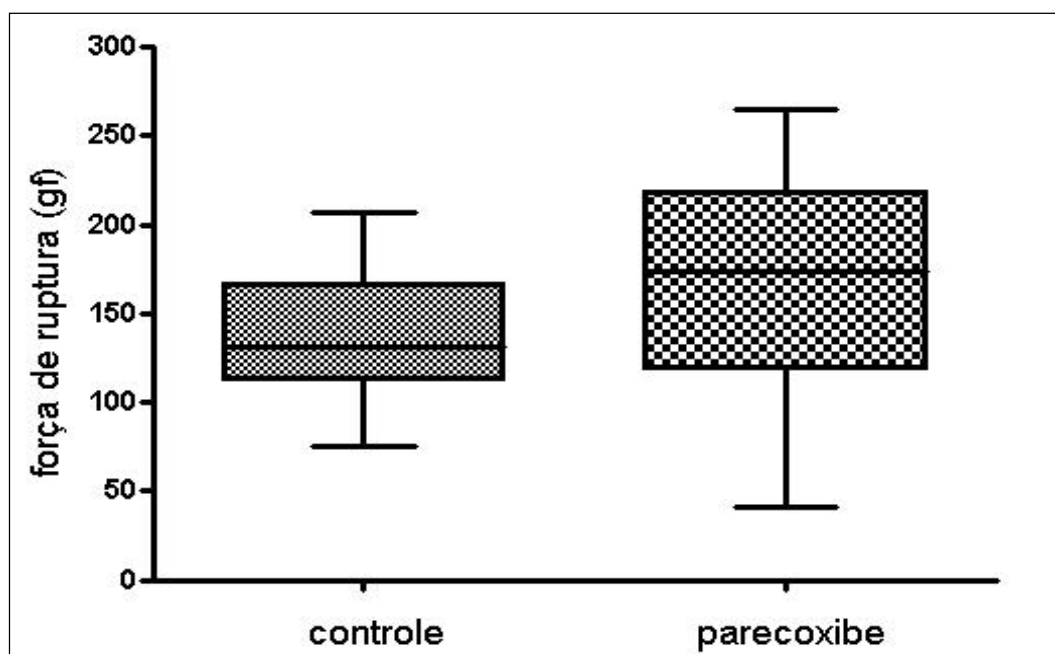


Figura 05 – Distribuição gráfica e análise estatística dos valores de força de ruptura (gf) dos segmentos de intestino delgado dos animais dos grupos controle e tratado.

Tabela 03 – Valores de força de ruptura, em gramas-força (gf), dos segmentos de cólon dos animais dos grupos controle e tratado, com média ($\bar{x}$) e desvio padrão (s).

<u>Rato</u>	<u>Grupo Controle</u> <u>Força de ruptura</u> <u>cólon</u>	<u>Rato</u>	<u>Grupo Tratado</u> <u>Força de ruptura</u> <u>cólon</u>
25	374,80	121	353,60
26	566,00	122	395,60
27	625,10	123	529,70
28	269,90	124	416,30
29	561,80	126	525,50
30	503,60	127	380,40
31	503,60	128	549,80
32	421,60	129	486,00
33	207,70	130	311,90
34	442,30	150	553,80
35	511,50	151	227,70
36	321,90	152	97,65
37	617,80	153	312,80
38	401,70	154	370,10
39	369,50	155	354,40
40	577,50	156	146,80
41	366,70	157	271,40
42	215,80	158	193,90
43	343,20	159	266,30
44	434,50	160	505,70
45	458,30	161	153,30
46	791,70		
136	591,00		
137	415,20		
$\bar{x}$	453,86		352,50
s	139,00		140,35

Tabela 04 – Análise estatística dos valores da força de ruptura do cólon dos animais dos grupos controle e tratado.

	<i>Grupo controle</i>	<i>Grupo Tratado</i>
Mínimo	207,70	97,65
1º Quartil	368,10	247,00
Mediana	438,40	354,40
3º Quartil	563,90	495,90
Máximo	791,70	553,80

$p < 0,05$ (0,0194)

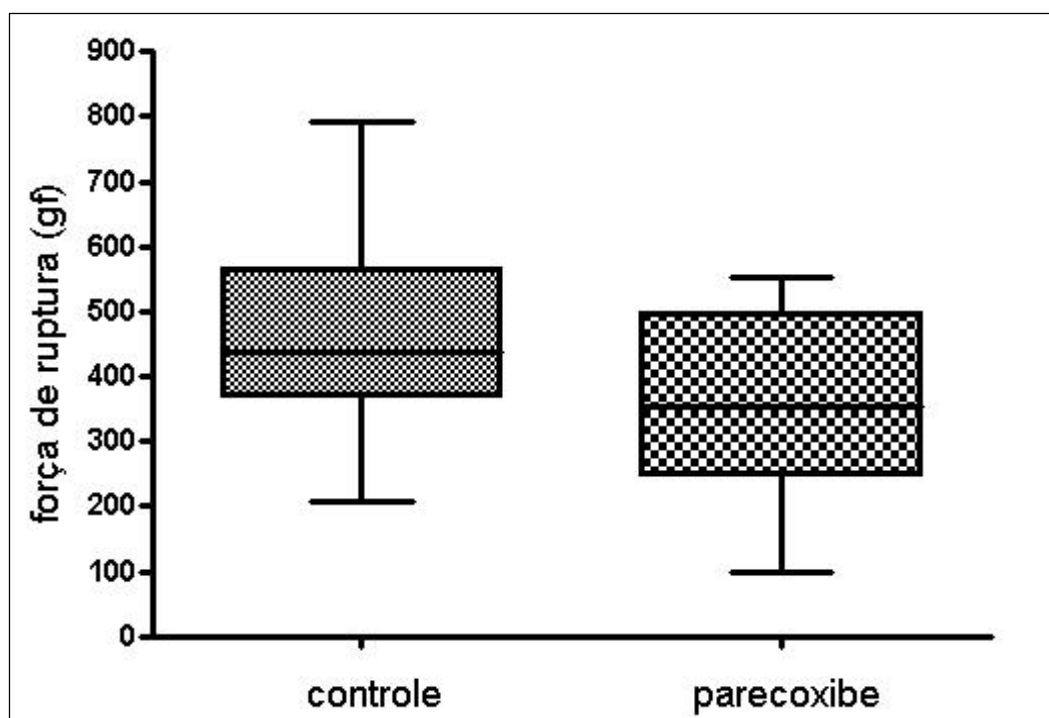


Figura 06 – Distribuição gráfica e análise estatística dos valores de força de ruptura (gf) dos segmentos de cólon dos animais dos grupos controle e tratado.

4 – Análise morfológica descritiva:

A avaliação histológica das lâminas de intestino delgado dos animais do grupo tratado, quando comparada às lâminas dos animais do grupo controle, coradas pela técnica de hematoxilina e eosina, apresentou vilosidades e células caliciformes de aspecto normal, assim como a disposição das fibras da camada muscular. Quanto aos plexos nervosos mostraram-se em número e disposição normais, tanto na camada submucosa como na muscular (**Figura 07**).

Da mesma forma, as lâminas dos animais do grupo tratado, quando coradas pelo tricrômico de Masson não apresentaram mudanças na distribuição do tecido conjuntivo quando comparadas às dos animais do grupo controle (**Figura 08**).

Por outro lado, as lâminas de cólon dos animais do grupo tratado, coradas pela hematoxilina e eosina apresentaram diminuição do número de glândulas caliciformes e a presença de maior atividade mitótica do epitélio glandular, quando comparadas às lâminas dos animais do grupo controle (**Figura 09**).

A avaliação das lâminas de cólon dos animais do grupo tratado, coradas pela técnica de tricrômico de Masson mostrou distribuição normal do tecido conjuntivo quando comparada com as lâminas do grupo controle (**Figura 10**).

