

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA – UNESP

CÂMPUS DE JABOTICABAL

**AVALIAÇÃO CLÍNICA E LABORATORIAL DE EQUINOS
SUBMETIDOS À ENTEROTOMIA DE CÓLON
DESCENDENTE COM APLICAÇÃO OU NÃO DE
BIOMATERIAL**

Helena Cristina Delgado Brito

Médica Veterinária

2019

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA – UNESP

CÂMPUS DE JABOTICABAL

**AVALIAÇÃO CLÍNICA E LABORATORIAL DE EQUINOS
SUBMETIDOS À ENTEROTOMIA DE CÓLON
DESCENDENTE COM APLICAÇÃO OU NÃO DE
BIOMATERIAL**

Discente: Helena Cristina Delgado Brito

Orientador: Prof. Dr. Aureo Evangelista Santana

Coorientadora: Dra. Letícia Abrahão Anai

**Tese apresentada à Faculdade de
Ciências Agrárias e Veterinárias –
Unesp, Câmpus de Jaboticabal, como
parte das exigências para a obtenção do
título Doutora em Cirurgia Veterinária.**

2019

B862a Brito, Helena Cristina Delgado

Avaliação clínica e laboratorial de equinos submetidos à enterotomia de cólon descendente com aplicação ou não de biomaterial / Helena Cristina Delgado Brito. -- Jaboticabal, 2019
87 p. : il., tabs.

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista (Unesp),
Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal
Orientador: Aureo Evangelista Santana
Coorientadora: Letícia Abrahão Anai

1. Aderências intestinais. 2. Alteplase. 3. Carboximetilcelulose. 4.
Gastrenterologia equina. 5. Videolaparoscopia. I. Título.

Sistema de geração automática de fichas catalográficas da Unesp. Biblioteca da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal. Dados fornecidos pelo autor(a).

Essa ficha não pode ser modificada.

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO DA TESE: AVALIAÇÃO CLÍNICA E LABORATORIAL DE EQUINOS SUBMETIDOS À ENTEROTOMIA DE CÓLON DESCENDENTE COM APLICAÇÃO OU NÃO DE BIOMATERIAL

AUTORA: HELENA CRISTINA DELGADO BRITO

ORIENTADOR: AUREO EVANGELISTA SANTANA

COORDINADORA: LETÍCIA ABRAHÃO ANAI

Aprovada como parte das exigências para obtenção do Título de Doutora em CIRURGIA VETERINÁRIA, pela Comissão Examinadora:



Prof. Dr. AUREO EVANGELISTA SANTANA

Departamento de Clínica e Cirurgia Veterinária / FCAV / UNESP - Jaboticabal



Dra. DANIELA GOMES DA SILVA

Médica Veterinária Autônoma / Jaboticabal/SP



Profa. Dra. PAOLA CASTRO MORAES

Departamento de Clínica e Cirurgia Veterinária / FCAV / Unesp - Jaboticabal



Profa. Dra. THAIS GOMES ROCHA

Departamento de Clínica Veterinária-FMVZ/UNESP / Botucatu/SP



Prof. Dr. PAULO ALESCIO CANOLA

Departamento de Clínica e Cirurgia Veterinária / FCAV / UNESP - Jaboticabal

Jaboticabal, 01 de fevereiro de 2019

DADOS CURRICULARES DO AUTOR

HELENA CRISTINA DELGADO BRITO - nascida na cidade do Rio de Janeiro, RJ, no dia 03 de setembro de 1984, filha de Mário Luiz de Barros Brito e Sandra Maria Delgado Brito. Médica Veterinária graduada pela Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, com início em agosto de 2005 e término em dezembro de 2010. Ingressou no curso de mestrado do Programa de Pós-graduação em Medicina Veterinária nesta mesma Universidade em março de 2011 com bolsa da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), sob orientação do Professor Doutor Guilherme de Camargo Ferraz, obtendo título de mestre com a dissertação “Alterações no equilíbrio ácido-base em equinos submetidos à prova de três tambores ou à competição de enduro de 160 km”. Possui especialização em Docência no Ensino Superior pelo Serviço Nacional de Aprendizagem Comercial – SENAC. Atualmente é doutoranda do programa de Pós-graduação em Cirurgia Veterinária, sob orientação do Professor Doutor Áureo Evangelista Santana e financiada em forma de bolsa pela CAPES, e em forma de auxílio regular e bolsa pela Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP – processos números 2015/17504-7 e 2016/09713-8).

“Temos mais amigos do que imaginamos. Quem tem amigo do bem, tem tudo! Tem Deus ao lado. Deus age para o bem através de bons amigos.”
Victor Hugo Deppman

Dedico:

À minha mãe, meu marido e meus filhos.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, que durante o caminho mostrou-me que sim, Ele está lá por mim, mesmo durante as várias vezes nas quais duvidei que merecia seu amor.

À minha Mãe eu agradeço por todo o apoio durante toda a minha vida, que foi certamente indispensável. Você que segurou toda a minha carga emocional, as minhas incertezas, me colocou pra frente, me incentivando, me dizendo o quanto eu era capaz e que eu jamais duvidasse disso. Durante essa longa caminhada você esteve lá pra mim constantemente, mesmo tendo outras tarefas, tomou para si o papel de mãe do meu primogênito (Lucas) para que eu pudesse terminar essa pesquisa. Te amo mãe.

Ao meu Pai (em memória) por ter me ensinado muitos valores, que me norteiam até hoje, tanto na vida pessoal quanto na profissional. Agradeço por ter me dado tanto amor e carinho durante minha juventude. Não me esqueço do dia em que discutíamos a escolha da profissão e ouvi palavras de incentivo que me motivam até hoje e histórias que inspiram meu caminho.

Às minhas Irmã Liz e ao meu sobrinho Matheus, por estarem sempre presentes nos momentos difíceis para me alegrar. Amo vocês.

Às minhas irmãs Anna e Sandra, por estarem sempre torcendo por mim, e sendo exemplos a distância. Mesmo que a convivência nos tenha faltado, amo vocês.

Ao meu companheiro Fabio, que esteve sempre comigo durante esses 8 anos, sendo peça fundamental na minha jornada. Obrigada por cuidar do nosso filho (Heitor) dando a ele todo o amor e confortá-lo quando a minha ausência era sentida. Obrigada meu amor, por enfrentar tudo isso ao meu lado. Amor pra eternidade.

Meus filhos, Lucas e Heitor, tudo o que eu faço, faço por vocês. Nunca pensei que seria mãe de dois meninos tão maravilhosos. Me sinto honrada de poder conviver neste plano com vocês; vocês me ensinam diariamente que o amor é o único caminho certo nesta vida.

À minha família de Jaboticabal. Sem o apoio de vocês eu jamais chegaria onde cheguei.

Ao meu orientador, Prof. Dr. Aureo Evangelista Santana, por toda a confiança, amizade, consideração, além da orientação acadêmica. Um exemplo de profissional, humano e dedicado.

À minha coorientadora Doutora Letícia Abrahão Anai por todas as sugestões, pelo companheirismo, carinho e amizade.

À Doutora Luisa Gouvêa Teixeira pela idealização e confecção dos biomateriais desta pesquisa e também pelos anos de amizade.

Ao meu irmão de orientação Nathan, ou “Neithan”, por ter sido um verdadeiro parceiro, enfrentando ao meu lado todas as dificuldades, como se fossem suas e arrumando soluções para meus problemas, como se fossem seus. Minha eterna gratidão e amizade.

Ao meu novo amigo Fausto, cuja presença foi fundamental, não só para me ajudar no experimento em si, mas por sempre tentar me tornar uma pessoa melhor. Gratidão é pouco para expressar o quanto devo a você.

À Profa. Dra. Thais Gomes da Rocha, a irmã que a vida me deu, minha telha quebrada, você foi um dos melhores presentes que a pós-graduação me deu. Além da amizade, é um exemplo de mãe, de profissional, e é uma daquelas pessoas que você quer sempre por perto! Te amo amiga!

À Camila Pinho Balthazar da Silveira, ou simplesmente Bya, a amiga que a vida colocou em meu caminho e se fez muito presente em vários aspectos da minha vida. Agradeço por todo o seu apoio! Sua família passou a ser minha família também, me trazendo muita alegria e amor. Te amo mulher.

À minha equipe, Fausto, Nathan, Caio, Marina, Yuri, Samara, Renatinha, Duda e, Michelly. Foi maravilhoso poder contar com a ajuda de vocês! Aprendi muito e tive muita sorte de poder contar com pessoas tão incríveis e inteligentes. Obrigada por todas as risadas e alegria que vocês trouxeram para a minha vida durante esse experimento.

À Dra. Mayara Gonçalves Fonseca, minha amiga e companheira de projetos insanos, muito obrigada por toda a ajuda com a estatística e também por sempre me motivar com tanto carinho.

À equipe da fase experimental dos leporinos (vulgo periquelhas), Luisa Gouvea Teixeira, Juliellon Barata, Rozana Wendler da Rocha e Fernanda Martinato por todos os momentos de aprendizado, sempre com muita diversão.

À equipe do LPCV, Fernanda, Patrícia (Jabalinha), Luis Fernando, Amanda, Aninha, Frederico, Livia, Daniel, Edmilson, Karol, Gi e Juliana. Vocês são outra família que eu construí durante esse ciclo de vida. Foram muito ensinamentos, amizade, compreensão.

À Profa. Dra. Michelly Fernandes Macedo, pelas sugestões durante e a banca de qualificação e por toda a ajuda durante a execução desse experimento. Não posso deixar de agradecer por toda a amizade, força e carinho que me foi dado durante toda a sua estadia aqui.

Às minhas amigas, Kalina (e Maya), Mônica (e Laurinha e Bianca), por terem me dado apoio, vocês foram muito importantes em diversos momentos para mim.

A todos os meus amigos do Rio de Janeiro, que deixaram essa caminhada mais leve através de nossas conversas, risadas e encontros esporádicos. Mesmo com a distância vocês sempre se fizeram presentes em minha vida.

À Doutora Daniela Gomes da Silva por toda a ajuda e paciência na realização da técnica de elisa, e também pela participação na banca de defesa.

Ao Prof. Dr. Carlos Augusto Araújo Valadão pela disponibilização da estrutura do Laboratório de Anestesiologia Experimental de Grandes Animais da FCAV/UNESP (LAEGA), para a realização dos procedimentos cirúrgicos e alojamento dos animais, e também pela amizade, pelos valiosos conselhos e confiança.

Ao Prof. Dr. Paulo Alécio Canola pela sua valiosa contribuição na realização desta tese, com sua experiência profissional, equipamentos, participação na banca de defesa, amizade e conselhos.

À Profa. Dra. Paola de Castro Moraes, por toda a contribuição durante a execução do projeto (desde a fase experimental com leporinos), pela participação na banca de defesa e por toda a gentileza com a qual sempre me recebeu, no estágio de docência e no dia a dia.

Ao Dr. Bruno Biagioli e ao Prof. Dr. Alex Sandro Campos Maia por terem gentilmente cedido o espaço físico para o alojamento dos equinos.

Aos funcionários Odair Oian (Deko) e Edson, por terem realizado o trato dos animais com tanto carinho e dedicação.

Aos Residentes do setor de Grandes Animais, Carol, Mayara, Thaisa, Pedro, Gabriel e Anna pela ajuda durante a utilização das instalações do hospital veterinário.

Aos funcionários da esterilização, Joseane e Marcelo que sempre foram mais do que solícitos, dispensaram seu tempo e amizade na correria deste experimento.

Ao Funcionário Paulo pela realização de todas as eletroforeses de forma rápida e eficiente e também pela amizade.

À supervisão e aos funcionários do Hospital Veterinário por darem todo o apoio necessário para a realização deste experimento.

Aos alunos de iniciação científica Caroline Karmensek, Rafaela Kapritchkoff e Matheus Serrano que desde o início despuseram seu tempo e energia nos cuidados dos animais, muito obrigada.

Às “meninas”, as éguas que permitiram a realização deste experimento: Olhos Claros, Dina, Xuxa, Angélica, Quebrada, Cinquenta (50), Cindy, Margie, Cabecinha, Pampa Véia, Sênior, Sky, Dondoka, Piratinha Garçona, Zaina, Tristeza, Britney, Mayada, Mulan, Selma, Paty, Vovó Zilda, Prenhuda (Glória) e Daciolinho (surpresinha). Conviver com vocês foi um dos maiores aprendizados que a vida pôde me proporcionar. O amor por cavalos me fez chegar até aqui, e ao conviver com vocês, mesmo em meio a coices e mordidas, aprendi muito como ser humano e como médica veterinária.

Agradeço a todos que possam ter contribuído direta ou indiretamente para a execução deste trabalho e que por ventura não tenham sido citados aqui.

A Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo, pelo financiamento integral desta pesquisa. Processo FAPESP 2015/17504-7 (auxílio regular) e 2016/09713-8 (bolsa de doutorado).

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001 (Processo nº 1542519 – bolsa de doutorado).