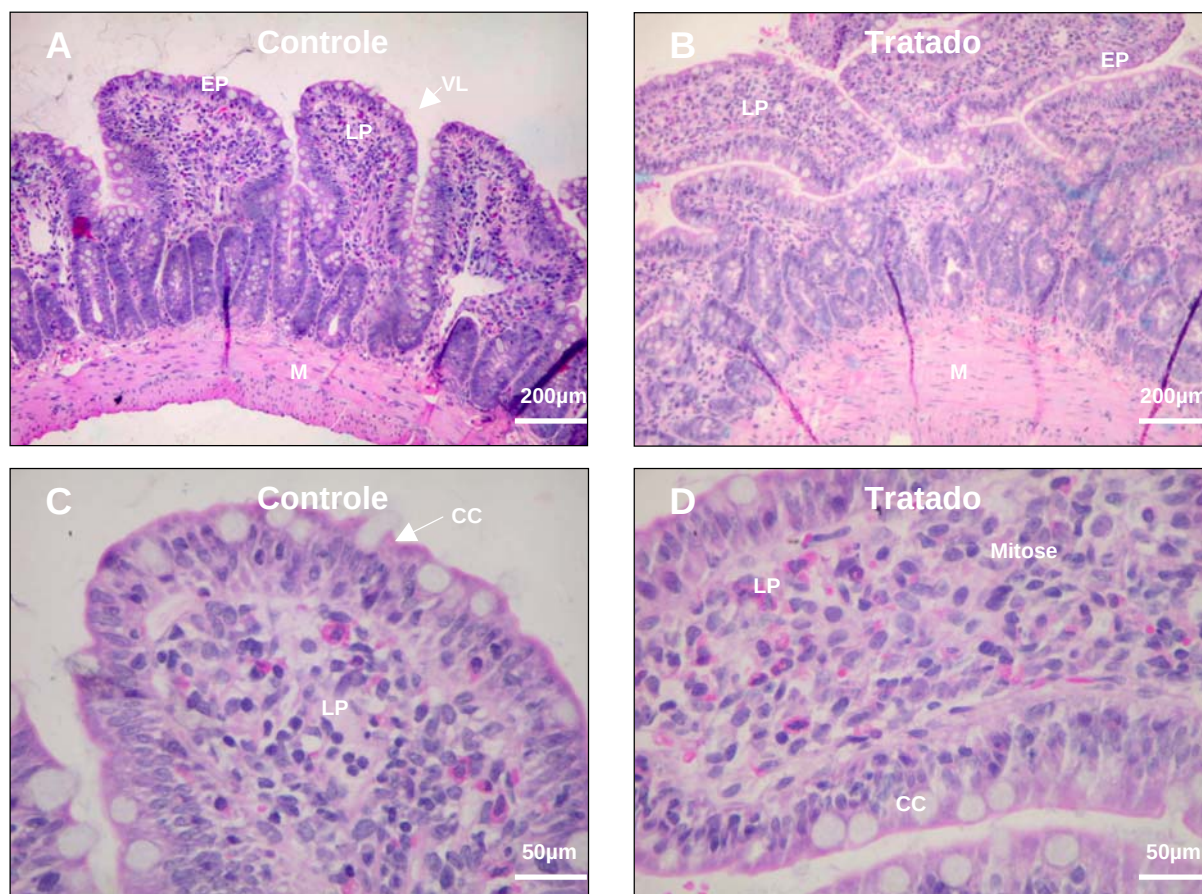


Figura 07 – Análise histológica de segmentos de intestino delgado dos animais dos grupos controle e tratado, corados pela hematoxilina e eosina (H&E). As vilosidades (VL) e células caliciformes (CC) apresentam-se de aspecto normal, assim como a disposição das fibras da camada muscular (M) e os plexos nervosos nos dois grupos. EP= epitélio; LP= lâmina própria. A e B: H&E x 100; C e D: H&E x 400.

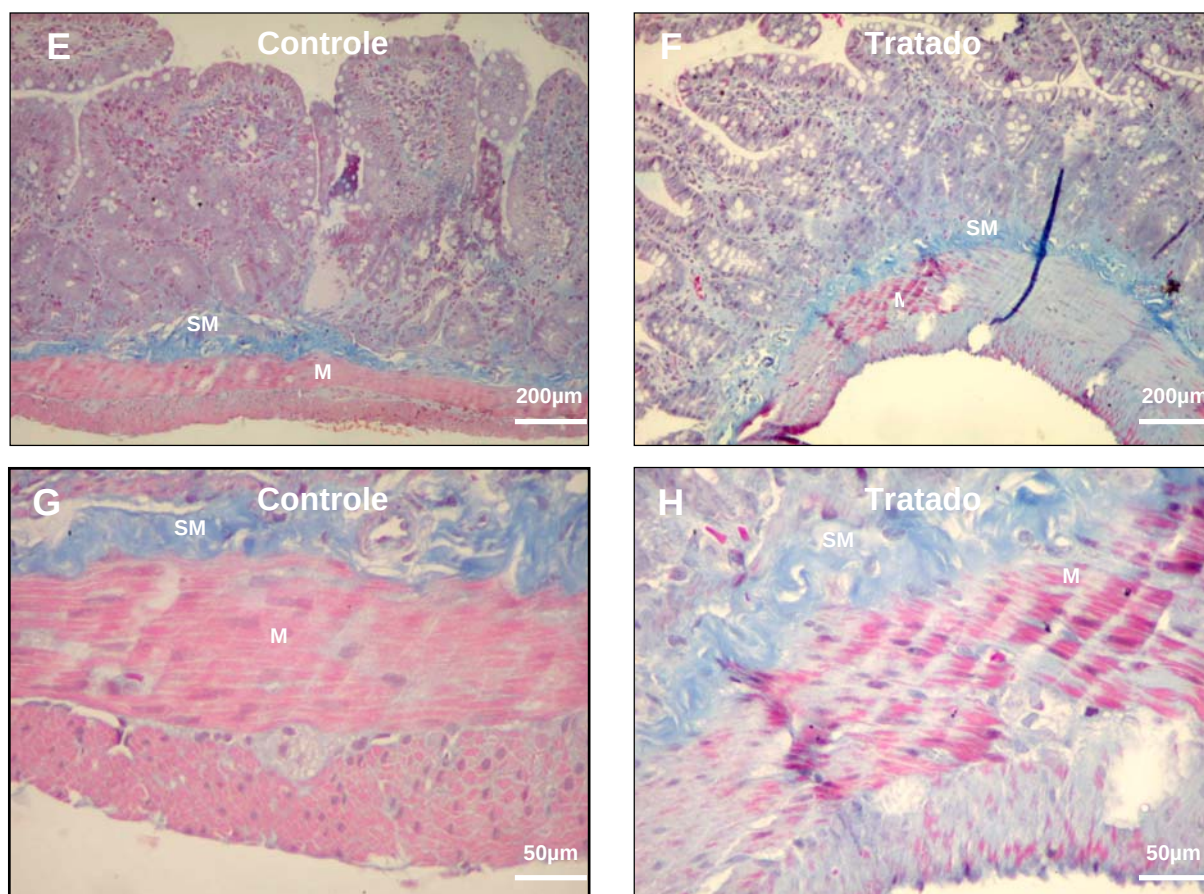


Figura 08 – Análise histológica de segmentos de intestino delgado dos animais dos grupos controle e tratado, corados pelo tricrômico de Masson. A distribuição do tecido conjuntivo no grupo tratado mostra-se sem alterações quando comparada ao grupo controle. SM= submucosa (em azul); M= muscular (em rosa). E e F: Tricrômico de Masson x 100; G e H: Tricrômico de Masson x 400.