SUMÁRIO

	Página
Certificado da Comissão De Ética No Uso De Animais.....	iii
RESUMO.....	iv
ABSTRACT	v
LISTA DE ABREVIATURAS	vi
CAPÍTULO 1 – Considerações gerais.....	1
1.1 Introdução.....	1
1.2 Revisão de literatura	2
1.2.1 Trauma cirúrgico e resposta tecidual.....	2
1.2.2 Incidência das aderências pós-cirúrgicas em equinos	4
1.2.3 Estratégias profiláticas	5
1.3 Referências.....	7
CAPÍTULO 2 - PARÂMETROS CLÍNICOS, HEMATOLÓGICOS E PERITONEAIS DE ÉGUAS SUBMETIDAS À ENTEROTOMIA DE CÓLON MENOR COM APLICAÇÃO DE BIOMATERIAL ASSOCIADO OU NÃO À ALTEPLASE.....	11
RESUMO	12
1.INTRODUÇÃO.....	14
2.MATERIAL E MÉTODOS.....	16
2.1 Equinos e delineamento experimental.....	16
2.2 Procedimentos cirúrgicos	16
2.3 Cuidados pós-operatórios.....	20
2.4 Coleta de material biológico	21
2.5 Exame físico	22
2.6 Avaliação hematológica.....	22
2.7 Avaliação do líquido peritoneal.....	23
2.8 Aderências.....	23
2.9 Análise estatística.....	24
3.RESULTADOS.....	24
3.1 Exame físico	24
3.2 Avaliação hematológica.....	31

3.3	Líquido peritoneal	42
3.4	Aderências.....	53
4.	DISCUSSÃO	55
5.	REFERÊNCIAS	62

Certificado da Comissão De Ética No Uso De Animais



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"
Câmpus de Jaboticabal



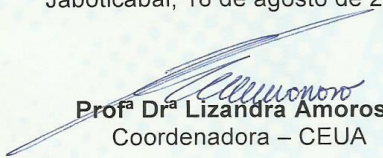
CEUA – COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS

CERTIFICADO

Certificamos que o projeto intitulado **"Aspectos clínicos, laboratoriais e cirúrgicos de equinos submetidos à anastomose do cólon descendente com aplicação ou não de biomaterial"**, protocolo nº 11.684/16, sob a responsabilidade do Prof. Dr. Áureo Evangelista Santana, que envolve a produção, manutenção e/ou utilização de animais pertencentes ao Filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto o homem), para fins de pesquisa científica (ou ensino) - encontra-se de acordo com os preceitos da lei nº 11.794, de 08 de outubro de 2008, no decreto 6.899, de 15 de junho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA), e foi aprovado pela COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS (CEUA), da FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS, UNESP - CÂMPUS DE JABOTICABAL-SP, em reunião ordinária de 18 de agosto de 2016.

Vigência do Projeto	15/09/2016 a 01/01/2018
Espécie / Linhagem	Equídeo / SRD - Leporídeo / Nova Zelândia Branco
Nº de animais	48 animais, sendo: 24 equídeos / 24 leporídeos
Peso / Idade	Equídeo: 350kg / 4 a 15 anos - Leporídeo: 3kg / 180 a 240 dias
Sexo	Machos e fêmeas
Origem	Fazenda de criação (equinos) Biotério Unesp/Botucatu, SP (coelhos).

Jaboticabal, 18 de agosto de 2016.


Prof.ª Dr.ª Lizandra Amoroso
Coordenadora – CEUA

AVALIAÇÃO CLÍNICA E LABORATORIAL DE EQUINOS SUBMETIDOS À ENTEROTOMIA DE CÓLON DESCENDENTE COM APLICAÇÃO OU NÃO DE BIOMATERIAL

RESUMO - As aderências intra-abdominais são complicações presentes após cirurgias do trato gastrointestinal dos equinos, sendo originadas por processos inflamatórios na cavidade abdominal. As aderências resultam do desequilíbrio entre os inibidores e ativadores da fibrinólise, que são mediados por diversas citocinas. Pelo presente buscou-se avaliar as alterações clínicas e laboratoriais, além de observar a formação ou não de aderências intestinais em equinos submetidos à infusão de alteplase e implantação de biomaterial composto por carboximetilcelulose (CMC) e poli (álcool vinílico) (PVA) ou por CMC e PVA impregnado com alteplase, após enterotomia do cólon descendente. Foram utilizados 16 equinos adultos, hígidos, fêmeas, sem raça definida, entre quatro e 15 anos de idade distribuídos aleatoriamente em quatro grupos: grupo controle (GC); grupo tratado 1 (GT1) submetido à infusão de alteplase na cavidade peritoneal; GT2, submetido à implantação de biomaterial na serosa e GT3 submetido a implantação de biomaterial contendo alteplase na serosa. Todos os animais foram submetidos à laparotomia em posição quadrupedal, com acesso pelo flanco esquerdo, para realização da enterotomia na borda antimesentérica do cólon descendente. Os parâmetros clínicos foram avaliados diariamente, durante 12 dias. No décimo quarto dia pós-enterotomia, foi realizada videolaparoscopia para a constatação da presença ou não de aderências. Colheitas de sangue venoso jugular e líquido peritoneal foram realizadas no período pré-operatório (M0) e um (M1), três (M3), cinco (M5), sete (M7), nove (M9) e onze (M11) dias após a enterotomia, para análise laboratorial. Os dados obtidos foram avaliados por meio de análise de variância de duas vias, seguido de teste de Tukey para comparação das médias. Dentre as variáveis clínicas, verificou-se a diminuição da temperatura retal no GT3 nos momentos M5 e M12. A motilidade diminuiu em todos os grupos nos três primeiros dias pós-cirúrgicos (M1, M2 e M3). Os valores de hematócrito (Ht) apresentaram diminuição no M1 quando comparados ao M0, sendo o grupo GT3 apresentou o menor valor de Ht quando comparado aos GC e GT1. A porcentagem de células T CD4+ diminuiu no GT1 no M1, comparado ao GT2, e no M9, GC apresentou menor valor quando comparado ao GT1. Os animais apresentaram neutrofilia, linfopenia e eosinopenia em M1, seguidos de leucopenia em M3 e M5. Na análise de líquido peritoneal (LP) notou-se a redução dos valores de pH e glicose no M1, e aumento do lactato e proteína total (PT) no M1. As contagens de células nucleadas e neutrófilos do LP aumentaram em todos os momentos quando comparados ao M0. Observou-se a presença de aderências em 50% dos animais dos grupos GC, GT1, GT2 e 100% do grupo GT3. A infusão de alteplase, biomaterial de CMC+ PVA e biomaterial de CMC + PVA + alteplase não apresentaram resultados satisfatórios na prevenção de aderências intestinais em equinos.

Palavras-chave: aderências intestinais, alteplase, carboximetilcelulose, gastroenterologia equina, poli (álcool vinílico), videolaparoscopia

CLINICAL AND LABORATORIAL EVALUATION IN HORSES SUBJECTED TO ENTEROTOMY OF DESCENDING COLON UNDERGOING BIOMATERIAL APPLICATION

ABSTRACT - Intra-abdominal adhesions are a complication after gastrointestinal tract surgery in equines, originated by inflammatory processes in the abdominal cavity. Adhesions usually result from the imbalance between fibrinolysis inhibitors and activators, which are activated by several chemokines. The aim of this study is to evaluate the clinical and laboratorial alterations and observe the development of intestinal adhesions after descending colon enterotomy of equine undergoing application or not of biomaterial composed by carboxymethyl cellulose (CMC) and polyvinil alcohol (PVA) or CMC and PVA impregnated with alteplase. Sixteen healthy crossbred mares, mixed breed, aged between 4 and 15 years randomly allotted in 4 groups: control group (CG), treated group 1 (TG1), which received abdominal alteplase infusion, treated group 2 (TG2), which received a biomaterial implant on the colon serosa and treated group 3 (TG3), which received the biomaterial containing alteplase implant on the colon serosa, were used in this study. All animals were subjected to left flank laparotomy and descending colon enterotomy. Clinical parameters were evaluated daily for 12 days (M0 – M12). On the 12th day post-surgery, videolaparoscopy was performed to evaluate whether there was or not abdominal adherences. Venous jugular blood and peritoneal fluid samples were collected for laboratorial analysis during immediate preoperative period (M0) and 1 (M1), 3 (M3), 5 (M5), 7 (M7), 9 (M9) and 11 (M11) days after the enterotomy. In the clinical parameters, rectal temperature decreased in TG3 in M5 and M12. Intestinal motility decreased in the first three days post-surgery (M0, M1 and M3) for all groups. Hematocrit values decreased in M1 when compared to M0, and TG3 presented the lower value when compared to CG and TG1. Equines presented neutrofilia, lymphopenia and eosinopenia in M1, followed by leukopenia in M3 and M5. Peritoneal fluid analysis revealed reduction in pH values and glucose concentration in M1, and an increase in lactate concentration and total protein in M1. Nucleated cells total count and neutrophil counts in peritoneal fluid increased in all moments when compared to M0. Abdominal adhesions were present in 50% of CG, TG1 and TG2 groups, and 100% in TG3. Alteplase infusion, biomaterial, and biomaterial containing alteplase did not produce satisfactory results regarding preventing intestinal adhesions in horses.

Keywords: alteplase, carboxymethyl cellulose, equine gastroenterology, intestinal adhesions, polyvinil alcohol, videolaparoscopy

LISTA DE ABREVIATURAS

bpm – Batimentos por minuto
CD4 – Cluster of differentiation
cm- Centímetros
CMC - Carboximetilcelulose
CO₂ – Dióxido de carbono
dL – Decilitro
EDTA – Ácido etilenodiaminotetracético
FC – Frequência cardíaca
FR – Frequência respiratória
GC – Grupo controle
G – Força gravitacional
GT1 – Grupo tratado 1
GT2 – Grupo tratado 2
GT3 – Grupo tratado 3
HA-CMC – Hialuronato de sódio – Carboximetilcelulose
Hb – Hemoglobina
He – Hemácias
Ht – Hematócrito
IL – Interleucina
mg – Miligramas
mL – Mililitros
mm – Milímetros
mmHg – Milímetros de mercúrio
mpm – Movimentos por minuto
PBS – Tampão salino fosfato
pH – potencial hidrogeniônico
PVA – Poli (vinil alcóolico)
rt-tPA – Plasminogênio tecidual recombinante
TPC – Tempo de preenchimento capilar

UI – Unidades internacionais

μL - Microlitros

CAPÍTULO 1 – Considerações gerais

1.1 Introdução

O abdome agudo ou síndrome cólica, é uma das principais afecções que acometem os equinos, frequentemente culminando com sua hospitalização. Apesar das manifestações clínicas semelhantes, as causas, evolução e prognóstico podem ser completamente distintos. A maioria dos episódios de cólica se resolvem sem qualquer intervenção, contudo, em alguns casos procedimentos cirúrgicos são necessários para garantir a sobrevivência do paciente. Mesmo com o aprimoramento no diagnóstico, nas técnicas anestésicas, cirúrgicas e no acompanhamento intensivo pós-cirúrgico, a incidência de complicações e mortalidade ainda permanece elevada.

O cólon descendente está envolvido em cerca de 3-4% dos casos cirúrgicos, e suas etiologias mais comuns são as compactações e presença de enterólitos. A alta taxa complicações pós-cirúrgicas neste segmento, sugere que alguns fatores como a alta atividade de collagenase, alta contagem bacteriana e baixo suprimento sanguíneo possam contruibuir para um desfecho negativo. As aderências intestinais fazem parte das potenciais complicações pós-cirúrgicas e são formadas após cicatrização peritoneal anormal. O que normalmente ocorre após o dano tecidual primário é a deflagração do processo de coagulação, com a deposição de monômeros de fibrina, juntamente com a migração de células inflamatórias, como neutrófilos e, posteriormente, macrófagos. Se a cicatrização normal ocorrer, a área afetada é restaurada a uma monocamada contínua de células mesoteliais no período de sete a dez dias.

Se a inflamação local persistir, há liberação de fatores de crescimento e citocinas que irão conferir fenótipo miofibroblástico às células mesoteliais, formando assim uma ponte fibrosa entre os tecidos. Ainda não se sabe exatamente que fatores alteram a cicatrização peritoneal e o mecanismo pelos quais a formação de aderências ocorre, porém alguns fatores são apontados como facilitadores, como trauma cirúrgico, inflamação, hemorragia, corpos estranhos (i.e. suturas, talco de luva). As

aderências se desenvolvem pela interação do sistema fibrinolítico, deposição de matriz extracelular e remodelamento e sistema inflamatório.

As aderências intestinais representam grande dificuldade enfrentada em diversas áreas da medicina, tanto humana quanto veterinária. Na gastroenterologia equina, as aderências abdominais possuem grande importância, uma vez que podem levar a complicações pós-cirúrgicas que afetam a taxa de sobrevivência do paciente em curto e longo prazo. É consenso na literatura que a remoção cirúrgica das aderências não apresenta bons resultados, podendo acarretar a formação de novas aderências. Por este motivo, os principais esforços em relação às aderências intestinais estão focados em ações profiláticas.

Muitas estratégias vêm sendo utilizadas visando a não formação de aderências. Dentre elas estão as barreiras físicas, tais como membranas, géis ou soluções e as barreiras químicas, compostas por agentes anti-inflamatórios, agentes trombolíticos ou anticoagulantes e antioxidantes. Atualmente, há muita controvérsia em relação aos dados produzidos pelos tratamentos profiláticos disponíveis, como as membranas comerciais, que possuem baixo custo-benefício.

Diante do exposto, objetivou-se avaliar as respostas clínicas e laboratoriais de animais submetidos à enterotomia do cólon descendente com aplicação ou não de biomaterial e correlacionar com o desenvolvimento ou não de aderências abdominais.

1.2 Revisão de literatura

1.2.1 Trauma cirúrgico e resposta tecidual

Quando há um processo de injúria tecidual, como em uma cirurgia, há o desencadeamento da resposta inflamatória e, subsequentemente, o processo de reparação tecidual. A superfície serosa peritoneal é composta por células mesoteliais, que possibilitam a lubrificação das vísceras. Além disso, possuem atividade fibrinolítica e secretam citocinas primordiais ao processo de reparo tecidual (Brochhausen et al., 2012). No momento em que o procedimento cirúrgico é iniciado,

cria-se uma solução de continuidade na superfície serosa, seguida de sangramento, vasoconstrição reflexa e aumento da permeabilidade vascular (Brüggmann et al., 2010). Além da ativação da cascata de coagulação, culminando na deposição de fibrina, há também o recrutamento de células inflamatórias mediante estímulos quimiotáticos (Margetic, 2012; Reece, 2017).

As primeiras células a serem recrutadas são os neutrófilos segmentados, que permanecem no local da lesão por aproximadamente dois dias. A partir de 24 horas da lesão, o exsudato é composto predominantemente por macrófagos, que permanecem no coágulo fibrinoso por cerca de cinco a sete dias. Durante esta fase, ocorre a liberação de citocinas e fatores de crescimento que irão promover migração e proliferação de células mesoteliais, responsáveis pela cicatrização, que deverá ocorrer em sete a dez dias (Dizerega, 1990; Maciver et al., 2011). A partir do terceiro dia de injúria tecidual, a atividade fibrinolítica das células mesoteliais, atua na quebra dos depósitos de fibrina, para completar, dessa forma, a regeneração tecidual (Sulaiman et al., 2002).