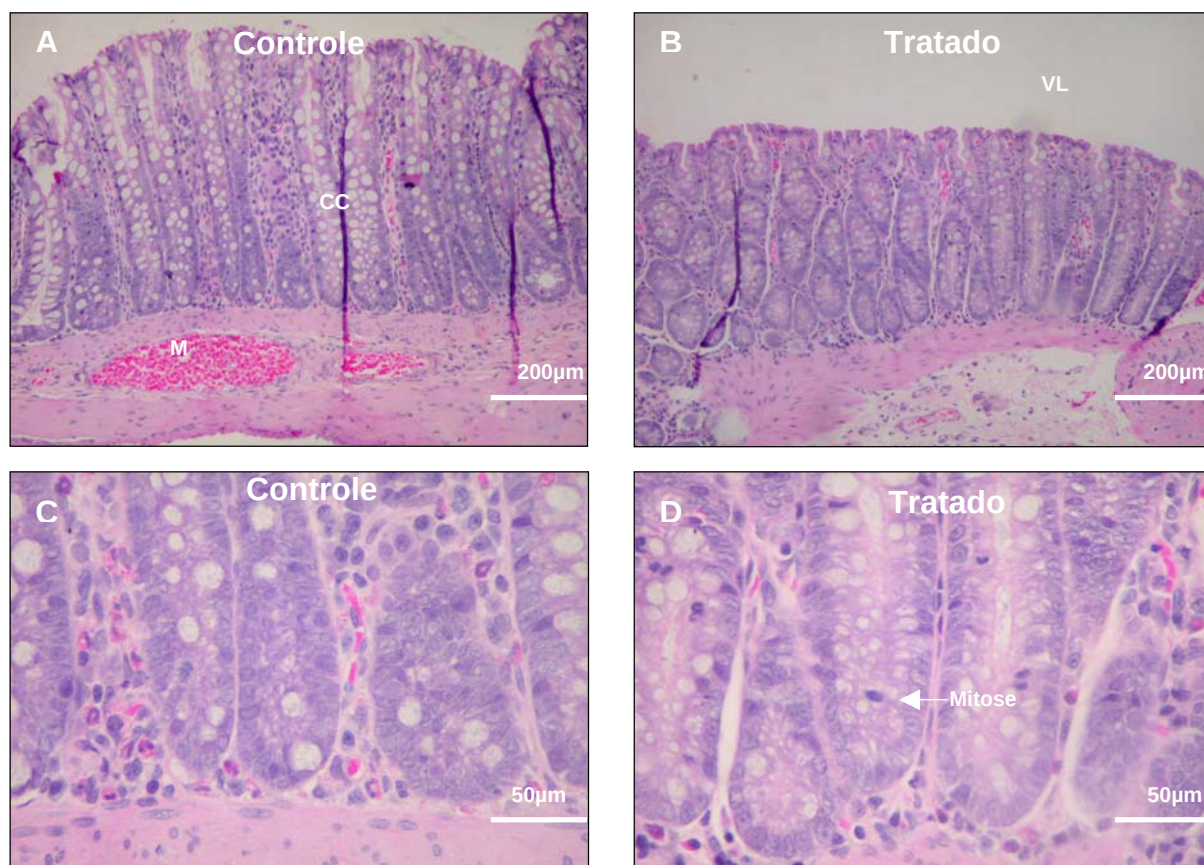


Figura 09 – Análise histológica de segmentos de cólon dos animais dos grupos controle e tratado, corados pela hematoxilina e eosina (H&E). Houve diminuição do número de glândulas caliciformes e a presença de maior atividade mitótica do epitélio glandular no grupo tratado. Demais estruturas apresentam-se de aspecto normal. CC= células caliciformes; LP= lâmina própria. A e B: H&E x 100; C e D: H&E x 400.

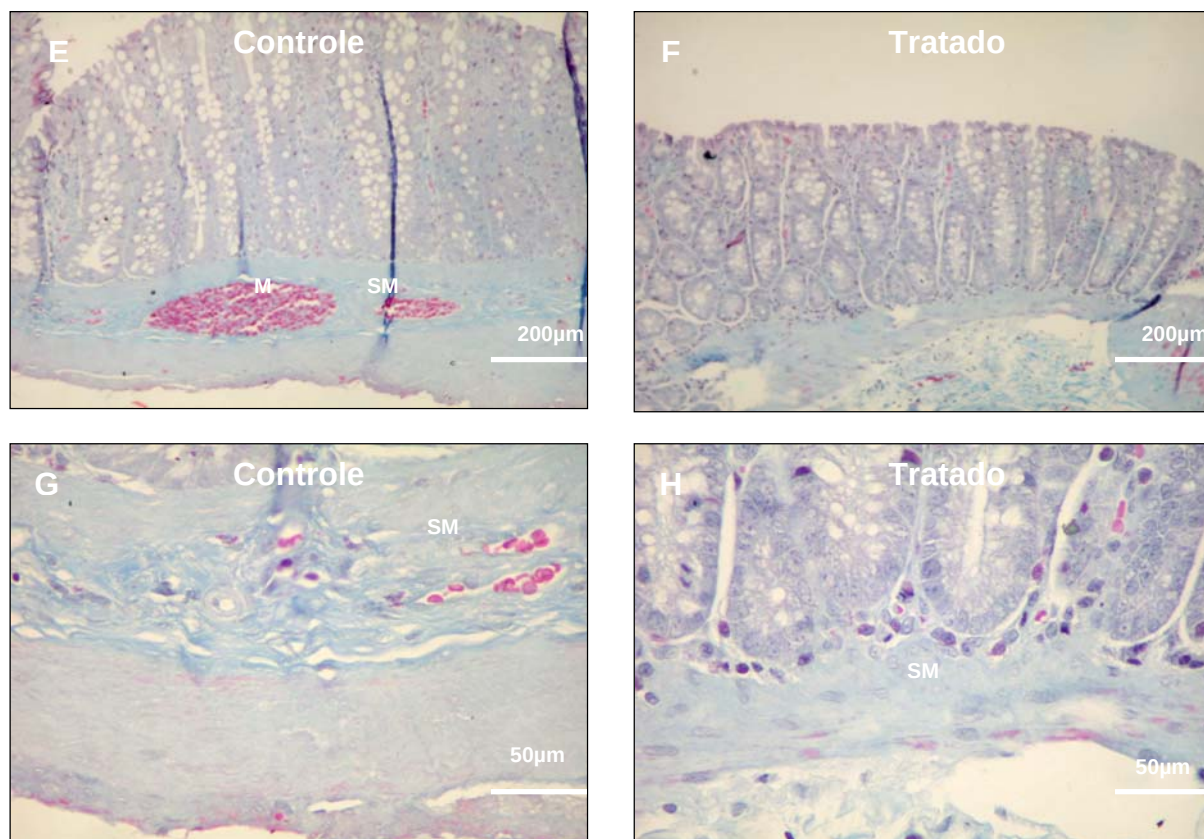


Figura 10 – Análise histológica de segmentos de cólon dos animais dos grupos controle e tratado corados pelo tricrômico de Masson. A distribuição do tecido conjuntivo no grupo tratado mostra-se sem alterações quando comparadas ao grupo controle. SM= submucosa (em azul); M= muscular (em rosa). E e F: Tricrômico de Masson x 100; G e H: Tricrômico de Masson x 400.

5. Discussão

DISCUSSÃO

1 – Quanto à metodologia

1.1 – Animal de experimentação

O rato é um animal muito utilizado nas investigações experimentais da cicatrização das anastomoses intestinais (Lord et al., 1977; Jiborn et al., 1978a; Stromberg & Klein, 1982 a, b; Udén et al., 1988; Naresse et al., 1988). Em modelo experimental de peritonite é utilizado tanto na compreensão de sua fisiopatologia como no tratamento (Chalkiadakis et al., 1983; Lally et al., 1983; Dunn et al., 1984 b; Mc Avinchey et al., 1984; Araujo Junior, 1987; Emms & Benson, 1987; Naresse et al., 1993; Verderese et al., 1995; Gonçalves Junior, 2000).

Além das características anteriores, tem sido utilizado nas investigações experimentais que envolvem o uso de antiinflamatórios não esteróides (Ku et al., 1986; Prandi et al., 1988; Prescott et al., 1989; Fatureto et al., 1989; Fatureto et al., 1991; Minossi et al., 1996, 1998; Gonçalves Junior, 2000).

Assim, a escolha deste animal deve-se, também, à presença de Biotério próprio, que nos permite facilidade na obtenção e uniformidade dos animais em relação ao grau de nutrição, idade e linhagem. É um animal de fácil manuseio e elevada resistência às infecções, dispensando o uso de antibióticos.

Para esse estudo foi realizada análise amostral para obtermos o número ideal de ratos em cada grupo.

1.2 – Antiinflamatório não esteróides

As reações adversas gastrointestinais relacionadas ao uso dos antiinflamatórios não esteróides (AINEs) são freqüentes devido ao aumento do número de prescrições médicas e ao uso indiscriminado dessas drogas em todo o mundo. Além das indicações em pacientes clínicos, os AINEs têm sido largamente empregados em pacientes cirúrgicos, quer no pré ou pós-operatório, notadamente com finalidade analgésica (Beehrle & Evan, 1999).

Apesar do efeito analgésico desta classe de fármacos, vários efeitos indesejáveis foram observados em pacientes cirúrgicos, especialmente aumento de sangramento digestivo alto, pelo bloqueio da cicloxigenase e, então, comprometimento do fluxo sanguíneo da submucosa (Lewis, 1977; Wallace, 1997; Beehrle & Evan, 1999).

Por outro lado, ao diminuir o processo inflamatório, poderiam constituir-se em moduladores positivos dos processos cicatriciais, diminuindo a fase inflamatória do processo de cicatrização.

Deste modo, o diclofenaco de sódio foi largamente utilizado em investigações clínicas e experimentais, devido a seu potente efeito antiinflamatório e efeitos colaterais aceitáveis (Zuckner, 1986).

No entanto, os resultados mostram tratar-se de modulador negativo do processo cicatricial, causando as deiscências intestinais, diminuindo a força de ruptura das anastomoses e aumentando a lise colagênica (Minossi, 1996,1998). Tais efeitos ficam imputados ao bloqueio da cicloxigenase inibindo a produção de prostaglandinas (Vane, 1987).