Neste contexto da injúria peritoneal, mediadores importantes, denominados citocinas, são liberados pelos macrófagos teciduais e por monócitos e linfócitos sanguíneos (Murata et al., 2004), os quais desempenham papel decisivo na fisiopatogenia das aderências. Algumas dessas citocinas exibem caráter pró-inflamatório e, conseqüentemente, adesiogênico, como as interleucinas 1 (IL-1) e 17 (IL-17) (Aarvak et al., 1999; Chung et al., 2002). Esta última é produzida somente por linfócitos T ativados, sendo responsável por coordenar e regular as respostas quimiotáticas durante a inflamação, regulando assim o tráfego de células inflamatórias para a cavidade peritoneal. Chung et al. (2002) observaram a diminuição significativa no desenvolvimento de aderência intestinal em animais com depressão de células T.

Atribui-se a formação de aderências intestinais à diminuição da fibrinólise peritoneal, acarretando na persistência dos depósitos de fibrina. Estes atuarão como arcabouço para a formação de matriz extracelular e desenvolvimento de tecido fibrocolagenoso, que poderá permanecer mesmo após a quebra da fibrina (Ivarsson et al., 2001; Moris et al., 2017). Fisiologicamente, a fibrina é degradada pela plasmina, sendo a forma ativa do plasminogênio. O principal ativador do plasminogênio é o plasminogênio tecidual ativado (tPA), que é altamente expresso nas células

endoteliais, mesoteliais e macrófagos (Caldwell e Mueller, 2010; Mutsaers et al., 2015). A ação dos ativadores de plasminogênio é contrabalanceada pelos inibidores dos ativadores de plasminogênio (PAI-1 e PAI-2), sendo o PAI-1 o inibidor mais efetivo e possui alta expressão em células endoteliais, mesoteliais, macrófagos, plaquetas e fibroblastos. O desequilíbrio entre estes componentes pode ser uma das causas primárias da formação das aderências (Mueller, 2002).

As aderências intestinais se tornam um problema clínico para os equinos quando evoluem de fibrinosas para fibrosas restritivas, posto que comprimem ou alteram anatomicamente o intestino, impedindo o trânsito normal da ingesta, podendo resultar em refluxo. Adicionalmente, podem levar ao aumento de tensão nos mesentérios, ocasionando sinais de dor abdominal. A prevenção das aderências intestinais pode ser alcançada quando se altera o mecanismo fisiopatogênico de sua formação, associada à boa técnica cirúrgica. Assim, o escopo da prevenção das aderências intra-abdominais é minimizar a inflamação da camada serosa, manter ou promover a fibrinólise peritoneal, separar mecanicamente superfícies com potencial para se aderirem e, finalmente, estimular a motilidade intestinal (Palma e Foz Filho, 2005).

1.2.2 Incidência das aderências pós-cirúrgicas em equinos

Nos equinos, as aderências intestinais figuram entre as causas mais comuns de dor abdominal. Ainda assim, a incidência das aderências pós-operatórias pode estar subestimada, pois muitos equinos com cólica após cirurgia são submetidos à eutanásia sem que, posteriormente, seja realizada necropsia (Mueller, 2002; Freeman, 2018). Por este motivo poucos estudos relatam e refletem a real incidência das aderências em equinos. Gorvy et al. (2008) realizaram um estudo retrospectivo que identificou, após receliotomia, 32% de aderências intestinais, das quais 84% eram responsáveis por alterações clínicas. Neste mesmo estudo, observou-se que as aderências são mais comuns após cirurgias cuja afecção inicial ocorreu no intestino delgado (56%) e no cólon maior (44%). Como as aderências também podem ser encontradas em locais distantes da injúria inicial, sugere-se que sua formação possa não estar relacionada somente com o local da afecção, mas também com a inflamação após a cirurgia e outras lesões distantes da lesão primária (Alonso et al., 2014).

1.2.3 Estratégias profiláticas

É consenso na literatura médica e veterinária que, dentre as principais ações para minimizar a formação de aderências pós-cirúrgicas estão realização de boas técnicas cirúrgicas, rapidez e menor manipulação possível dos intestinos durante o procedimento cirúrgico (Rizzo et al., 2010; Alonso et al., 2014).

As aplicações de membranas biológicas e biomateriais são citadas como estratégias de prevenção da formação de aderências em áreas do intestino que apresentem propensão (Palma e Foz Filho, 2005). Tais áreas intestinais incluem aquelas de inflamação intestinal evidente, segmentos intestinais que tiveram a vascularização comprometida, mas permaneceram viáveis, e locais onde foram realizadas adesiólise. Ademais, relata-se, que as membranas biológicas e biomateriais são utilizados para recobrir e proteger o local da anastomose do intestino delgado e cólon descendente de potros e equinos adultos. Constitui-se então uma barreira protetora contra a formação de aderências entre superfícies serosas e destas com o peritônio, no período pós-operatório (Mueller, 2002).

Com relação às etapas do pós-operatório em pacientes equinos submetidos à enterotomia intestinal, a videolaparoscopia constitui ferramenta útil para avaliação da cavidade abdominal (Ragle, 2002) revelando-se como procedimento cirúrgico minimamente invasivo (Wilson, 2008). Desta forma, ao ser realizada em cavalos em posição quadrupedal, facilita o diagnóstico de desordens orgânicas com origem na porção dorsal do abdome, as quais podem não ser observadas por meio da celiotomia pela linha mediana ventral. Dentre estas desordens estão a hemorragia intra-abdominal, peritonite, aderência intestinal e abscessos abdominais. Logo, a videolaparoscopia também pode ser empregada após celiotomia, com o objetivo de avaliar a evolução pós-cirúrgica do paciente, permitindo visibilização da integridade e viabilidade da alça intestinal após anastomose (Ragle, 2002; Graham e Freeman, 2014).

O biomaterial é qualquer substância ou combinação de substâncias, sintética ou natural, usada por um período de tempo, completa ou parcialmente, como parte de um sistema que a trate, aumente ou substitua qualquer tecido, órgão ou função do corpo (Azevedo et al., 2007). Os biomateriais aplicados em tecidos intestinais humanos são produzidos a partir de diferentes polímeros, como o ácido hialurônico,

dextrano, celulose ou quitosana. Estes polissacarídeos são particularmente populares devido à sua origem de compostos biológicos, mostrando-se compatíveis com uma variedade de tecidos corpóreos. Adicionalmente, alguns fármacos podem ser incorporados aos biomateriais com o intuito de promover a liberação local de um medicamento específico, tratando de forma ainda mais eficaz o paciente (Yeo e Kohane, 2008).

A alteplase, um ativador de plasminogênio tecidual humano recombinante (rt-tPA), é uma glicoproteína que possui ação de ativação do plasminogênio em plasmina. Em infusões intravenosas, a substância permanece em latência sendo ativada somente quando em contato com a fibrina, induzindo assim a transformação de plasminogênio em plasmina, promovendo a dissolução da fibrina contida no coágulo. Quando administrado por via intravenosa, a alteplase permanece relativamente inativa no sistema circulatório. Uma vez ligada à fibrina, a substância é ativada, induzindo a conversão de plasminogênio em plasmina, que, por sua vez, promove a dissolução da fibrina do coágulo. Devido à sua especificidade relativa pela fibrina, uma dose de 100 mg promove uma modesta diminuição nos teores de fibrinogênio circulante, para cerca de 60% em quatro horas, o que é geralmente revertido para mais de 80% após 24 horas. O plasminogênio e a α 2-antiplasmina diminuem para cerca de 20% e 35%, respectivamente, após quatro horas, e aumentam novamente para mais de 80% em 24 horas. Uma diminuição acentuada e prolongada no teor de fibrinogênio circulante é observada somente em alguns pacientes (Actilyse®¹, bula profissional).

Diante dessas informações, a importância das afecções cirúrgicas do cólon descendente e a formação de aderências intestinais, especialmente em equinos, leva a crer que o estudo experimental da aplicação de biomaterial, após enterotomia do cólon descendente, poderá contribuir com a definição de variáveis clínicas, laboratoriais e cirúrgicas, na predição da reparação cicatricial intestinal. Adicionalmente, a consecução deste trabalho poderá fornecer informações relevantes quanto ao desenvolvimento e profilaxia das aderências pós-cirúrgicas aos profissionais que atuam na área de gastroenterologia equina.

¹ Actilyse® 50 mg, Boehringer Ingelheim do Brasil, Campinas, SP, Brasil

Desta forma, em função das escassas e contraditórias informações sobre aderências pós-cirúrgicas abdominais em equinos, idealizou-se este ensaio com o objetivo geral de desenvolver um modelo de biomaterial para aplicação na serosa intestinal, e verificar seu papel como fator limitante da formação de aderências intra-abdominais nos locais da enterotomia do cólon descendente, assim como determinar as possíveis alterações clínicas e laboratoriais, após a aplicação ou não do referido biomaterial, e subsidiariamente:

- Determinar a influência da implantação ou não do biomaterial associado ou não à alteplase na enterotomia, sobre:
 - a) Citologia do Líquido peritoneal;
 - b) Parâmetros clínicos e hematológicos;
 - c) Linfócitos T CD4+ no sangue venoso por meio da técnica de citometria de fluxo.
- Avaliar, por meio de videolaparoscopia, a cavidade abdominal quanto à presença ou não de aderências intestinais;
- Comparar os achados clínicos, laboratoriais e da videolaparoscopia entre os equinos submetidos ou não ao implante intestinal do biomaterial;
- Avaliar a eficácia da membrana na profilaxia de aderências intestinais.

1.3 Referências

Aarvak T, Chabaud M, Miossec P, Natvig, JB (1999) IL-17 is produced by some proinflammatory Th1/Th0 cells but not by Th2 cells. **The Journal of Immunology** 162:1246-1251.

Actilyse®: alteplase. Boehringer Ingelheim do Brasil. Resp. Técnico: Farm. Dímitra Apostolopoulou CRF-SP nº 0882, Bula de remédio. Disponível em: <http://portal.anvisa.gov.br/bulario-eletronico1/>

Alonso JM, Alves ALG, Watanabe MJ, Rodrigues CA, Hussni, CA (2014) Peritoneal response to abdominal surgery: the role of equine abdominal adhesions and current prophylactic strategies. **Veterinary Medicine International** 2014:ID 279730.

Azevedo V, Chaves S, Bezerra D, Lia Fook M, Costa A (2007) Quitina e quitosana: aplicações como biomateriais. **Revista Eletrônica de Materiais e Processos** 2:27-34.

Brochhausen C, Schmitt HV et al. (2012) Mesothelial morphology and organisation after peritoneal treatment with solid and liquid adhesion barriers—a scanning electron microscopical study. **Journal of Materials Science: Materials in Medicine** 23:1931-1939.

Brüggmann D, Tchartchian G, Wallwiener M, Münstedt K, Tinneberg HR, Hackethal, A (2010) Intra-abdominal adhesions: definition, origin, significance in surgical practice, and treatment options. **Deutsches Ärzteblatt International** 107:769-775.

Caldwell FJ, Mueller PE (2010) Fibrinolytic responses of the equine peritoneum to abdominal surgery, surgical trauma, and intraperitoneal sodium hyaluronate. **Journal of Equine Veterinary Science** 30:298-304.

Chung DR, Chitnis T, Panzo RJ, Kasper DL, Sayegh MHT, Zianabos, AO (2002) CD4+ T cells regulate surgical and postinfectious adhesion formation. **Journal of Experimental Medicine** 195:1471-1478.

Dizerega, G (1990) The peritoneum and its response to surgical injury. **Progress in Clinical and Biological Research** 358:1-11.

Freeman, D (2018) Fifty years of colic surgery. **Equine Veterinary Journal** 50:423-435.

Gorvy DA, Edwards GB, Proudman CJ (2008) Intra-abdominal adhesions in horses: a retrospective evaluation of repeat laparotomy in 99 horses with acute gastrointestinal disease. **Veterinary Journal** 175:194-201.

Graham S, Freeman D (2014) Standing diagnostic and therapeutic equine abdominal surgery. **Veterinary Clinics: Equine Practice** 30:143-168.

Ivarsson ML, Falk P, Holmdahl L (2001) Response of visceral peritoneum to abdominal surgery. **British Journal of Surgery** 88:148-151.

Maciver AH, McCall M, Shapiro AJ (2011) Intra-abdominal adhesions: cellular mechanisms and strategies for prevention. **International Journal of Surgery** 9:589-594.

Margetic S (2012) Inflammation and hemostasis. **Biochemia Medica: Biochemia Medica** 22:49-62.

Moris D, Chakedis J et al. (2017) Postoperative abdominal adhesions: clinical significance and advances in prevention and management. **Journal of Gastrointestinal Surgery** 21:1713-1722.

Mueller PE (2002) Advances in prevention and treatment of intra-abdominal adhesions in horses. **Clinical Techniques in Equine Practice** 1:163-173.

Murata H, Shimada N, Yoshioka M (2004) Current research on acute phase proteins in veterinary diagnosis: an overview. **The Veterinary Journal** 168:28-40.

Mutsaers SE, Birnie K, Lansley S, Herrick SE, Lim CB, Prêle, CM (2015) Mesothelial cells in tissue repair and fibrosis. **Frontiers in pharmacology** 6:113.

Palma MLM, Foz Filho RPP (2005) Aderências intra-abdominais em eqüinos. **Revista de Educação Continuada em Medicina Veterinária e Zootecnia do CRMV-SP** 8:123-134.

Ragle CA (2002) Laparoscopy. In: Mair T, Divers T, Ducharme N. (Eds.) **Manual of Equine Gastroenterology** London: WB Saunders, p.41-46.

Reece WO (2017) Composição e funções do sangue In: Reece WO (Eds.), **Dukes - Fisiologia dos Animais Domésticos**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, p110-131.

Rizzo A, Spedicato M, Mutinati M, Minoia G, Angioni S, Jirillo F, Pantaleo M, Sciorsci, RL (2010) Peritoneal adhesions in human and veterinary medicine: from pathogenesis to therapy. A review. **Immunopharmacology and Immunotoxicology** 32:481-494.

Sulaiman H, Dawson L, Laurent GJ, Bellingan GJ, Herrick SE (2002) Role of plasminogen activators in peritoneal adhesion formation. **Biochemical Society Transactions** 30:126-131.

Wilson, D (2008) Minimally invasive surgery in the horse. **Large Animal Veterinary Rounds** 8:34-36.

Yeo Y, Kohane DS (2008) Polymers in the prevention of peritoneal adhesions.
European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics 68:57-66

CAPÍTULO 2 - PARÂMETROS CLÍNICOS, HEMATOLÓGICOS E PERITONEAIS DE ÉGUAS SUBMETIDAS À ENTEROTOMIA DE CÓLON MENOR COM APLICAÇÃO DE BIOMATERIAL ASSOCIADO OU NÃO À ALTEPLASE¹

Helena C. D. Brito¹; Fausto A. Marinho-Neto²; Nathan R.N. Cruz¹; Yuri Bonacin¹; Marina L. Antonioli¹; Caio C. Bustamante¹; Renata S.G. Mariano¹; Maria Eduarda B.A.M. Conceição¹; Luisa G. Teixeira¹; Rossana M. Thirré³, Aureo E. Santana¹;

¹Departamento de Clínica e Cirurgia Veterinária, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinária, Unesp - Univ Estadual Paulista, Jaboticabal, Brasil; ²Médico veterinário autônomo; ³MetalMat – Coope – UFRJ, Rio de Janeiro, Brasil.

Abreviaturas

bpm – Batimentos por minuto	mL – Mililitros
CD4 – Cluster of differentiation	mm – Milímetros
cm – Centímetros	mmHg – Milímetros de mercúrio
CMC - Carboximetilcelulose	mpm – Movimentos por minuto
CO₂ – Dióxido de carbono	PBS – Tampão salino fosfato
dL – Decilitro	pH – potencial hidrogeniônico
EDTA – Ácido etilenodiaminotetracético	PVA – Poli (vinil alcóolico)
FC – Frequência cardíaca	rpm – Rotações por minuto
FR – Frequência respiratória	rt-tPA – Plasminogênio tecidual recombinante
GC – Grupo controle	TPC – Tempo de preenchimento capilar
GT1 – Grupo tratado 1	UI – Unidades internacionais
GT2 – Grupo tratado 2	μL - Microlitros
GT3 – Grupo tratado 3	
HA-CMC – Hialuronato de sódio – Carboximetilcelulose	
Hb – Hemoglobina	
He – Hemácias	
Ht – Hematócrito	
IL – Interleucina	
mg – Miligramas	

¹ Este capítulo está de acordo com as normas da revista Journal of Veterinary Internal Medicine (Qualis B1) <https://wol-prod-cdn.literatumonline.com/pb-assets/assets/19391676/Author%20Guidelines.pdf>

Autor correspondente: Dr. Aureo Evangelista Santana, Unesp Jaboticabal, Via de Acesso Paulo Donato Castellane, s/n, Jaboticabal, SP, Brasil. E-mail: aureo.e.santana@unesp.br.

RESUMO

As aderências intra-abdominais são complicações relativamente comuns nas cirurgias do trato gastrointestinal dos equinos, sendo originadas por processos inflamatórios e desequilíbrio entre os inibidores e ativadores da fibrinólise. Objetivou-se avaliar as alterações clínicas e laboratoriais e a formação ou não de aderências intestinais em equinos após diferentes estratégias profiláticas. Utilizaram-se 16 éguas adultas, distribuídas aleatoriamente em quatro grupos: grupo controle (GC), grupo tratado 1 (GT1) submetido a infusão de alteplase na cavidade peritoneal, GT2, submetido à implantação de biomaterial (CMC + PVA) na serosa e GT3 submetido a implantação de biomaterial (CMC + PVA + alteplase) na serosa. Todos os animais foram submetidos à enterotomia do cólon através de laparotomia em posição quadrupedal e após 14 dias submetidos a videolaparoscopia. Os parâmetros clínicos e laboratoriais foram avaliados, durante 12 e 11 dias, respectivamente.

Dentre as variáveis clínicas, podemos observar a diminuição da temperatura retal no GT3 nos momentos M5 e M12. A motilidade diminuiu em todos os grupos nos três primeiros dias pós-cirúrgicos (M1, M2 e M3). Os valores de hematócrito (Ht) apresentaram diminuição no M1 quando comparados ao M0, sendo o grupo GT3 apresentou o menor valor de Ht quando comparado aos GC e GT1. A porcentagem de células T CD4⁺ diminuiu no GT1 no M1, comparado ao GT2, e no M9, GC apresentou menos valor quando comparado ao GT1. Os animais apresentaram leucopenia em M3 e M5, com neutrofilia em M1 e linfopenia em M1. Na análise de líquido peritoneal (LP) observamos a redução dos

valores de pH e glicose no M1, e aumento do lactato e proteína total (PT) no M1. As contagens de células nucleadas e neutrófilos do LP aumentaram em todos os momentos quando comparados ao M0. Observou-se a presença de aderências em 50% dos animais dos grupos GC, GT1, GT2 e 100% do grupo GT3. A infusão de alteplase, biomaterial de CMC+ PVA e biomaterial de CMC + PVA + alteplase não apresentaram bons resultados para a prevenção de aderências intestinais em equinos.

Palavras-chave: aderências intestinais, alteplase, carboximetilcelulose gastroenterologia equina, poli (álcool vinílico), videolaparoscopia

1. INTRODUÇÃO

Aderências intestinais são problemas recorrentes após cirurgias abdominais tanto na medicina humana quanto na medicina veterinária.¹ Muito embora seja relatado que técnicas cirúrgicas menos invasivas, diminuição da manipulação dos segmentos intestinais e redução do tempo cirúrgico sejam medidas profiláticas no desenvolvimento de aderências, ainda não há consenso sobre que fator desencadeia a formação de aderência em alguns indivíduos.²

A injúria tecidual causada pelo procedimento cirúrgico ativa o sistema de coagulação com o objetivo final de realizar a cicatrização tecidual. Concomitantemente, há o desencadeamento do processo inflamatório, que também participa do mecanismo de reparação tecidual.³ Sabe-se que somente o trauma cirúrgico por si só pode induzir inflamação na cavidade abdominal.^{4,5} Em razão da solução de continuidade, plaquetas se agregam no local do dano tecidual, e posteriormente o depósito de fibrina se forma, culminando em um tampão hemostático primário.⁶ As células mesoteliais modulam a inflamação pela habilidade de produzir quimiocinas e fatores de crescimento que estimulam o influxo de células inflamatórias para a cavidade peritoneal.⁷ Aproximadamente no terceiro dia após a injúria tecidual, a atividade fibrinolítica endógena das células mesoteliais atuam na quebra dos depósitos de fibrina, completando a reparação tecidual.⁸

Uma das hipóteses mais aceitas para a formação das aderências é a desregulação do sistema fibrinolítico. O desequilíbrio entre os ativadores e inibidores da fibrinólise parecem ser o fator primário para o desenvolvimento das aderências.^{9,10} Postula-se que a

participação das células T CD4⁺ possuem um papel decisivo nessa afecção, uma vez que liberam IL-17, uma citocina pró-inflamatória que, em ratos, parece desencadear a formação de aderências.¹¹

Em equinos, várias estratégias vêm sendo utilizadas para a prevenção das aderências, tais como fármacos e barreiras físicas, como biomateriais e hidrogéis com resultados questionáveis devido à ausência de padronização, e informações acerca de relaparotomia ou realização de necropsia.^{12,13} Estudos relatam que o resultado da utilização da membrana de hialuronato de sódio e carboximetilcelulose (HA-CMC) não diferiu quanto às complicações operatórias em relação ao grupo não tratado.^{14,15} Outro material utilizado para a prevenção de aderências intestinais em modelos experimentais é o poli (álcool vinílico) (PVA), um polímero biocompatível, não tóxico, solúvel em água e com baixo custo.^{16,17} O uso de agentes fibrinolíticos, como o rt-tPa (Actilyse, Boehringer Ingelheim do Brasil, Campinas, SP, Brasil) - que ativa a conversão de plasminogênio em plasmina reduziu a incidência de aderências em cavalos, porém se mostrou economicamente inviável.¹⁸

Frente ao exposto, buscou-se avaliar o impacto da utilização da aplicação de biomaterial associado ou não à alteplase para prevenção de aderências intestinais nas variáveis clínicas, hematológicas, características do líquido peritoneal e incidência de aderências intestinais pós-enterotomia.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Equinos e delineamento experimental

Foram utilizadas 16 éguas, consideradas sadias com base em exame físico e hematológico, média de peso de 362 ± 44 kg, idade entre quatro e 15 anos. Os animais foram distribuídos em quatro grupos, sendo: grupo controle (GC, n=4), equinos submetidos à infusão de um litro de solução salina estéril NaCl 0,9% (Solução fisiológica estéril 0,9%, Fresenius Kabi Brasil Ltda., Barueri, SP, Brasil) na cavidade abdominal; grupo tratamento 1 (GT1, n=4), equinos submetidos à infusão na cavidade abdominal de 50 mg de alteplase (Actilyse, Boehringer Ingelheim do Brasil, Campinas, SP, Brasil) diluído em um litro de solução fisiológica (Fresenius Kabi); grupo tratado com biomaterial composto de carboximetilcelulose (CMC) e poli (álcool vinílico) (PVA) (GT2, n=4), equinos submetidos à implantação na área de enterotomia do biomaterial sem alteplase mais infusão de um litro de solução fisiológica (Fresenius Kabi) na cavidade abdominal; e grupo tratado com biomaterial (CMC + PVA) impregnado com 50 mg de alteplase (Boehringer Ingelheim) (GT3, n=4), equinos submetidos à implantação na área de enterotomia do biomaterial impregnado com alteplase mais infusão de um litro de solução fisiológica (Fresenius Kabi) na cavidade abdominal.

2.2 Procedimentos cirúrgicos

2.2.1 Enterotomia

Todos os animais foram submetidos a jejum alimentar de 24 horas e aos mesmos procedimentos cirúrgicos: enterotomia do cólon descendente. O procedimento foi realizado com os equinos em posição quadrupedal, em tronco de contenção e sedados por meio de

infusão contínua de cloridrato de detomidina (Dormium V, Agener União Saúde Animal, Embu Guaçu, SP, Brasil), 10 $\mu\text{g.kg}^{-1}.\text{h}^{-1}$, intravenoso [IV]) associada ao tartarato de butorfanol (Torbugesic, Fort Dodge Laboratories, Iowa, EUA, 10 $\mu\text{g.kg}^{-1}.\text{h}^{-1}$, IV). A anestesia local foi obtida por meio de infiltração local na linha de incisão e tecidos adjacentes, utilizando-se a associação (1:1) cloridrato de lidocaína 2% (Cloridrato de Lidocaína, Hipolabor Farmacêutica LTDA, Borges Sabará, MG, SC) e cloridrato de bupivacaína 0,75% (Neocaína, Cristália, Campinas, SP, SC) sem vasoconstritor.

Para acesso à cavidade abdominal, foi realizada tricotomia e antissepsia da fossa paralombrar esquerda, e incisão de pele de cerca de 20 centímetros, localizada cinco centímetros caudal à última costela, em sentido dorsoventral, iniciando-se dois centímetros abaixo do final do processo transversal da vértebra lombar. Os músculos oblíquo abdominal externo e interno foram incisados com auxílio de bisturi e tesoura de metzembaum e o músculo abdominal transversal divulsionado de maneira digital. Procedeu-se pequena incisão no peritônio com bisturi e, posteriormente, divulsão digitalmente. Após a localização do cólon descendente, sua região mais aboral foi exteriorizada e isolada do campo operatório com compressas umedecidas. O conteúdo intestinal foi ordenhado em sentido aboral e enterotomia foi realizada na borda antimesentérica com auxílio de bisturi, lamina número 24, com uma incisão de aproximadamente 10 centímetros.

A enterorrafia foi realizada em duas camadas, ambas em padrão simples contínuo utilizando o fio poliglecaprone 25 nº 2-0 (PGCL20MR26G; Bioline, Anápolis, Goiás). Foram realizadas duas suturas em nas extremidades da enterotomia, com fio de náilon (N520MT40, Shalon Fios Cirúrgicos, Nova Suíça, GO, Brasil) em padrão sultan, para

facilitar a localização do segmento à laparoscopia. Após a sutura, em todos os grupos foi realizada abrasão na serosa com gaze estéril, totalizando 50 movimentos nas laterais da região da sutura (Figura 1A) para induzir a formação de aderências. A síntese da parede abdominal foi realizada em padrão Ford com fio de poliamida nº3+4 (26072, Supramid, Hauptner, Dietlikon, Zurique, Alemanha) e a dermorrafia em padrão simples contínuo com fio de náilon nº2-0 (Shalom).