Na década de 90, com a descoberta de duas isoformas de cicloxigenase, a COX-1 constitutiva, com funções fisiológicas em vários tecidos, como o trato gastrointestinal e rins, e a COX-2 induzida, liberada em resposta a estímulos inflamatórios, surgiram os antiinflamatórios inibidores específicos da COX-2, cuja utilização clínica estaria correlacionada à diminuição acentuada dos efeitos indesejáveis dos antiinflamatórios inibidores inespecíficos, até então muito utilizados, tal como o diclofenaco (Zuckner, 1986; Minossi, 1996,1998; Graham, 2002).

No entanto, comprovações científicas de ausência de efeitos em anastomoses intestinais não são relatadas, tendo em vista a apresentação oral da droga e dificuldade em estabelecer níveis constantes e uniformes desta no tecido.

No presente trabalho, utilizamos o parecoxibe, AINE inibidor específico COX-2, sendo o único desse grupo existente na apresentação injetável, para uso intramuscular (IM) ou intravenoso (IV). O metabolismo da droga é rápido e convertido quase que completamente em valdecoxibe, que é a droga ativa, *in vivo*, com meia vida plasmática inferior a 60 minutos, início de ação rápido (30 minutos) e duração de 24 horas, possibilitando prescrição de dose única diária, com níveis sanguíneos uniformes da droga (Desjardins et al., 2001; Alsalameh et al., 2003).

1.3 – Força de ruptura

Um dos aspectos importantes na evolução da cicatrização intestinal diz respeito às propriedades mecânicas do tecido de reparação responsável pela união das bordas da ferida cirúrgica, que deve oferecer a resistência mecânica necessária para não se romper ao ser submetido às tensões normais do organismo. Estas propriedades físicas podem ser avaliadas no laboratório, por dois métodos básicos, quando se utilizam órgãos musculares cavitários. O primeiro consiste na tração das extremidades opostas (força de ruptura) e o segundo, na resistência à insuflação gasosa ou líquida (força de explosão).

A força de explosão mede a resistência da parede de um órgão cavitário ao aumento da pressão no seu interior, até ocorrer uma ruptura puntiforme ou parcial da anastomose. De acordo com Nelsen & Anders (1966), esta distensão pode ser causada pela insuflação de ar ou água.

A força de explosão é utilizada, normalmente, para avaliação da força mecânica das anastomoses intestinais, mas sua interpretação mais fidedigna fica restrita ao pós-operatório imediato, quando a ferida ainda não está em fase de retração (Nelson & Dudley, 1967; Jiborn et al., 1978 a).

A força de explosão depende da tensão na parede do intestino e não apenas da pressão intraluminar, já que a tensão na parede é função do diâmetro e do formato do intestino, assim como da pressão interna exercida na parede do órgão. A tensão exercida na parede do intestino assemelha-se àquela exercida em um cilindro (tensão = pressão x raio – Lei de Laplace), mas, sendo a parede intestinal de consistência elástica, há modificações do raio durante a insuflação. O local contendo a anastomose, cuja cicatriz encontra-se em fase de remodelação, fica menos

distensível e, durante a insuflação, este segmento, por apresentar menor raio, sofrerá tensão menor do que o segmento intestinal íntegro, que apresenta maior elasticidade. Por esta razão, a ruptura da parede intestinal pode ocorrer em tecidos adjacentes à anastomose (Nelsen & Anders, 1966; Jiborn et al., 1978 b).

A força de ruptura permite avaliar a resistência de uma anastomose a forças opostas. Para este tipo de medida, é utilizado um segmento da anastomose (Munday & Mc Ginn, 1976; Deveney & Way, 1977), ou toda sua extensão (Jiborn et al., 1978 b). A uniformidade das amostras intestinais permitiu-nos a utilização de toda a sua extensão.

Uma problemática que envolve o estudo da resistência mecânica da parede intestinal relaciona-se à composição dessa parede, que não é homogênea. Além de possuir formato cilíndrico esta contém camadas de tecidos que incluem musculatura e apenas uma pequena quantidade de colágeno concentrado na camada submucosa (Lord et al., 1977). 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 na concentração de 250 mg/l, durante 30 minutos, em banho-maria (Gottrup, 1980).

O risco de lacerações puntiformes com os dentes das garras utilizados para prensão das amostras intestinais é evitado protegendo-os com papel de filtro (Gottrup, 1980). Dessa forma, a construção das garras sem dentes para prensão das amostras intestinais, dispensou o uso de papel de filtro, facilitando o manuseio das amostras.

Apesar de não termos realizado a anastomose intestinal, utilizamos a força de ruptura na alça íntegra. Tal fato deve-se às observações anteriores do nosso grupo de pesquisa, em que pudemos observar que a diminuição da força de ruptura na alça íntegra estaria relacionada com deficiência da cicatrização em períodos tardios. Associa-se também que períodos tardios de cicatrização não forneceria resultados fidedignos da força de explosão, tendo em vista a rigidez do raio na área anastomótica, com grande possibilidade de rompimento da alça em locais adjacentes à anastomose.

2 – Quanto aos resultados

Apesar da utilização da droga por quatro dias consecutivos, em dose padrão, não observamos óbitos e/ou alterações na cavidade abdominal e nas alças intestinais dos animais que pudessem estar correlacionadas à droga. Estes achados diferem daqueles observados com a utilização de AINEs inibidores inespecíficos das ciclooxigenases, tal como o diclofenaco, nos quais foram observadas ulcerações e perfurações intestinais, abscessos e óbitos dos animais (Minossi, 1996,1998; Verderese, 1995).

Tampouco pudemos observar sinais de sangramento digestivo, como relatados com o uso de ácido acetil salicílico (Silverstein et al., 2000).

Assim, os mínimos efeitos adversos indesejáveis com a utilização de AINEs inibidores específicos de COX-2 puderam ser reproduzidos no presente estudo, tal como citados na literatura (Davies & Skjodt, 1999; Bombardier et al., 2000; Bombardier, 2002).

Por outro lado, o estudo da força de ruptura, mostrou diminuição significativa desta na alça do cólon, mas não no intestino delgado. Em estudos anteriores utilizando o diclofenaco de sódio, sabidamente inespecífico em relação ao bloqueio das isoformas de cicloxigenase, ocorreu diminuição significativa da força de ruptura na alça íntegra do cólon e do delgado em rato. (Minossi, 1996,1998; Gonçalves Jr, 2000).

De acordo com Fortun & Hawkey (2005), há pelo menos três estágios para o entendimento da enteropatia causada por AINEs, iniciando com dano aos fosfolípides da membrana por ácidos, com dano às mitocôndrias dos enterócitos. Segue-se depleção da energia intracelular, afluxo de cálcio, gerando radicais livres secundariamente, com quebra da integridade intercelular e aumento da permeabilidade intestinal. O evento final, desencadeado pela quebra da barreira mucosa, seria a vulnerabilidade do enterócito à lesão causada pelo conteúdo intraluminal, tais como bile, alimento, bactérias e enzimas.

O aumento da permeabilidade intestinal como resultado direto da toxicidade dos AINEs baseia-se na observação de que o uso de metronidazol reduz a inflamação e a perda sanguínea, mas não a permeabilidade intestinal, sendo a inflamação um evento secundário causado pela invasão bacteriana e/ou ativação neutrofílica (Bjarnason et al, 1992).

Em ratos, cita-se a importância da circulação enterohepática dos AINEs como causa central de dano intestinal (Reuter et al., 1997). Efeito aditivo a esta citação é observado com o uso de drogas que não apresentam circulação enterohepática, tal como o sulindaco, que tem menos toxicidade intestinal. A recirculação expõe a mucosa repetidamente à invasão bacteriana (Smale et al., 2001).

Embora seja conhecida a toxicidade ao trato gastrointestinal pelos AINEs, relatos de efeitos adversos de inibidores específicos de COX-2 são raros. Em estudo comparativo utilizando rofecoxibe, indometacina e placebo, mostrou-se que o rofecoxibe não aumenta a permeabilidade intestinal (Sigthorsson et al., 2000).

Por outro lado, o celecoxibe parece causar mínimas ulcerações na mucosa intestinal quando comparado com a indometacina em estudo experimental (Davies & Skjodt, 1999). Contudo, os reais efeitos desses inibidores específicos no intestino delgado e cólon não são extensivamente estudados.

A análise microscópica da mucosa do intestino delgado do rato não mostrou qualquer dano que pudesse ser imputado ao emprego do parecoxibe. Tampouco, foi visualizado pela histologia com coloração pela hematoxilina e eosina qualquer efeito lesivo à mucosa, apresentando vilosidades e células de aspecto normal e disposição uniforme das fibras da camada muscular. A coloração pelo tricrômico de Masson também não mostrou mudanças na distribuição do tecido conjuntivo, apesar de ser um método descritivo de pouca sensibilidade para detectar mudanças de tipo ou estrutura do colágeno.