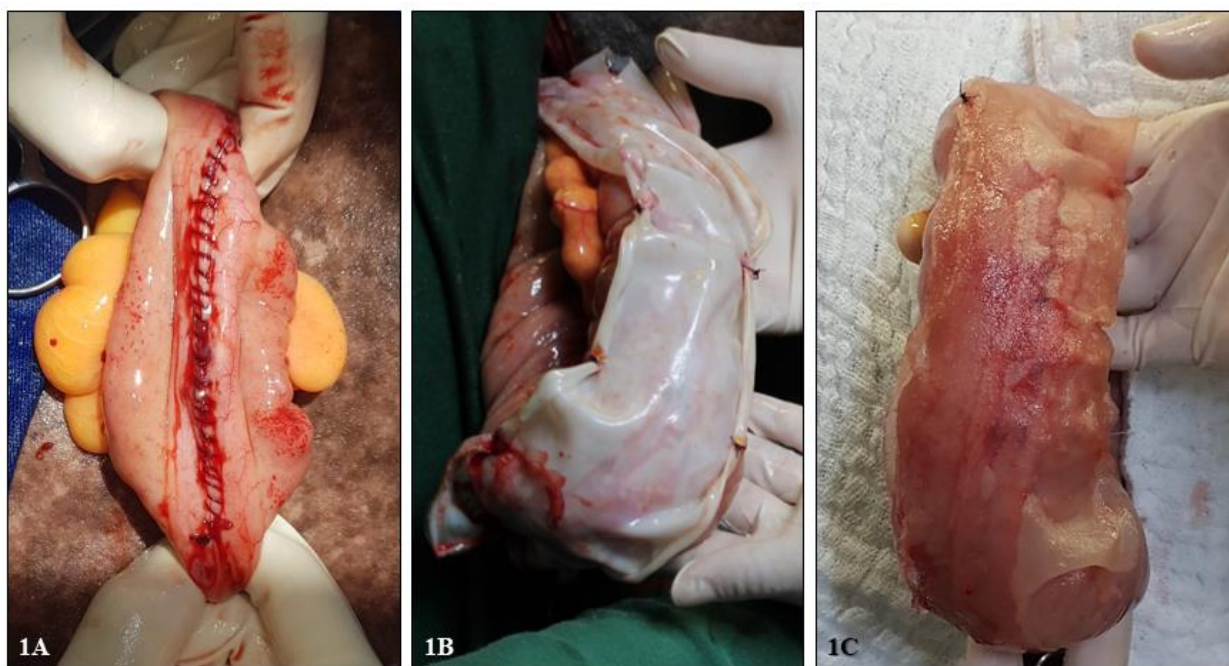


Figura 1. Procedimento de enterotomia de cólon descendente equino. (A). Sutura em pontos simples separados na borda antimesentérica e aparência após abrasão serosa na borda antimesentérica lateralmente à sutura (B) Implantação da membrana de poli (vinil alcóolico) + carboximetilcelulose (CMC) na serosa com suturas simples separadas no grupoGT2. (C) Implantação da membrana de PVA+CMC+Alteplase na serosa com suturas simples separadas no GT3. Jaboticabal, 2018.

2.2.2 *Fixação da membrana*

Nos animais do GT2, a camada serosa da área da enterotomia foi recoberta completamente com o biomaterial composto apenas de carboximetilcelulose (CMC, Sigma Aldrich, São Paulo, Brasil) e poli (álcool vinílico) (PVA, Sigma Aldrich, São Paulo, Brasil). No grupo GT3 a serosa foi recoberta com o biomaterial contendo também alteplase em sua formulação. Ambas as membranas foram hidratadas em solução de salina estéril NaCl 0,9% estéril (Fresenius Kabi) por 30 segundos previamente ao procedimento e implantadas na serosa utilizando-se dez suturas em padrão simples isolados e fio poliglecaprone 25 nº 2-0 (Bioline) (Figura 1B,1C).

2.2.3 *Videocirurgia*

Após 14 dias da realização da enterotomia, os animais foram submetidos à videocirurgia. Para tal, os animais foram posicionados em tronco de contenção adequado para a espécie equina e mantidos em posição quadrupedal. A sedação e anestesia local procedeu-se da mesma maneira descrita para a enterotomia. Após palpação externa do flanco direito, realizou-se tricotomia e antissepsia da fossa paralombar direita e incisão de pele cerca de três centímetros caudal a última costela e três centímetros ventral ao processo transversal da vértebra lombar. Em seguida um trocar descartável de 12 mm de diâmetro, cujo obturador apresenta lâmina retrátil em sua extremidade foi pressionado contra a musculatura (cerca de 90°) até atingir a cavidade abdominal. O endoscópio rígido de 10 mm de diâmetro, angulação de 30° (Karl Storz Veterinary Endoscopy, Goleta, CA), acoplado à microcâmera e fonte de luz xenon, foi introduzido na cavidade para se avaliar se realmente havia transpassado o peritônio. Ao confirmar que o trocar estava na cavidade abdominal, uma mangueira de borracha foi acoplada a ele e a cavidade abdominal foi

insuflada com gás dióxido de carbono (CO₂) a uma velocidade de 5L.min⁻¹ até atingir pressão de 15 a 18 mmHg.

A introdução do segundo portal foi realizada de forma vídeoassistida em local pré-determinado com auxílio da laparoscopia, esse se aloca cerca de cinco centímetros caudal e cinco centímetros ventral ao primeiro, variando com o tamanho do animal. O trocarte utilizado nesse acesso era de aço inoxidável (permanente), apresentava 10 mm de diâmetro e 10 centímetros de comprimento.

Para manipulação do cólon descendente, foi utilizada pinça intestinal atraumática e Babcock de 10 milímetros de diâmetro. O segmento intestinal de interesse foi manipulado até a visibilização do local da enterotomia. Após a localização do segmento foi realizada minuciosa inspeção do local para a classificação quanto à presença ou não de aderências. Ao final do procedimento laparoscópico, os trocartes e as pinças foram retiradas, a cavidade foi desinsuflada e procedeu-se sutura da musculatura em padrão sultan, utilizando fio de náilon nº 2-0 (Shalom) e síntese do tecido subcutâneo e pele em único plano, em padrão wolf separado utilizando-se fio de náilon nº 2-0 (Shalom).

2.3 Cuidados pós-operatórios

No período pós-cirúrgico à enterotomia do cólon descendente, os equinos receberam como terapia antimicrobiana profilática à base de ceftiofur sódico (Minoxel 8G, Lapisa Salud Animal, Formil Veterinária Ltda, Jandira, SP, Brasil, 2,2 mg.kg⁻¹, IV) e metronidazol (15 mg.kg⁻¹, via oral [VO]) a cada 12 horas, durante cinco dias consecutivos.

Durante os três primeiros dias os equinos receberam flunixinina meglumina (Niglumine, Hertape Calier Saúde Animal. Juatuba, MG, Brasil [$1,0 \text{ mg.Kg}^{-1}$, IV]), a cada 12 horas.

No período pós-cirúrgico à videolaparoscopia, os equinos receberam como terapia antimicrobiana profilática à base de benzilpenicilina benzatina (Pentabiótico Reforçado, Ourofino Saúde Animal, Cravinhos, SP Brasil, $40.000 \text{ UI.kg}^{-1}$, intramuscular [IM]) a cada 48 horas, totalizando duas aplicações. Também foi administrada flunixinina meglumina como citado anteriormente.

Nas feridas cirúrgicas foram feitos curativos diários com polivinilpirrolidona-iodo tópico a 1% até a retirada dos pontos cutâneos da laparotomia e da videolaparoscopia, o que ocorreu no décimo dia pós-cirúrgico. Nas primeiras 72 horas após cada cirurgia, os animais receberam apenas capim fresco e água à vontade. Decorrido esse período, a alimentação diária foi substituída gradualmente para 1% do peso vivo em alimento volumoso, constituído de feno de *Coast-cross (Cynodon dactylon)* umedecido em água, além de sal mineral e água à vontade.

2.4 Coleta de material biológico

As amostras de sangue foram obtidas por venopunção jugular, em frascos siliconizados contendo ácido etilenodiaminotetracético (EDTA[BD Vacutainer EDTA K, BD, São Paulo, SP, Brasil]) e heparina lítica (BD Vacutainer, Lithium heparin, BD, São Paulo, SP, Brasil), imediatamente antes da sedação para a laparotomia (M0), um (M1), três (M3), cinco (M5), sete (M7), nove (M9) e 11 (M11) dias após a enterotomia. As amostras de líquido peritoneal foram colhidas segundo Mair et al.¹⁹ em tubos contendo EDTA (BD), fluoreto de sódio (Fluoreto K3EDTA, Labor IMPORT, São Paulo, SP, Brasil)

imediatamente antes da sedação para a laparotomia (M0), um (M1), três (M3), sete (M7), nove (M9) e 11 (M11) dias após a enterotomia.

2.5 Exame físico

O exame físico foi realizado imediatamente antes da sedação para a realização da enterotomia (M0) e a cada 24 horas, durante 12 dias (M1-M12). As variáveis avaliadas em cada momento incluíram frequência cardíaca (FC, batimentos/minuto), frequência respiratória (FR, movimentos/minuto), tempo de preenchimento capilar (TPC, em segundos), temperatura retal (°C) e motilidade intestinal (ausente-0, diminuída-1, normal-2 ou aumentada-3).

2.6 Avaliação hematológica

Os hemogramas foram realizados utilizando-se contador automático de células (pocH-100iV Diff, Sysmex do Brasil Indústria e Comércio Ltda, São José dos Pinhais, PR, Brasil), a determinação das proteínas plasmáticas totais foi realizada por refratometria e fibrinogênio pelo método de precipitação pelo calor.

A imunofenotipagem dos linfócitos T CD4⁺ foi realizada de acordo com técnica descrita previamente.²⁰ Brevemente, as células mononucleares foram isoladas a partir de 15 mL de sangue coletados em tubos contendo heparina lítica. O sangue foi diluído (volume:volume) em solução *phosphate buffered saline* (PBS) estéril e separado em gradiente de densidade (1.077 g/L [Ficoll-Paque PLUS, Amersham Biosciences, Suécia]). Após centrifugação a 400 G por 30 minutos, o anel de células mononucleares foi coletado, ressuspenso em PBS e centrifugado a 400 G por 10 minutos. Após a contagem de células

em câmara de Neubauer, 1×10^6 células foram colocadas em tubos de poliestireno e incubadas com 5 μ L de anticorpo monoclonal anti-CD4 equino (MCA1078F, Bio-Rad Laboratories Inc, Dusseldorf, Alemanha) por 30 minutos a 4°C no escuro. Após esse processo, as células foram adquiridas em citômetro de fluxo (FACS Canto II, BD Biosciences, São Paulo, SP, Brasil) e analisadas por software específico (FACS Diva, BD Biosciences, São Paulo, SP, Brasil).

2.7 Avaliação do líquido peritoneal

Alíquotas de líquido peritoneal acondicionadas em frascos siliconizados contendo EDTA foram avaliadas utilizando-se de fita comercial para a mensuração do pH; densidade, por meio de refratometria (HHR-2N, Atago, Tóquio, Japão) e proteínas totais, pelo método do biureto (Proteínas totais, ref. 99, Labtest Diagnóstica, Lagoa Santa, MG, Brasil), e com posterior leitura em espectrofotômetro semiautomático (Labquest, Labtest. Lagoa Santa, MG, Brasil). A quantificação das células do fluido peritoneal foi realizada utilizando-se da Câmara de Neubauer.

Alíquotas do líquido peritoneal acondicionadas em frascos contendo fluoreto de sódio (Labor Import) foram centrifugadas a 1500 G. Posteriormente, o sobrenadante foi separado e armazenado a -20°C até o momento de avaliação para a concentração de glicose, e lactato, pelo método eletro enzimático, com o auxílio de bioanalisador automático (YSI 2300, Yellow Springs, Ohio).

2.8 Aderências

Por meio da videolaparoscopia foi definida a presença ou não de aderências intestinais mediante inspeção minuciosa do segmento operado. A presença de aderência foi

considerada quando foi possível a sua visibilização, ou quando não foi mais possível avançar na manipulação do cólon.

2.9 Análise estatística

Os dados obtidos para avaliação clínica e laboratorial foram submetidos à análise de variância de dois fatores para avaliar efeito de tratamento (grupos), de tempo (momentos) e as possíveis interações. Dados fora da normalidade foram transformados (log ou raiz quadrada). Em seguida, foi realizado teste de Tukey para comparação entre as médias. Utilizou-se o programa comercial (Sigmaplot V.12.0, Systat Software Inc., San Jose, CA) considerando-se nível de probabilidade de 5% ($p \leq 0,05$). As variáveis para as quais se observou interação entre grupos e momentos estão apresentadas na forma de gráficos, enquanto que os efeitos simples entre momentos ou entre grupos estão descritos em tabelas.

3. RESULTADOS

3.1 Exame físico

Os valores de FC não apresentaram diferença estatística entre os grupos ou entre momentos e variaram de 35 a 45 bpm. O TPC não apresentou diferença e seus valores se mantiveram entre 1 e 2 segundos (Tabela 1).

Tabela 1. Médias $\pm$ erro padrão da frequência cardíaca e tempo de preenchimento capilar de 16 éguas, divididas em quatro grupos: controle (GC), submetido somente à infusão de solução salina estéril NaCl 0,9%, grupo tratado 1 (GT1) submetidos à infusão de alteplase na cavidade peritoneal, grupo tratado 2 (GT2), submetidos ao implante de membrana de carboximetilcelulose (CMC) + poli (vinil alcoólico) (PVA) na serosa e grupo tratado 3 (GT3) submetidos implante de membrana de CMC + PVA + alteplase na serosa. Jaboticabal, 2018.