Entretanto, a análise histológica do cólon dos animais, quando utilizada a coloração de hematoxilina e eosina, mostrou diminuição do número de glândulas caliciformes e a presença de maior atividade mitótica do epitélio glandular, com demais estruturas de aspecto normal. A coloração pelo tricrômico de Masson também não revelou anormalidades.

Assim, com as duas metodologias empregadas no presente trabalho, não foram observadas lesões no íleo terminal, o que é totalmente discordante dos achados até então documentados quanto à utilização de AINEs inespecíficos.

Os achados deste trabalho são concordantes com o mecanismo proposto de lesão ileal induzida pelos AINEs inespecíficos, pela inibição da síntese de ciclooxigenase um (COX-1), tal como a indometacina (Whittle, 1981; Reuter, 1997). Desta forma, a inibição COX-1 por ocasionar diminuição da síntese de prostaglandinas levaria à redução do fluxo sanguíneo da mucosa, da produção de bicarbonato, da secreção de muco, da divisão de células epiteliais e, portanto, do processo de reparação tecidual, elementos essenciais na defesa da mucosa perante agentes agressores luminiais (Robert, 1975; Redfern et al., 1987; Redfern, Feldman, 1989; Wilson, 1991; Uribe et al., 1995; Wallace, 1997; Erickson et al., 1999).

Os dados deste trabalho sugerem que o parecoxibe é realmente inibidor específico da COX-2, e as lesões no íleo terminal sejam decorrentes da inibição COX-1. Nesse sentido, é provável que a realização de anastomoses no íleo terminal na vigência do uso deste fármaco não seja acompanhada de alto índice de complicações, tal como observado com o uso de diclofenaco. No entanto, a comprovação desta inferência necessita ser mais bem investigada.

É documentada a circulação enterohepática dos AINEs na indução da lesão intestinal do delgado pelo efeito detergente sobre as células intestinais, solubilizando e danificando os componentes da membrana plasmática, tais como fosfolípedes e colesterol (Sagawa, 1993; Miyake, 1999). Este efeito detergente seria devido à presença na bile de sais biliares hidrofóbicos tais como o quenodeoxicólico, deoxicólico e litocólico.

A utilização de sais hidrofílicos (ex. ácido ursodeoxicólico) teria efeito benéfico e protetor na inflamação intestinal por AINEs, possivelmente, por alterarem a relação entre os sais biliares hidrofóbicos e os hidrofílicos. Entretanto, o efeito protetor é controverso e o mecanismo de ação não totalmente esclarecido, tendo

alguns trabalhos mostrado melhora (Kullmann et al., 1997b; Lloyd-Still et al., 2001) e outros piora da lesão intestinal (Uchida et al., 1997).

Apesar de desconhecermos a circulação enterohepática do parecoxibe, nossos resultados não mostraram qualquer alteração no íleo terminal que pudesse ser decorrente do efeito aditivo da bile na lesão intestinal, já que esta não ocorreu. Provavelmente, o mecanismo de lesão dos AINEs esteja correlacionado ao bloqueio da isoforma COX-1, pelo fato de não ter ocorrido lesão com a droga utilizada no presente estudo.

A translocação bacteriana também é atribuída ao bloqueio de ciclooxigenase. Em nosso meio, Verderese (2000) utilizando o diclofenaco de sódio mostrou, pelo estudo de microscopia eletrônica, a presença de bactérias no interior dos enterócitos ileais do rato e diminuição da força de ruptura dos segmentos ileais íntegros. Pelos nossos resultados é provável também que os efeitos anteriores sejam decorrentes da inibição da isoforma COX-1, já que nós não constatamos aumento do processo inflamatório e diminuição da força de ruptura no segmento ileal e também a presença de linfonodos intestinais aumentados.

Por outro lado, no cólon dos ratos tratados com parecoxibe, nossos resultados apontam para diminuição da força de ruptura em relação ao grupo controle e atividade mitótica elevada. Apesar de não termos observado lesões ulceradas na mucosa, os resultados são compatíveis com lesão em reparação neste segmento intestinal, podendo ter ocorrido lesão ulcerada em fase anterior à do sacrifício dos animais, já que realizamos esse procedimento no sétimo dia do início do tratamento com a droga.

Analisando os achados do íleo terminal e cólon dos animais em estudo, parece-nos que os mecanismos de defesa desses dois sítios são diferentes, não

devendo ser predominantemente dependente da isoforma COX-1 no cólon, como os resultados em estudo parecem imputar no delgado.

A barreira intestinal é composta de várias estruturas, tais como camada de muco epitelial, a borda em escova das células da vilosidade intestinal, as membranas celulares apicais e basolaterais, as junções intercelulares, a matriz intersticial, o endotélio dos vasos capilares e linfáticos, o sistema imune, os nódulos linfáticos mesentéricos e, finalmente, o sistema reticuloendotelial hepático e esplênico (Chadwick et al., 1977; Powell, 1981; Peters & Bjarnason, 1988; Crissinger et al., 1990; Hollander, 1992; Wang & Andersson, 1994; Sun et al., 1997). Esta barreira tem como função proteger o organismo contra fatores luminiais agressores, provenientes do meio externo, como os microorganismos e seus produtos de degradação, os antígenos alimentares, os carcinógenos e os xenobióticos (Hollander, 1993).

A permeabilidade intestinal, por outro lado, envolve predominantemente as junções intercelulares (Hollander, 1999). O termo permeabilidade tem sido definido como a propriedade do epitélio intestinal de se deixar atravessar por determinadas substâncias presentes no lúmen do tubo digestivo, em um dado período de tempo (Troncon, 1996). A alteração das junções intercelulares desencadearia a excessiva penetração de agentes antigênicos e infecciosos que determinariam inflamação e perda da integridade intestinal (Fiocchi, 1998).

Neste sentido, a presença de flora cólica mais abundante que a ileal poderia exercer papel importante na etiopatogenia das lesões cólicas, mesmo com o uso de bloqueadores específicos da COX-2, por alteração da permeabilidade intestinal.

Por outro lado, recentemente, o óxido nítrico tem sido reconhecido como um mediador crítico da defesa mucosa do trato digestivo, exercendo muitas das mesmas ações das prostaglandinas, sendo ambos capazes de modular o fluxo sanguíneo mucoso, a secreção de muco e reparação à lesão da mucosa. Em modelos experimentais de lesões gástricas o óxido nítrico é capaz de exercer efeito citoprotetor similar ao observado com as prostaglandinas (MacNaughton et al., 1989; Kitagawa et al., 1990; Lopez-Belmonte et al., 1993).

Os dados do presente estudo permitem-nos concluir a respeito da participação da permeabilidade cólica ou da diminuição dos níveis de óxido nítrico na parede cólica decorrentes ou não dos inibidores específicos da COX-2, que poderiam explicar os achados do presente estudo. No entanto, estes achados sugerem que, mesmo com inibidores específicos COX-2, a realização de anastomoses no cólon poderia apresentar complicações mais exuberantes do que as realizadas em animais que não estejam utilizando a medicação.

As dúvidas desencadeadas pelos achados em nossa pesquisa remetem-nos a um aprofundamento das investigações, buscando novas metodologias para que possamos além de conhecer as ações destes fármacos no trato digestivo, tornar o uso racional destes nos processos que envolvem a cicatrização intestinal.

6. Conclusões

CONCLUSÕES

No rato e com a metodologia utilizada podemos concluir que:

- O parecoxibe diminui a força de ruptura no segmento cólico, mas não no íleo terminal.
- O parecoxibe não altera a morfologia do íleo terminal, mas diminui o número de células caliciformes e eleva o índice de mitoses no cólon.

7. Referências Bibliográficas

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS*

- ALLISON, M.C., HOWATSON, A.G., TORRANCE, C.J., LEE, F.D., RUSSELL, R.I. Gastrointestinal damage associated with the use of nonsteroidal antiinflammatory drugs. **N. Engl. J. Med.**, v.327, p.749-54, 1992.
- ALSALAMEH, S., BURIAN, M., MAHR, G., WOODCOCK, B.G., GEISSLINGER, G. Review article: the pharmacological properties and clinical use of valdecoxib, a new cylo-oxygenase-2-selective inhibitor. **Aliment. Pharmacol. Ther.**, v.17, p.489-501, 2003.
- ARAÚJO JUNIOR, J.C. Avaliação do uso tópico da clorhexidina na peritonite fecal induzida em ratos. **Acta Cir. Bras.**, v.2, p.55-63, 1987.
- AUCKER, B. NSAIDs: What you don't know can hurt you. **J. Emerg. Nurs.**, v. 21, p.428-34, 1995.
- BEEHRLE, D.M., EVAN, D. A review of NSAID complications: gastrointestinal and more. **Lippincott's Prim. Care Pract.**, v.3, p.305-15, 1999.
- BJARNASON, I., HAYLLAR, J., SMETHURST, P., PRICE, A., GUMPEL, M.J. Metronidazole reduces intestinal inflammation and blood loss in non-steroidal anti-inflammatory drug induced enteropathy. **Gut.**, v.33, p.1204-8, 1992.
- BOMBARDIER, C. An evidence-based evaluation of the gastrointestinal safety of coxibs. **Am. J. Cardiol.**, V.21, p.3-9, 2002.
- BOMBARDIER, C., LAINE, L., REICIN, A., SHAPIRO, D., BURGOS-VARGAS, R., DAVIS, B., DAY, R., FERRAZ, M.B., HAWKEY, C.J., HOCHBERG, M.C., KVIEN, T.K., SCHNITZER, T.J., VIGOR Study Group. Comparison of upper gastrointestinal toxicity of rofecoxib and naproxeno in patients with rheumatoid arthritis. **N. Engl. J. Med.**, v.343, p.1520-8, 2000.

*UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA. Coordenadoria Geral de Bibliotecas. **Normas para publicações da Unesp**. São Paulo: Editora Unesp, 1994., v.2: Referências Bibliográficas.

NATIONAL LIBRARY OF MEDICINE. **List of journals indexed in Index Medicus**. Washington, 1997. 240p.

- BROOKS, P.M., DAY, R.O. Nonsteroidal anti-inflammatory drugs: differences and similarities. **N. Engl. J. Med.**, v.324, p.1716-25, 1991.
- CHAWICK, V.S., PHILLIPS, S.F., HOFMANN, A.F. Measurements of intestinal permeability using low molecular weight polyethylene glycols (Peg 400). Chemical analysis and biological properties of PEG 400. **Gastroenterology**, v.73, p.241-6, 1977.
- CHALKIADAKIS, G.E., KOSTAKIS, A., KARAYANNACOS, P.E., CHALKIADAKIS, M.E., SGOUROMALI, S., GIAMARELLOU, H., SKALKEAS, G.D. The effect of heparin upon fibrinopurulent peritonitis in rats. **Surg. Gynecol. Obstet.**, v.157, p.257-60, 1983.
- CONSTANTINO, D.H.J. **Efeito do tratamento com indometacina e parecoxibe na evolução do tumor sólido de Ehrlich**. Botucatu, 2005. 60p. (Mestrado) – Faculdade de Medicina, Universidade Estadual Paulista.
- CRISSINGER, K.D., KVIETYS, P.R., GRANGER, D.N. Pathophysiology of gastrointestinal mucosal permeability. **J. Intern. Med.**, v.228, suppl., p.145-54, 1990.
- CROFFORD, L.J., LIPSKY, P.E., BROOKS, P., ABRAMSON, S.B., SIMON, L.S., VAN DE PUTTE, L.B.A. Basic Biology and clinical application of specific cyclooxygenase - 2 inhibitors. **Arthritis Rheum.**, v. 43, p. 4-12, 2000.
- DAVIES, N.M., SKJODT, N.M. Choosing the right nonsteroidal anti-inflammatory drug for the right patient: a pharmacokinetic approach. **Clin. Pharmacokinet.**, v.38, p.377-92, 2000.
- DAVIES, N.M., SKJODT, N.M. Clinical pharmacokinetics of meloxicam. A cyclooxygenase-2 preferential nonsteroidal anti-inflammatory drug. **Clin. Pharmacokinet.**, v.36, p.115-26, 1999.
- DESJARDINS, P.J., GROSSMAN, E. H., KUSS, M.E., TALWALKER, S., DHADDA, S., BAUM, D., HUBBARD, R.C. The injectable cyclooxygenase-2-specific inhibitor parecoxib sodium has analgesic efficacy when administered preoperatively. **Anesth. Analg.**, v.93, p.721-7, 2001.
- DEVENEY, K.E., WAY, L.W. Effect of different absorbable sutures on healing of gastrointestinal anastomoses. **Am. J. Surg.**, v.133, p.86-94, 1977.

- DUNN, D.L., ROTSTEIN, O.D., SIMMONS, R.L. Fibrin in peritonitis. IV. Synergistic intra-peritoneal infection caused by *Escherichia coli* and *Bacteroides fragilis* within fibrin clots. **Arch. Surg.**, v.119, p.139-44, 1984b.
- EHRICH, E.W., DALLOB, A., LEPELEIRE, I.D., HECKEN, A.V., RIEDEAU, D., YUAN, W., PORRAS, A., WITTEICH, J., SEIBOLD, J.R., SCHEPPER, P.D., MEHLISCH, D.R., GERTZ, B.J. Characterization of rofecoxib as a cyclooxygenase-2 isoform inhibitor and demonstration of analgesia in the dental pain model. **Clin. Pharmacol. Ther.**, v.65, p.336-47, 1999.
- EMMS, S.G., BENSON, C.E. Efficacies of trimethoprim-sulfadiazine and gentamicin sulfate in the treatment of fibrinous peritonitis in rats. **Am. J. Vet. Res.**, v.48, p.716-8, 1987.
- ERICKSON, B.A., LONGO, W.E., PANESAR, N., MAZUSKI, J.E., KAMINSKI, D.L. The effect of selective cyclooxygenase inhibitors on intestinal epithelial cell mitogenesis. **J. Surg. Res.**, v.81, p.101-7, 1999.
- FATURETO, M. C., GOMES, R. A. S., HIAL, V., TEIXEIRA, V. P. A., GOLDENBERG, S. Curva ponderal pós-operatória em ratos tratados com diclofenaco sódico. **Acta Cir. Bras.**, v.6, p.41-4, 1991.
- FATURETO, M.C., SIMÕES, M.J. , TEIXEIRA, V. P. A. , GOLDENBERG, S. Aspectos morfológicos e morfométricos do processo inflamatório provocado por fio de catagute simples no subcutâneo de ratos tratados com Diclofenaco Sódico. **Acta Cir. Bras.**, v.4, p.5-9, 1989.
- FERREIRA, S.H., MONCADA, S., VANE, J.R. Indomethacin and aspirin abolish prostaglandin release from spleen. **Nature**, v.231, p. 237-9, 1971.
- FIOCCHI, C. Inflammatory bowel disease: etiology and pathogenesis. **Gastroenterology**, v.115, p.524-8, 1998.
- FITZGERAID, G.A., PATRONO, C. The coxibs, selective inhibitors of cyclooxygenase 2. **N. Engl. J. Med.**, v.345, p.433-41, 2001.
- FORTUN, P.J., HAWKEY, C.J. Nonsteroidal anti-inflammatory drugs and the small intestine. **Curr. Opin. Gastroenterol.**, v.21, p.169-75, 2005.

- FUNK, C.D., FUNK, L.B., KENNEDY, M.E., PONG, A.S., FITZGERALD, G.A. Human platelet/erythrocyte cell prostaglandin G/H synthase: cDNA cloning, expression, and gene chromosomal assignment. **FASEB J.**, v.5, p.2304-12, 1991.
- GONÇALVES JR, I. **Ação do diclofenaco de sódio e imipenem na mucosa intestinal de ratos. Estudo biomecânico e anatomopatológico.** Botucatu, 2000. 117p. Dissertação (Mestrado) - Faculdade de Medicina, Universidade Estadual Paulista.
- GOTTRUP, F. Healing of incisional wounds in stomach and duodenum: a biomechanical study. **Am. J. Surg.**, v.140, p.296-301, 1980.
- GRAHAM, D.Y. Therapeutic roles of selective inhibitors. **Gastroenterology**, v.122, p.241, 2002.
- HOLLANDER, D. The intestinal permeability barrier. A hypothesis as to its regulation and involvement in Crohn's disease. **Scand. J. Gastroenterol.**, v.27, p.721-6, 1992.
- HOLLANDER, D. Permeability in Crohn's disease: altered barrier functions in healthy relatives? **Gastroenterology**, v.104, p.1848-51, 1993.
- HOLLANDER, D. Intestinal permeability, leaky gut, and intestinal disorders. **Curr. Gastroenterol. Rep.**, v.1, p.410-6, 1999.
- 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. II. Breaking strength of the colon after left colon resection and anastomosis. **Am. J. Surg.**, v.136, p.595-9, 1978b.
- KENNEDY, B., LEBLANC, Y., LEGER, S., MANCINI, J., O'NEILL, G.P., OUELLET, M., PATRICK, D., PERCIVAL, M.D., PERRIER, H., PRASIT, P., RODGER, I., TAGARI, P., THERIEN, M., VICKERS, P., VISCO, D., WANG, Z., WEBB, J., WONG, E., XU, L.J., YOUNG, R.N., ZAMBONI, R., RIENDEAU, D. Rofecoxib [Vioxx, MK-0966; 4-(4'-Methylsulfonylphenyl)-3-phenyl-2-(5H)-furanone]: a potent and orally active cyclooxygenase-2 inhibitor. Pharmacological and biochemical profiles. **J. Pharmacol. Exp. Ther.**, v.290, p.551-60, 1999.