TEMPO DE PREENCHIMENTO CAPILAR (TPC)														
Grupos	Momentos													Σ Gr
	M0	M1	M2	M3	M4	M5	M6	M7	M8	M9	M10	M11	M12	
GC	1 $\pm$ 0,5	2 $\pm$ 0,6	1 $\pm$ 0,0	1 $\pm$ 0,5	1 $\pm$ 0,5	2 $\pm$ 1,0	1 $\pm$ 0,5	1 $\pm$ 0,5	2 $\pm$ 0,6	1 $\pm$ 0,5	1 $\pm$ 0,0	2 $\pm$ 0,6	1 $\pm$ 0,6	1,3 $\pm$ 0,1
GT1	1 $\pm$ 0,0	2 $\pm$ 0,6	2 $\pm$ 1,0	1 $\pm$ 0,5	1 $\pm$ 0,5	1 $\pm$ 0,0	1 $\pm$ 0,0	1 $\pm$ 0,5	1 $\pm$ 0,0	1 $\pm$ 0,0	1 $\pm$ 0,5	1 $\pm$ 0,0	1 $\pm$ 0,0	1,2 $\pm$ 0,1
GT2	2 $\pm$ 0,6	1 $\pm$ 0,5	1 $\pm$ 0,5	1 $\pm$ 0,5	1 $\pm$ 0,0	2 $\pm$ 0,5	1 $\pm$ 0,5	2 $\pm$ 0,0	2 $\pm$ 0,5	1 $\pm$ 0,5	2 $\pm$ 0,6	1 $\pm$ 0,5	1 $\pm$ 0,5	1,4 $\pm$ 0,1
GT3	1 $\pm$ 0,5	2 $\pm$ 0,5	2 $\pm$ 0,5	1 $\pm$ 0,5	1 $\pm$ 0,6	2 $\pm$ 0,0	2 $\pm$ 0,6	1 $\pm$ 0,5	1 $\pm$ 0,0	1 $\pm$ 0,0	2 $\pm$ 1,0	1 $\pm$ 0,5	1 $\pm$ 0,0	1,4 $\pm$ 0,1
Σ M	1,3 $\pm$ 0,1	1,5 $\pm$ 0,1	1,4 $\pm$ 0,2	1,3 $\pm$ 0,1	1,3 $\pm$ 0,1	1,6 $\pm$ 0,2	1,3 $\pm$ 0,1	1,4 $\pm$ 0,1	1,3 $\pm$ 0,1	1,1 $\pm$ 0,1	1,3 $\pm$ 0,2	1,3 $\pm$ 0,1	1,3 $\pm$ 0,1	

FREQUÊNCIA CARDÍACA (bpm)														
Grupos	Momentos													Σ Gr
	M0	M1	M2	M3	M4	M5	M6	M7	M8	M9	M10	M11	M12	
GC	44 $\pm$ 5	34 $\pm$ 2	34 $\pm$ 3	33 $\pm$ 1	37 $\pm$ 3	35 $\pm$ 2	39 $\pm$ 3	38 $\pm$ 3	35 $\pm$ 2	35 $\pm$ 4	37 $\pm$ 3	33 $\pm$ 2	35 $\pm$ 1	36 $\pm$ 1
GT1	44 $\pm$ 13	47 $\pm$ 6	41 $\pm$ 3	38 $\pm$ 3	41 $\pm$ 3	48 $\pm$ 5	41 $\pm$ 2	42 $\pm$ 2	41 $\pm$ 3	38 $\pm$ 1	35 $\pm$ 1	40 $\pm$ 3	41 $\pm$ 4	42 $\pm$ 1
GT2	35 $\pm$ 6	43 $\pm$ 2	39 $\pm$ 1	33 $\pm$ 1	37 $\pm$ 4	34 $\pm$ 3	41 $\pm$ 5	40 $\pm$ 4	40 $\pm$ 6	41 $\pm$ 5	39 $\pm$ 3	38 $\pm$ 3	35 $\pm$ 4	38 $\pm$ 1
GT3	36 $\pm$ 3	54 $\pm$ 5	40 $\pm$ 2	37 $\pm$ 2	39 $\pm$ 1	38 $\pm$ 2	39 $\pm$ 4	41 $\pm$ 5	43 $\pm$ 4	38 $\pm$ 3	47 $\pm$ 6	47 $\pm$ 4	39 $\pm$ 2	41 $\pm$ 1
Σ M	39 $\pm$ 1	40 $\pm$ 4	45 $\pm$ 3	39 $\pm$ 1	35 $\pm$ 1	39 $\pm$ 1	39 $\pm$ 2	40 $\pm$ 2	40 $\pm$ 2	40 $\pm$ 2	38 $\pm$ 2	40 $\pm$ 2	39 $\pm$ 2	

Σ M= média dos momentos; Σ Gr = média dos grupos † bpm – batimentos por minuto; M0-M12 – dias após a enterotomia

A frequência respiratória variou entre os momentos e entre os grupos, sendo que apresentou aumento no M4 (26±3) em relação aos valores basais (M0, 18±1) e ao M9 (19±1) (Tabela 2).

Tabela 2. Médias ± erro padrão da frequência respiratória de 16 éguas, divididas em quatro grupos: controle (GC), submetido somente à infusão de solução salina estéril NaCl 0,9%, grupo tratado 1 (GT1) submetidos à infusão de alteplase na cavidade peritoneal, grupo tratado 2 (GT2), submetidos ao implante de membrana de carboximetilcelulose (CMC) + poli (vinil alcoólico) (PVA) na serosa e grupo tratado 3 (GT3) submetidos implante de membrana de CMC + PVA + alteplase na serosa. Jaboticabal, 2018.

**FREQUENCIA RESPIRATÓRIA
(mpm)**

Grupos	Momentos													ΣGr
	M0	M1	M2	M3	M4	M5	M6	M7	M8	M9	M10	M11	M12	
GC	17±3	14±2	18±1	14±1	20±2	15±2	22±5	20±4	20±4	18±1	17±1	16±4	15±2	17±1
GT1	22±2	24±4	20±4	27±3	28±8	27±3	21±3	23±3	27±5	20±2	23±3	22±4	21±3	24±1
GT2	18±1	29±6	17±1	18±3	32±10	18±1	21±6	20±2	22±7	19±2	24±6	24±4	18±3	22±1
GT3	15±2	20±3	21±2	16±3	24±2	18±3	26±9	14±2	21±7	17±4	25±5	18±3	15±2	19±1
ΣM	18±1b	22±2ab	19±1ab	19±2ab	26±3a	20±2ab	23±3ab	19±1ab	23±3ab	19±1b	22±2ab	20±2ab	17±1ab	

*Letras diferentes na mesma linha representam diferença estatística entre os momentos ($p < .05$). ΣM= média dos momentos; ΣGr = média dos grupos

† mpm – movimentos por minuto; M0-M12 – dias após a enterotomia.

A temperatura retal dos animais, apesar de ter apresentado interação entre grupo e momentos, apresentou diferença significativa somente no GT3 entre os momentos, apresentando diminuição nos momentos M5 ($37,3 \pm 0,1$) e M12 ($37,1 \pm 1,0$) (Figura 2 **Erro! Fonte de referência não encontrada.**).

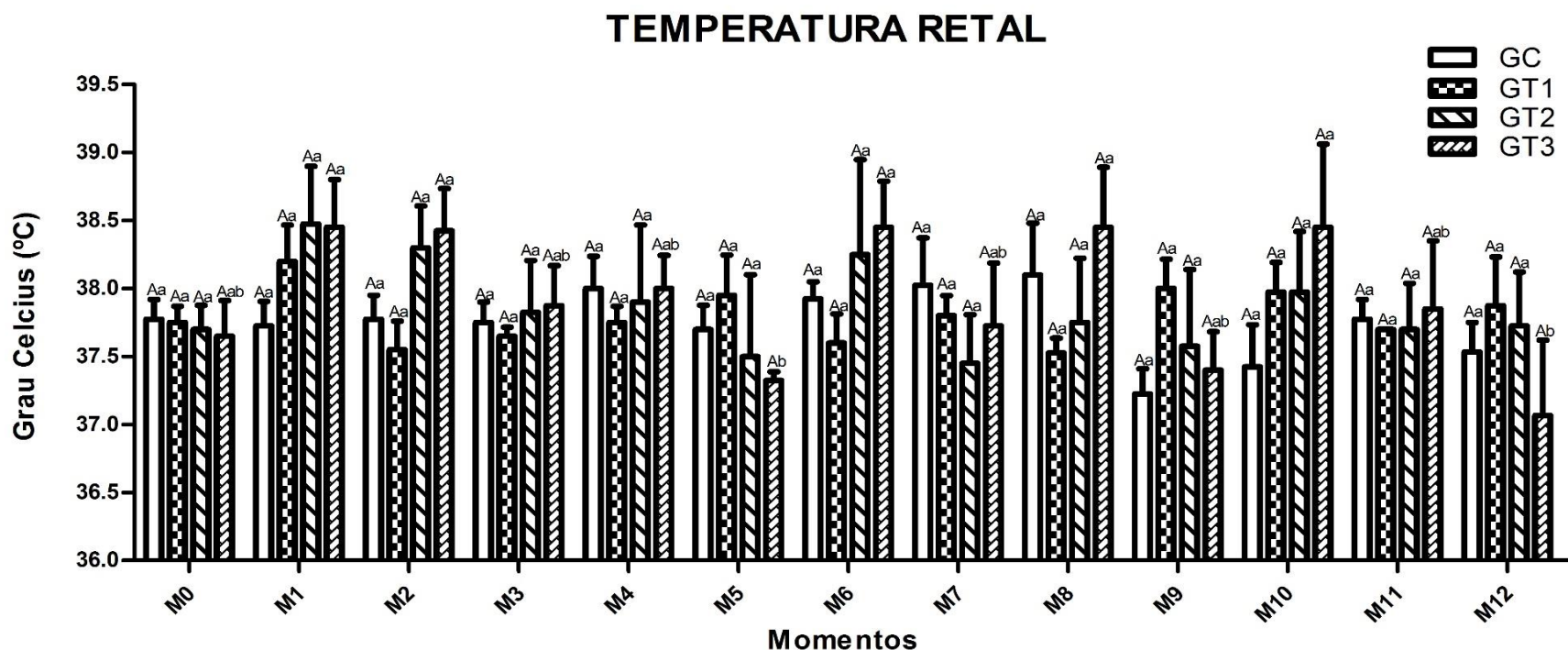


Figura 2. Comparação das médias $\pm$ erro padrão (EPM) das interações entre os momentos, entre os grupos e entre os momentos x grupos dos valores de temperatura retal de 16 éguas, divididas em quatro grupos: controle (GC), submetido somente à infusão de solução salina estéril NaCl 0,9%, grupo tratado 1 (GT1) submetidos à infusão de alteplase na cavidade peritoneal, grupo tratado 2 (GT2), submetidos

ao implante de membrana de carboximetilcelulose (CMC) + poli (vinil alcoólico) (PVA) na serosa e grupo tratado 3 (GT3) submetidos implante de membrana de CMC + PVA + alteplase na serosa. Jaboticabal, 2018. Letras maiúsculas diferentes significam diferença estatística entre os grupos e letras minúsculas diferentes significam diferença estatística entre os momentos ($p < .05$).

A motilidade intestinal oscilou entre os momentos, tendo como principais características sua diminuição nos três primeiros dias (M1, $1,1 \pm 0,1$; M2, $1,5 \pm 0,2$ e M3, $1,4 \pm 0,2$) após a enterotomia, principalmente, em relação aos níveis basais (M0, 2 ± 0). Após esse período de diminuição de motilidade, houve reestabelecimento parcial nos momentos M4 ($1,7 \pm 0,1$) e M5 ($1,6 \pm 0,1$) seguido de nova diminuição no sexto dia (M6) em relação ao M0, e, por fim, reestabelecimento gradativo nos dias subsequentes (Tabela 3).

Tabela 3. Médias $\pm$ erro padrão da motilidade intestinal de 16 éguas, divididas em quatro grupos: controle (GC), submetido somente à infusão de solução salina estéril NaCl 0,9%, grupo tratado 1 (GT1) submetidos à infusão de alteplase na cavidade peritoneal, grupo tratado 2 (GT2), submetidos ao implante de membrana de carboximetilcelulose (CMC) + poli (vinil alcoólico) (PVA) na serosa e grupo tratado 3 (GT3) submetidos implante de membrana de CMC + PVA + alteplase na serosa. Jaboticabal, 2018.

MOTILIDADE INTESTINAL*														
Grupos	Momentos													Σ Gr
	M0	M1	M2	M3	M4	M5	M6	M7	M8	M9	M10	M11	M12	
GC	2 $\pm$ 0,0	1 $\pm$ 0,4	2 $\pm$ 0,0	2 $\pm$ 0,3	2 $\pm$ 0,3	2 $\pm$ 0,3	2 $\pm$ 0,3	2 $\pm$ 0,3	2 $\pm$ 0,3	2 $\pm$ 0,3	2 $\pm$ 0,0	2 $\pm$ 0,0	2 $\pm$ 0,0	1,7 $\pm$ 0,1
GT1	2 $\pm$ 0,0	2 $\pm$ 0,3	1 $\pm$ 0,4	2 $\pm$ 0,3	2 $\pm$ 0,3	2 $\pm$ 0,3	2 $\pm$ 0,3	2 $\pm$ 0,3	2 $\pm$ 0,3	2 $\pm$ 0,3	2 $\pm$ 0,3	2 $\pm$ 0,0	2 $\pm$ 0,0	1,7 $\pm$ 0,1
GT2	2 $\pm$ 0,0	1 $\pm$ 0,0	2 $\pm$ 0,3	1 $\pm$ 0,0	2 $\pm$ 0,3	2 $\pm$ 0,3	1 $\pm$ 0,3	2 $\pm$ 0,3	2 $\pm$ 0,3	2 $\pm$ 0,0	2 $\pm$ 0,3	2 $\pm$ 0,3	2 $\pm$ 0,0	1,6 $\pm$ 0,1
GT3	2 $\pm$ 0,0	1 $\pm$ 0,3	2 $\pm$ 0,3	1 $\pm$ 0,3	2 $\pm$ 0,3	2 $\pm$ 0,3	1 $\pm$ 0,5	2 $\pm$ 0,0	2 $\pm$ 0,0	2 $\pm$ 0,3	1 $\pm$ 0,5	2 $\pm$ 0,3	2 $\pm$ 0,3	1,5 $\pm$ 0,1
Σ M	2 $\pm$ 0,0 a	1,1 $\pm$ 0,1 d	1,5 $\pm$ 0,2 bcd	1,4 $\pm$ 0,2 cd	1,7 $\pm$ 0,1 abc	1,6 $\pm$ 0,1 abc	1,4 $\pm$ 0,2 cd	1,7 $\pm$ 0,1 abc	1,8 $\pm$ 0,1 abc	1,8 $\pm$ 0,1 abc	1,7 $\pm$ 0,2 abc	1,8 $\pm$ 0,1 abc	1,9 $\pm$ 0,1 ab	

*Letras diferentes na mesma linha representam diferença estatística entre os momentos ($p < .05$). Σ M= média dos momentos; Σ Gr = média dos grupos. * ausente-0, diminuída-1, normal-2 ou aumentada-3.

† M0-M12 – dias após a enterotomia.

3.2 Avaliação hematológica

Nenhuma variável hematológica diferiu nos valores basais (M0) entre os grupos. Na comparação entre os momentos, os valores de hematócrito (ht) apresentaram diminuição a partir do primeiro dia pós-operatório (M1, $34,28 \pm 1,14$) em relação aos valores basais de M0 ($38,0 \pm 1,03$). Quando comparados os grupos, o GT3 apresentou o menor valor de hematócrito ($28,05 \pm 1,01$), diferindo de GC ($36,01 \pm 1,02$) e GT1 ($37,14 \pm 0,80$) (Tabela 4 **Erro! Fonte de referência não encontrada.**).