- KITAGAWA, H., TAKEDA, F., KOHEI, H. Effect of endothelium-derived relaxing factor on the gastric lesion induced by HCl in rats. **J. Pharmacol. Exp. Ther.**, v.253, p.1133-7, 1990.
- KU, E. C. , LEE, W. , KOTHARI, H. V. , SCHOLER, D. W. Effect of diclofenac sodium on the arachidonic acid cascade. **Am. J. Med.**, v.80, suppl. 4B, p.18-23, 1986.
- KULLMANN, F., GROSS, V., RÜSCHOFF, J., ARNDT, H., BENDA, W., WINKLER von MOHRENFELS, A., SCHÖLMERICH, J. Effect of ursodeoxycholic acid on the inflammation in rats. **Zentralbl. Gastroenterol.**, v.35, p. 171-8, 1997.
- LALLY, K.P., TRETTIN, J.C., TORMA, M.J. Adjunctive antibiotic lavage in experimental peritonitis. **Surg. Gynecol. Obstet.**, v.156, p.605-8, 1983.
- LANZA, F.L., RACK, M.F., SIMON, T.J., QUAN, H., BOLOGNESE, J.A., HOOVER, M., WILSON, F.R., HARPER, S.E. Specific inhibition of cyclooxygenase-2 with MK-0966 is associated with less gastroduodenal damage than either aspirin or ibuprofen. **Aliment. Pharmacol. Ther.**, v.13, p.761-7, 1999.
- LEESE, P.T., TALWALKER, S., KENT, J.D., RECKER, D.P. Valdecoxib does not impair platelet function. **Am. J. Emerg. Med.**, v.20, p.275-81, 2002.
- LEITE, C.V.S., NARESSE, L.E., KOBAYASI, S., MINOSSI, J.G., BURINI, R.C., CURY, P.R., HOSSNE, W.S. Efeito da desnutrição protéica na anastomose do cólon distal no rato: estudo da força de ruptura e do colágeno tecidual. **Acta. Cir. Bras.**, v.8, p.145-50, 1993.
- LEWIS, G.P. Prostaglandins in inflammations. **J. Reticuloendothel. Soc.**, v. 22, p.389-402, 1977.
- LIPSKY, P.E., BROOKS, P., CROFFORD, L.J., DUBOIS, R., GRAHAM, D., SIMON, L.S., VAN DE PUTTE, L.B.A., ABRAMSON S.B. Unresolved issues in the role of cyclooxygenase 2 in normal physiologic processes and disease. **Arch. Intern. Med.**, v.160, p.913-20, 2000.
- LLOYD-STILL, J.D., BENO, D.W.A., UHING, M.R., JIYAMAPA-SERNA, V.A., KIMURA, R.E. Ursodeoxycholic acid ameliorates ibuprofen-induced enteropathy in thr rat. **J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr.** v.32, p.270-3, 2001.

- LOPEZ-BELMONTE, J., WHITTLE, B.J.R., MONCADA, S. The actions of nitric oxide donors in the prevention or induction of injury to the rat gastric mucosa. **Br. J. Pharmacol.**, v.108, p.73-8, 1993.
- LORD, M.G., VLIES, P., BROUGHTON, A.C. A morphologic study of the submucosa of the large intestine. **Surg. Gynecol. Obstet.**, v.145, p.55-60. 1977.
- MACNAUGHTON, W.K., CIRINO, G., WALLACE, J.L. Endothelium-derived relaxing factor (nitric oxide) has protective actions in the stomach. **Life Sci.**, v.45, p.1869-76, 1989.
- MARNETT, L.J., ROWLINSON, S.W., GOODWIN, D.C., KALGUTKAR, A.S., LANZO, C.A. Arachidonic acid oxygenation by COX 1 and COX 2. **J. Biol. Chem.**, v.274, p.22903-6, 1999.
- McAVINCHEY, D.J., McCOLLUM, P.T., LYNCH, G. Towards a rational approach to the treatment of peritonitis: an experimental study in rats. **Br. J. Surg.**, v.71, p.715-7, 1984.
- MINOSSI, J.G., LEITE, C.V.S. NARESSE, L.E., RODRIGUES, M.A.M., BURINI, R.C., KOBAYASI, S. Ação do diclofenaco de sódio em anastomoses realizadas no cólon distal de ratos. **Acta Cir. Bras.**, v.11, p.116-20, 1996.
- MINOSSI, J.G., LEITE, C.V.S. NARESSE, L.E., RODRIGUES, M.A.M., CURI, P.R., KOBAYASI, S. Ação do diclofenaco de sódio em anastomoses realizadas no intestino delgado de ratos. **Acta Cir. Bras.**, v.13, p.37-43, 1998.
- MINOSSI, J.G., NARESSE, L.E., LEITE, C.V.S., RODRIGUES, M.A.N., ANGELELI, M.A.Y., CURY, P.R., KOBAYASI, S. Peritonite fecal no rato. Alterações da parede do cólon distal. Estudo biomecânico e anatomopatológico. **Acta. Cir. Bras.**, v.9, p.16-8, 1994.
- MIYAKE, H., TAZUMA, S., MIURA, H., YAMASHITA, G., KAJIYAMA, G. Partial characterization of mechanisms of cytoprotective action of hydrophilic bile salts against hydrophobic bile salts in rats. Relation to canalicular membrana fluidity and parking density. **Dig. Dis. Sci.**, v.44, p.197-202, 1999.
- MORRISON, B.W., CHRISTENSEN, S., YUAN, W., BROWN, J., AMLANI, S., SEIDENBERG, B. Analgesic efficacy of cyclooxygenase-2 Specific inhibitor

rofecoxib in post-dental surgery pain: a randomized, controlled trial. **Clin. Ther.**, v.21, p.943-53, 1999.

MORRISON, B.W., DANIELS, S.E., KOTEY, P., CANTU, N., SEIDENBERG, B. Rofecoxib, a specific cyclooxygenase-2inhibitor, in primary dysmenorrhea: a randomized controlled trial. **Obstet. Gynecol.**, v.94, p.504-8, 1999.

MUNDAY, C., Mc GINN, F.P. A comparison of polyglycolic acid and catgut sutures in rat colonic anastomoses. **Br. J. Surg.**, v.63, p.870-2, 1976.

MYSLER, E. Lumiracoxib (Prexige®): a new selective cox-2 inhibitor. **Int. J. Clin. Pract.**, v.58, p.606-11, 2004.

NARESSE, L.E., LEITE, C.V.S., MENDES, E.F., KOBAYASI, S., RODRIGUES, M.A.M. Estudo comparativo de anastomose gastrojejunal em um e dois planos de sutura contínua, em cães. Estudo endoscópico e anatomopatológico. **Rev. Bras. Cir.**, v.77, p.295-300, 1987.

NARESSE, L.E., LEITE, C.V.S., RODRÍGUEZ, M.A.M., ANGELELI M.A.Y., MINOSSI, J., KOBAYASI, S. Efeito da peritonite fecal na cicatrização do cólon distal no rato: avaliação anatomopatológica, estudo da força de ruptura e da hidroxiprolina tecidual. **Acta. Cir. Bras.**, v.8, p.48-53, 1993.

NARESSE, L.E., LUCCHIARI, P.H., KOBAYASI, S. Estudo da resistência (força de ruptura) das anastomoses intestinais em plano único e em dois planos. **Rev. Bras. Cir.**, v.78, p.247-50, 1988.

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

NELSON, P.G., DUDLEY, H.A.F. The tensile strength of small bowel anastomoses in the dog. **Aust. N. Z. J. Surg.**, v.37, p.73-4, 1967.

PATRONO, C., PATRIGNANI, P., RODRIGUEZ, L.A.G. Cyclooxygenase selective inhibition of prostanoid formation, transducing biochemical selectivity into clinical read-out. **J. Clin. Invest.**, v.108, p.7-13, 2001.

PETERS, T.J., BJARNASON, I. Uses and abuses of intestinal permeability measurements. **Can. J. Gastroenterol.**, v.2, p.127-32, 1988.