Tabela 4. Médias $\pm$ erro padrão dos valores de hematócrito de 16 éguas, divididas em quatro grupos: controle (GC), submetido somente à infusão de solução salina estéril NaCl 0,9%, grupo tratado 1 (GT1) submetidos à infusão de alteplase na cavidade peritoneal, grupo tratado 2 (GT2), submetidos ao implante de membrana de carboximetilcelulose (CMC) + poli (vinil alcoólico) (PVA) na serosa e grupo tratado 3 (GT3) submetidos implante de membrana de CMC + PVA + alteplase na serosa. Jaboticabal, 2018.

HEMATÓCRITO (%)								
Grupos	Momentos							Σ Gr
	M0	M1	M3	M5	M7	M9	M11	
GC	40,03 $\pm$ 3,44	35,83 $\pm$ 1,28	34,95 $\pm$ 2,64	37,28 $\pm$ 2,75	34,18 $\pm$ 3,04	34,95 $\pm$ 3,29	35,15 $\pm$ 3,09	36,05 $\pm$ 1,02A
GT1	38,50 $\pm$ 0,51	34,65 $\pm$ 2,37	36,90 $\pm$ 1,99	37,78 $\pm$ 1,96	39,03 $\pm$ 2,84	35,65 $\pm$ 1,92	37,53 $\pm$ 3,20	37,14 $\pm$ 0,80A
GT2	37,20 $\pm$ 1,86	33,95 $\pm$ 1,96	30,53 $\pm$ 0,56	33,18 $\pm$ 1,65	32,25 $\pm$ 0,61	29,25 $\pm$ 1,10	31,10 $\pm$ 1,74	32,49 $\pm$ 0,69AB
GT3	36,38 $\pm$ 1,75	32,70 $\pm$ 3,61	25,30 $\pm$ 1,06	26,60 $\pm$ 0,64	24,88 $\pm$ 0,91	24,93 $\pm$ 1,25	25,55 $\pm$ 1,59	28,05 $\pm$ 1,01B
Σ M	38,01 $\pm$ 1,03a	34,28 $\pm$ 1,14b	31,92 $\pm$ 1,40b	33,71 $\pm$ 1,44b	32,58 $\pm$ 1,63b	31,19 $\pm$ 1,47b	32,33 $\pm$ 1,63b	

*Letras diferentes na mesma linha representam diferença estatística entre os momentos e letras diferentes na mesma coluna representam diferença estatística entre os grupos ($p < .05$). Σ M= média dos momentos; Σ Gr = média dos grupos

† M0-M11 – dias após a enterotomia.

Nos momentos M0 e M1 a concentração de hemoglobina (hb) não apresentou diferenças entre grupos, e nota-se a partir do M3 ($7,65 \pm 0,31$) que a menor concentração de hb se encontra no GT3, tendência que se mantém até o fim do experimento (Figura 3).

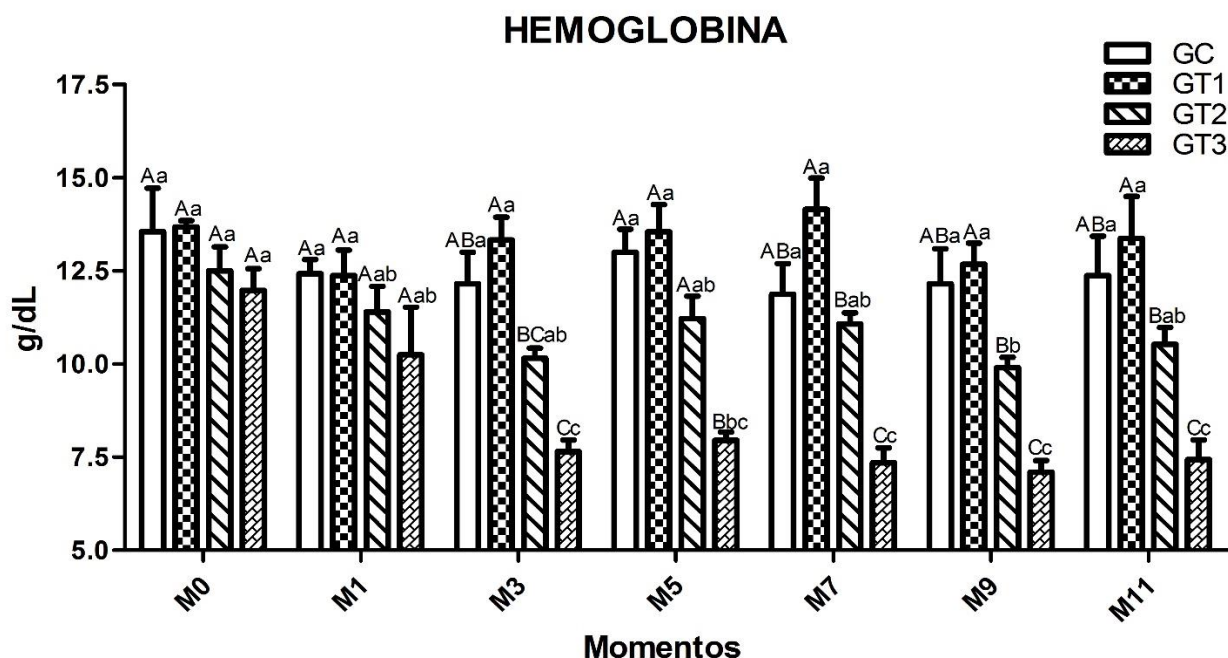


Figura 3. Comparação das médias $\pm$ erro padrão (EPM) das interações entre os momentos, entre os grupos e entre os momentos x grupos dos valores de hemoglobina de 16 éguas, divididas em quatro grupos: controle (GC), submetido somente à infusão de solução salina estéril NaCl 0,9%, grupo tratado 1 (GT1) submetidos à infusão de alteplase na cavidade peritoneal, grupo tratado 2 (GT2), submetidos ao implante de membrana de carboximetilcelulose (CMC) + poli (vinil alcoólico) (PVA) na serosa e grupo tratado 3 (GT3) submetidos implante de membrana de CMC + PVA + alteplase na serosa. Jaboticabal, 2018. Letras maiúsculas diferentes significam diferença estatística entre os grupos e letras minúsculas diferentes significam diferença estatística entre os momentos ($p < .05$).

A contagem do número de hemácias diminuiu em todos os momentos desde o primeiro dia após a enterotomia em relação aos valores basais (M0), porém somente M3, M7 ($6,80 \pm 0,27$), M9 ($6,51 \pm 0,26$) e M11 ($6,75 \pm 0,28$) apresentaram diferença significativa quando comparados ao M0 ($7,64 \pm 0,23$) (Tabela 5)

Tabela 5. Médias $\pm$ erro padrão da contagem do número de hemácias de 16 éguas, divididas em quatro grupos: controle (GC), submetido somente à infusão de solução salina estéril NaCl 0,9%, grupo tratado 1 (GT1) submetidos à infusão de alteplase na cavidade peritoneal, grupo tratado 2 (GT2), submetidos ao implante de membrana de carboximetilcelulose (CMC) + poli (vinil alcoólico) (PVA) na serosa e grupo tratado 3 (GT3) submetidos implante de membrana de CMC + PVA + alteplase na serosa. Jaboticabal, 2018.

HEMÁCIAS x10 ⁶ µL ⁻¹								
Grupos	Momentos							ΣGr
	M0	M1	M3	M5	M7	M9	M11	
GC	7,84±0,77	7,11±0,31	6,93±0,59	7,42±0,57	6,80±0,66	6,96±0,68	6,94±0,56	7,14±0,21
GT1	7,83±0,20	7,02±0,47	7,45±0,42	7,61±0,39	7,86±0,60	7,19±0,39	7,61±0,67	7,51±0,17
GT2	7,48±0,31	6,81±0,34	6,15±0,09	6,74±0,31	6,59±0,07	5,96±0,24	6,35±0,31	6,58±0,12
GT3	7,41±0,49	7,07±0,58	5,97±0,33	6,36±0,32	5,94±0,28	5,95±0,46	6,12±0,52	6,40±0,18
ΣM	7,64±0,23a	7,00±0,20ab	6,62±0,24b	7,03±0,23ab	6,80±0,27b	6,51±0,26b	6,75±0,28b	

*Letras diferentes na mesma linha representam diferença estatística entre os momentos e letras diferentes na mesma coluna representam diferença estatística ente os grupos ($p < .05$). ΣM = média dos momentos; ΣGr = média dos grupos

† M0-M11 – dias após a enterotomia.

Em relação ao número de plaquetas, houve aumento em M9 (235±20,8) e M11(226±14,1) quando comparados ao 3° dia pós-operatório (M3; 170±11,2) (Tabela 6).

Tabela 6. Médias ± erro padrão do número de plaquetas de 16 éguas, divididas em quatro grupos: controle (GC), submetido somente à infusão de solução salina estéril NaCl 0,9%, grupo tratado 1 (GT1) submetidos à infusão de alteplase na cavidade peritoneal, grupo tratado 2 (GT2), submetidos ao implante de membrana de carboximetilcelulose (CMC) + poli (vinil alcoólico) (PVA) na serosa e grupo tratado 3 (GT3) submetidos implante de membrana de CMC + PVA + alteplase na serosa. Jaboticabal, 2018.

PLAQUETAS x10 ³ µL ⁻¹								
Grupos	Momentos							ΣGr
	M0	M1	M3	M5	M7	M9	M11	
GC	183±23,3	159±3,0	167±14,4	205±19,0	213±13,5	207±30,9	209±14,4	192±07,4
GT1	183±31,6	152±14,7	175±29,4	301±77,3	235±29,4	218±17,1	227±21,7	213±15,1
GT2	215±32,8	187±23,6	163±32,0	174±22,8	195±24,2	257±43,6	268±24,5	208±12,3
GT3	216±24,5	206±17,7	176±19,9	195±23,3	171±28,4	257±69,5	201±42,3	203±13,2
ΣM	199±13,4 ab	176±9,3 ab	170±11,2 b	219±23,0 ab	204±12,6 ab	235±20,8 a	226±14,1 a	

*Letras diferentes na mesma linha representam diferença estatística entre os momentos e letras diferentes na mesma coluna representam diferença estatística ente os grupos ($p < .05$). ΣM = média dos momentos; ΣGr = média dos grupos

† M0-M11 – dias após a enterotomia

Os valores de proteína plasmática total e fibrinogênio não apresentaram alterações em relação ao tempo ou aos grupos.

Na imunofenotipagem, o grupo GT1 apresentou diminuição na porcentagem de células $CD4^+$ em comparação com GT2 no momento M1, enquanto que, no M9, o GC mostrou menor percentual de $CD4^+$ em comparação ao GT1. Na comparação entre os momentos dentro de cada grupo, no GC houve menor valor de $CD4^+$ no M9, diferente do GT2 que teve diminuição no M5 e do GT3 em M5 e M7 (Figura 4).

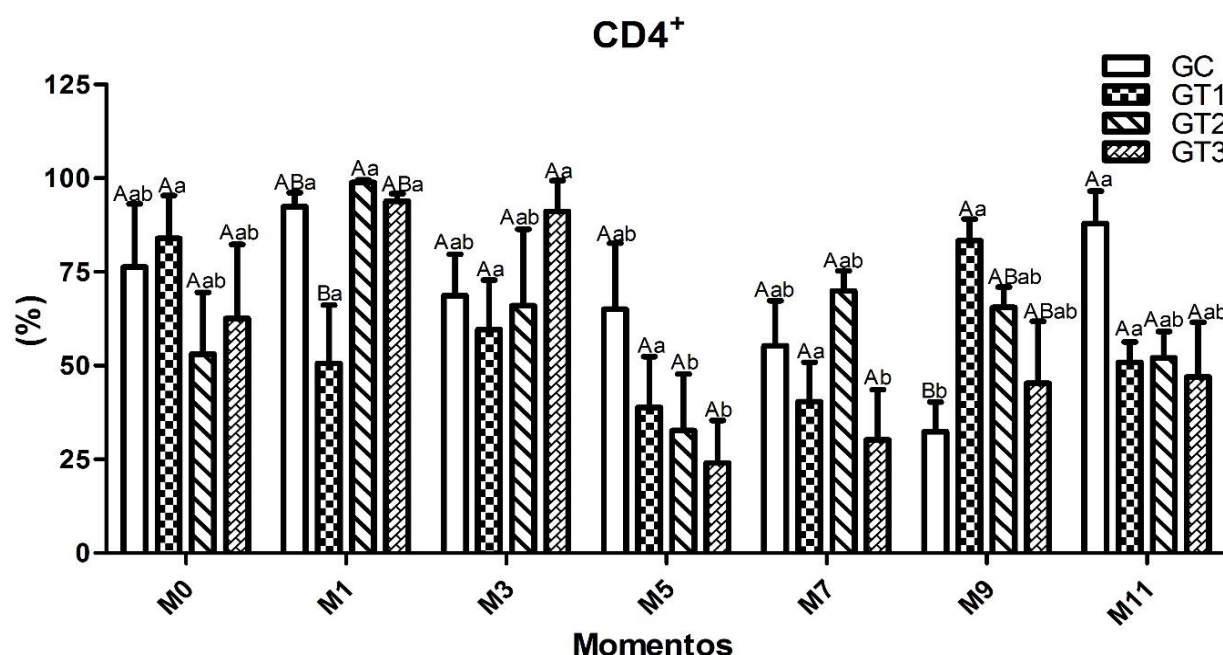


Figura 4. Comparação das médias $\pm$ erro padrão (EPM) das interações entre os momentos, entre os grupos e entre os momentos x grupos da porcentagem de células $CD4^+$ de 16 éguas, divididas em quatro grupos: controle (GC), submetido somente à infusão de solução salina estéril NaCl 0,9%, grupo tratado 1 (GT1) submetidos à infusão de alteplase na cavidade peritoneal, grupo tratado 2 (GT2), submetidos ao implante de membrana de carboximetilcelulose (CMC) + poli (vinil alcoólico) (PVA) na serosa e grupo tratado 3 (GT3) submetidos implante de membrana de CMC + PVA + alteplase na serosa. Jaboticabal, 2018. Letras maiúsculas diferentes significam diferença estatística entre os grupos e letras minúsculas diferentes significam diferença estatística entre os momentos ($p < .05$).