- POWELL, D.W. Barrier function of epithelia. **Am. J. Physiol.**, v.241, p.275-88, 1981.
- PRANDI FILHO, W., SIMÕES, M. J., KULAY JUNIOR, L., GOLDENBERG, S. Aspectos morfológicos e morfométricos do processo inflamatório provocados por fio de algodão no subcutâneo de ratos tratados com Diclofenaco Sódico. **Acta Cir. Bras.**, v.3, p.32-7, 1988.
- PRESCOTT, M. F. , McBRIDE, C. K. , VENTURINI, C. M. , GERHARDT, S. C. Leukocyte stimulation of intimal lesion formation is inhibited by treatment with Diclofenac Sodium and Dexamethasone. **J Cardiovas. Pharmacol.**, v.14, suppl.6, p.S76-S81, 1989.
- REDFERN, J.S., BLAIR, A.J., LEE, E., FELDMAN, M. Gastrointestinal ulcer formation in rabbits immunized with prostaglandin E₂. **Gastroenterology**, v.93, p.744-52, 1987.
- REDFERN, J.S., FELDMAN, M. Role of endogenous prostaglandins in preventing gastrointestinal ulceration: induction of ulcers by antibodies to prostaglandins. **Gastroenterology**, v.96, p.596-605, 1989.
- REUTER, B.K., DAVIES, N.M., WALLACE, J.L. Nonsteroidal anti-inflammatory drug enteropathy in rats: role of permeability, bacteria, and enterohepatic circulation. **Gastroenterology**, v.112, p.109-17, 1997.
- ROBERT, A. An intestinal disease produced experimentally by a prostaglandin deficiency. **Prostaglandins**, v.69, p.1045-7, 1975.
- SAGAWA, H., TAZUMA, S., KAJIYAMA, G. Protection against hydrophobic bile salt-induced cell membrane damage by liposomes and hydrophilic bile salts. **Am. J. Physiol.**, v.264, p.835-9, 1993.
- SIGTHORSSON, G., CRANE, R., SIMON, T., HOOVER, M., QUAN, H., BOLOGNESE, J., BJARNASON, I. COX-2 inhibition with rofecoxib does not increase intestinal permeability in healthy subjects: a double blind crossover study comparing rofecoxib with placebo and indomethacin. **Gut**, v.47, p.527-32, 2000.
- SILVERSTEIN, F.E., FAICH, G., GOLDSTEIN, J.L., SIMON, L.S., PINCUS, T., WHELTON, A., MAKUCH, R., EISEN, G., AGRAWAL, N.M., STENSON, W.F., BURR, A.M., ZHAO, W.W., KENT, J.D., LEFKOWITH, J.B., VERBURG, K.M.,

- GEIS, G.S. Gastrointestinal toxicity with celecoxib cs NSAID for osteoarthritis and rheumatoid arthritis in the CLASS study. **JAMA**, v.284, p.1247-55, 2000.
- SIMON, L.S. COX 2 inhibition: an advance or only pharmaceutical "hype"? **Arthritis Care Res.**, v.45, p.209-15, 2001.
- SIROIS, J., RICHARDS, J.S. Purification and characterization of a novel distinct, isoform of prostaglandin endoperoxide synthase induced by human chorionic gonadotropin in granulose cells of rat preovulatory follicles. **J. Biol. Chem.**, v.267, p.6382-8, 1992.
- SMALE, S., TIBBLE, J., SIGTHORSSON, G., BJARNASON, I. Epidemiology and differential diagnosis of NSAID-induced injury to the mucosa of the small intestine. **Best Pract. Res. Clin. Gastroenterol.**, v.15, p.723-38, 2001.
- SOARES, J.F., SIQUEIRA, A.L. **Introdução à estatística médica**. 1. ed. Belo Horizonte, 1999. vii, 300p.
- SOBERA, L.A., LEESON, P.A., CASTAÑER, J. Rofecoxib. **Drugs Future**, v.23, p.1287-96, 1998.
- SOUZA, A.W.S., BRAGA JR, J.W.R., SZEJNFEID, V.L. Inibidores específicos da COX 2: inócuos para o rim? **Rev. Bras. Reumatol.**, v.40, p.245-50, 2000.
- STROMBERG, B. V., KLEIN, L. Collagen formation during the healing of colonic anastomoses. **Dis. Colon Rectum**, v.25, p.301-4, 1982a.
- STROMBERG, B. V., KLEIN, L. Localized healing of small intestinal anastomoses. **Am. Surg.**, v.48, p.579-81, 1982b.
- SUN, Z.W., WANG, X.D., DENG, X.M., WALLÉN, R., GEFORS, L., HALLBERG, E., ANDERSSON, R. The influence of circulatory and gut luminal challenges on bidirectional intestinal barrier permeability in rats. **Scand. J. Gastroenterol.**, v.32, p.995-1004, 1997.
- TOGNINI, J.R.F., GOIDENBERG, S., NARESSE, L.E., SIMÕES, M.J., AIVES, F.L.G., MAGALHÃES, A.M. Estudo comparativo entre a sutura contínua e a com pontos separados na parede abdominal de ratos. **Acta. Cir. Bras.**, v.12, p.249-54, 1997.

- TRONCON, L.E.A., PIRES, C.R., KRAUS, O.A., IAZIGI, N. Estudo da permeabilidade intestinal pelo teste do Cr-EDTA: utilidade clínica na detecção de alterações estruturais do epitélio do intestino delgado. **Arq. Gastroenterol.**, v.33, p.66-73, 1996.
- UCHIDA, A., YAMADA, T., HAYAKAWA, T., HOSHINO, M. Taurochenodeoxycholic acid ameliorates and ursodeoxycholic acid exacerbates small intestinal inflammation. **Am. J. Physiol.**, v.272, p1249-57, 1997.
- ÚDEN, P. BLOMQUIST, P., JIBORN, H., ZEDERFELDT, B. Influence of proximal colostomy on the healing of a left colon anastomosis; an experimental study in the rat. **Br. J. Surg.**, v.75, p.325-9, 1988.
- URIBE, A., ALAM, M., WINELL-KAPRAALI, M. Indomethacin inhibits cell proliferation and increase cell losses in rat gastrointestinal epithelium. **Dig. Dis. Sci.**, v.40, p.2490-4, 1995.
- VAINIO, H., MORGAN, G. Aspirin for the second hundred years: new uses for an old drug. **Pharmacol. Toxicol.**, v.81, p.151-2, 1997.
- VANE, J.R. Anti-inflammatory drugs and the many mediators of inflammation. **Int. J. Tissue. React.**, v.9, p. 1-14, 1987.
- VANE, J.R. Inhibition of prostaglandin synthesis as a mechanism of action for the aspirin-like drugs. **Nature**, v. 231, p.232-5, 1971.
- VANE, J.R. Introduction: mechanism of action of NSAIDs. **Br. J. Rheumatol.**, v.35, suppl 1, p.1-3, 1996.
- VERDERESE, L.R.M., NARESSE, L.E., LEITE, C.V.S., MERCADANTE, M.C.S., SADATSUME, T., CURI, P.R., BURINI, R.C., KOBAYASI, S. Ação do diclofenaco de sódio, após a interrupção da peritonite estercorácea, no cólon de ratos. Estudo da resistência mecânica e do colágeno tecidual. **Rev. Hosp. Clin. Fac. Med. S. Paulo**, v.50, p.254-8, 1995.
- VERDERESE, L.R.M. **A influência do diclofenaco de sódio na peritonite bacteriana tratada com lavagem da cavidade abdominal e gentamicina. Estudo da translocação bacteriana.** Botucatu, 1999. 195p. Tese (doutoramento) – Faculdade de Medicina, Universidade Estadual Paulista.

WALLACE, J.L. Nonsteroidal anti-inflammatory drugs and gastroenteropathy the second hundred years. **Gastroenterology**, v.112, p.1000-16, 1997.

WANG, X.D., ANDERSSON, R. Intestinal brush border membrane function. **Scand. J. Gastroenterol.**, v.29, p.289-99, 1994.

WHITTLE, B.J.R., HIGGS, G.A., EAKINS, K.E., MONCADA, S., VANE, J.R. Selective inhibition of prostaglandin production in inflammatory exudates and gastric mucosa. **Nature**, v.284, p.271-3, 1980.

WHITTLE, B.J.R., Temporal relationship between cyclooxygenase inhibition, as measured by prostacyclin biosynthesis, and the gastrointestinal damage induced by indomethacin in the rat. **Gastroenterology**, v.80, p.94-8, 1981.

WILSON, D.E. Role of prostaglandins in gastroduodenal mucosal protection. **J. Clin. Gastroenterol.**, v.13, suppl., p.S65-S71, 1991.

ZUCKNER, J. International experience with diclofenac in rheumatoid arthritis. **Am. J. Med.**, v.80, suppl.4B, p.39-42, 1986.