Em relação aos índices leucométricos, na contagem de leucócitos totais foi observada diferença na comparação entre os momentos, havendo diminuição no número de leucócitos em M3 ($5,02 \pm 0,34$) e M5 ($6,34 \pm 0,35$), diminuição esta, que caracteriza leucopenia (Tabela 7).

Houve aumento na contagem de neutrófilos segmentados em M1 ($9,21 \pm 0,85$), caracterizando, neutrofilia nos animais um dia após a enterotomia, em seguida, no M3 ($2,93 \pm 0,28$), houve diminuição significativa da contagem absoluta de neutrófilos quando comparado ao M1, apesar de tal redução, que se manteve até M5 ($3,69 \pm 0,26$), seus valores ainda se encontram dentro dos valores de referência, não indicando quadro de neutropenia (Tabela 7).

Tabela 7. Médias $\pm$ erro padrão contagem de leucócitos totais e contagem absoluta do número de neutrófilos de 16 éguas, divididas em quatro grupos: controle (GC), submetido somente à infusão de solução salina estéril NaCl 0,9%, grupo tratado 1 (GT1) submetidos à infusão de alteplase na cavidade peritoneal, grupo tratado 2 (GT2), submetidos ao implante de membrana de carboximetilcelulose (CMC) + poli (vinil alcoólico) (PVA) na serosa e grupo tratado 3 (GT3) submetidos implante de membrana de CMC + PVA + alteplase na serosa. Jaboticabal, 2018.

LEUCÓCITOS TOTAIS								
$\times 10^3 \mu\text{L}^{-1}$								
Grupos	Momentos							ΣGr
	M0	M1	M3	M5	M7	M9	M11	
GC	07,40 $\pm$ 0,46	08,85 $\pm$ 1,54	04,88 $\pm$ 0,82	05,50 $\pm$ 0,23	09,50 $\pm$ 0,41	08,53 $\pm$ 0,48	09,10 $\pm$ 1,28	7,68 $\pm$ 0,44
GT1	07,85 $\pm$ 0,80	08,98 $\pm$ 1,22	05,78 $\pm$ 0,80	07,08 $\pm$ 1,08	11,40 $\pm$ 0,98	09,93 $\pm$ 1,52	09,03 $\pm$ 1,03	8,58 $\pm$ 0,49
GT2	10,08 $\pm$ 1,06	12,80 $\pm$ 1,80	05,10 $\pm$ 0,72	06,35 $\pm$ 0,89	08,85 $\pm$ 1,08	10,00 $\pm$ 0,33	09,75 $\pm$ 0,89	8,99 $\pm$ 0,58
GT3	09,85 $\pm$ 0,89	12,45 $\pm$ 1,69	04,33 $\pm$ 0,37	06,45 $\pm$ 0,23	09,90 $\pm$ 1,17	10,00 $\pm$ 0,58	09,73 $\pm$ 2,47	8,96 $\pm$ 0,64
ΣM	8,79 $\pm$ 0,48a	10,77 $\pm$ 0,85a	5,02 $\pm$ 0,34c	6,34 $\pm$ 0,35b	9,91 $\pm$ 0,49a	9,61 $\pm$ 0,42a	9,40 $\pm$ 0,70a	

NEUTRÓFILOS								
$\times 10^3 \mu\text{L}^{-1}$								
Grupos	Momentos							ΣGr
	M0	M1	M3	M5	M7	M9	M11	
GC	05,20 $\pm$ 0,56	07,63 $\pm$ 1,57	02,59 $\pm$ 0,51	03,18 $\pm$ 0,40	06,91 $\pm$ 0,59	05,71 $\pm$ 0,21	06,84 $\pm$ 1,51	5,44 $\pm$ 0,46
GT1	04,62 $\pm$ 0,82	07,15 $\pm$ 1,23	02,94 $\pm$ 0,58	03,69 $\pm$ 0,64	07,37 $\pm$ 0,64	06,61 $\pm$ 1,09	05,61 $\pm$ 0,53	5,43 $\pm$ 0,41
GT2	06,76 $\pm$ 1,18	11,52 $\pm$ 1,77	03,27 $\pm$ 0,88	03,61 $\pm$ 0,68	06,30 $\pm$ 0,92	07,43 $\pm$ 0,55	07,08 $\pm$ 0,79	6,57 $\pm$ 0,60
GT3	07,73 $\pm$ 1,23	10,53 $\pm$ 1,64	02,92 $\pm$ 0,38	04,28 $\pm$ 0,25	07,30 $\pm$ 1,66	08,17 $\pm$ 0,17	07,98 $\pm$ 2,19	6,99 $\pm$ 0,63
ΣM	6,08 $\pm$ 0,54b	9,21 $\pm$ 0,85a	2,93 $\pm$ 0,28c	3,69 $\pm$ 0,26c	6,97 $\pm$ 0,48ab	6,98 $\pm$ 0,37ab	6,88 $\pm$ 0,67ab	

*Letras diferentes na mesma linha representam diferença estatística entre os momentos e letras diferentes na mesma coluna representam diferença estatística entre os grupos ($p < 0.05$). ΣM = média dos momentos; ΣGr = média dos grupos † M0-M11 – dias após a enterotomia

Na comparação entre grupos, a contagem de linfócitos absolutos mostrou que GT3 ($1,68 \pm 0,10$) apresentou menores quantidades destas células em relação ao GT1 ($2,77 \pm 0,41$), enquanto que, na comparação entre momentos, os animais apresentaram os menores valores no M1 ($1,44 \pm 0,09$), indicando quadro de linfopenia (Tabela 8). Com relação à contagem de basófilos, também foi evidenciada redução no M1, quando se compararam os momentos. A contagem de basófilos diminuiu no momento 1 (M1, $0,00 \pm 0,00$) em relação ao M0 ($0,07 \pm 0,02$) e depois retornou aos valores basais (Tabela 8)

Tabela 8 Médias $\pm$ erro padrão contagem absoluta de linfócitos e basófilos de 16 éguas, divididas em quatro grupos: controle (GC), submetido somente à infusão de solução salina estéril NaCl 0,9%, grupo tratado 1 (GT1) submetidos à infusão de alteplase na cavidade peritoneal, grupo tratado 2 (GT2), submetidos ao implante de membrana de carboximetilcelulose (CMC) + poli (vinil alcoólico) (PVA) na serosa e grupo tratado 3 (GT3) submetidos implante de membrana de CMC + PVA + alteplase na serosa. Jaboticabal, 2018.

LINFÓCITOS $\times 10^3 \mu\text{L}^{-1}$								
Grupos	Momentos							ΣGr
	M0	M1	M3	M5	M7	M9	M11	
GC	1,98 $\pm$ 0,18	1,09 $\pm$ 0,10	1,90 $\pm$ 0,14	1,45 $\pm$ 0,48	2,10 $\pm$ 0,18	2,26 $\pm$ 0,17	1,95 $\pm$ 0,34	1,82 $\pm$ 0,11AB
GT1	2,98 $\pm$ 0,28	1,77 $\pm$ 0,15	2,39 $\pm$ 0,41	2,80 $\pm$ 0,45	3,30 $\pm$ 0,68	3,03 $\pm$ 0,63	3,10 $\pm$ 0,75	2,77 $\pm$ 0,41A
GT2	2,59 $\pm$ 0,14	1,24 $\pm$ 0,18	1,50 $\pm$ 0,20	2,07 $\pm$ 0,32	1,97 $\pm$ 0,48	2,07 $\pm$ 0,37	2,06 $\pm$ 0,12	1,93 $\pm$ 0,12AB
GT3	1,81 $\pm$ 0,34	1,66 $\pm$ 0,09	1,11 $\pm$ 0,13	1,87 $\pm$ 0,21	2,20 $\pm$ 0,39	1,59 $\pm$ 0,30	1,53 $\pm$ 0,18	1,68 $\pm$ 0,10B
ΣM	2,34 $\pm$ 0,16a	1,44 $\pm$ 0,09c	1,73 $\pm$ 0,16bc	2,05 $\pm$ 0,21ab	2,39 $\pm$ 0,25a	2,24 $\pm$ 0,22ab	2,16 $\pm$ 0,24ab	

BASÓFILOS $\times 10^3 \mu\text{L}^{-1}$								
Grupos	Momentos							ΣGr
	M0	M1	M3	M5	M7	M9	M11	
GC	0,06 $\pm$ 0,02	0,00 $\pm$ 0,00	0,06 $\pm$ 0,04	0,06 $\pm$ 0,04	0,07 $\pm$ 0,05	0,13 $\pm$ 0,02	0,07 $\pm$ 0,04	0,06 $\pm$ 0,01
GT1	0,02 $\pm$ 0,02	0,00 $\pm$ 0,00	0,01 $\pm$ 0,01	0,08 $\pm$ 0,05	0,11 $\pm$ 0,01	0,02 $\pm$ 0,02	0,00 $\pm$ 0,00	0,03 $\pm$ 0,01
GT2	0,13 $\pm$ 0,06	0,00 $\pm$ 0,00	0,07 $\pm$ 0,02	0,05 $\pm$ 0,03	0,09 $\pm$ 0,04	0,15 $\pm$ 0,06	0,16 $\pm$ 0,11	0,09 $\pm$ 0,02
GT3	0,05 $\pm$ 0,03	0,00 $\pm$ 0,00	0,03 $\pm$ 0,02	0,05 $\pm$ 0,03	0,06 $\pm$ 0,03	0,03 $\pm$ 0,03	0,04 $\pm$ 0,04	0,04 $\pm$ 0,01
ΣM	0,07 $\pm$ 0,02a	0,00 $\pm$ 0,00b	0,04 $\pm$ 0,01ab	0,06 $\pm$ 0,02a	0,08 $\pm$ 0,02a	0,08 $\pm$ 0,02a	0,07 $\pm$ 0,03ab	

*Letras diferentes na mesma linha representam diferença estatística entre os momentos e letras diferentes na mesma coluna representam diferença estatística ente os grupos ($p < .05$). ΣM = média dos momentos; ΣGr = média dos grupos † M0-M11 – dias após a enterotomia

Não foi observada diferença entre a contagem de monócitos, que permaneceram entre $0,02 \pm 0,02$ a $0,25 \pm 0,15$. Os eosinófilos apresentaram interação somente entre os momentos, onde percebemos uma diminuição quando comparamos M1 ($0,02 \pm 0,01$) com M3 ($0,26 \pm 0,06$) (Tabela 9).

Tabela 9. Médias $\pm$ erro padrão contagem absoluta de monócitos e eosinófilos de 16 éguas, divididas em quatro grupos: controle (GC), submetido somente à infusão de solução salina estéril NaCl 0,9%, grupo tratado 1 (GT1) submetidos à infusão de alteplase na cavidade peritoneal, grupo tratado 2 (GT2), submetidos ao implante de membrana de carboximetilcelulose (CMC) + poli (vinil alcoólico) (PVA) na serosa e grupo tratado 3 (GT3) submetidos implante de membrana de CMC + PVA + alteplase na serosa. Jaboticabal, 2018.

MONÓCITOS $\times 10^3 \mu\text{L}^{-1}$								
Grupos	Momentos							ΣGr
	M0	M1	M3	M5	M7	M9	M11	
GC	$0,06 \pm 0,04$	$0,02 \pm 0,02$	$0,07 \pm 0,03$	$0,10 \pm 0,01$	$0,09 \pm 0,06$	$0,21 \pm 0,10$	$0,09 \pm 0,06$	$0,09 \pm 0,02$
GT1	$0,07 \pm 0,05$	$0,02 \pm 0,02$	$0,10 \pm 0,05$	$0,09 \pm 0,03$	$0,05 \pm 0,03$	$0,08 \pm 0,03$	$0,10 \pm 0,04$	$0,07 \pm 0,01$
GT2	$0,15 \pm 0,07$	$0,04 \pm 0,04$	$0,18 \pm 0,05$	$0,23 \pm 0,11$	$0,17 \pm 0,08$	$0,12 \pm 0,06$	$0,12 \pm 0,02$	$0,14 \pm 0,03$
GT3	$0,09 \pm 0,03$	$0,22 \pm 0,08$	$0,11 \pm 0,03$	$0,23 \pm 0,06$	$0,25 \pm 0,15$	$0,16 \pm 0,13$	$0,13 \pm 0,07$	$0,17 \pm 0,03$
ΣM	$0,09 \pm 0,02$	$0,07 \pm 0,03$	$0,12 \pm 0,02$	$0,16 \pm 0,03$	$0,14 \pm 0,05$	$0,14 \pm 0,04$	$0,11 \pm 0,02$	
EOSINÓFILOS $\times 10^3 \mu\text{L}^{-1}$								
Grupos	Momentos							ΣGr
	M0	M1	M3	M5	M7	M9	M11	
GC	$0,10 \pm 0,06$	$0,02 \pm 0,02$	$0,26 \pm 0,16$	$0,42 \pm 0,12$	$0,33 \pm 0,17$	$0,22 \pm 0,08$	$0,13 \pm 0,07$	$0,21 \pm 0,04$
GT1	$0,14 \pm 0,04$	$0,04 \pm 0,04$	$0,33 \pm 0,08$	$0,42 \pm 0,05$	$0,24 \pm 0,08$	$0,18 \pm 0,07$	$0,23 \pm 0,06$	$0,22 \pm 0,03$
GT2	$0,31 \pm 0,13$	$0,00 \pm 0,00$	$0,28 \pm 0,16$	$0,40 \pm 0,20$	$0,32 \pm 0,17$	$0,22 \pm 0,10$	$0,34 \pm 0,13$	$0,27 \pm 0,05$
GT3	$0,16 \pm 0,06$	$0,04 \pm 0,04$	$0,15 \pm 0,03$	$0,03 \pm 0,02$	$0,10 \pm 0,01$	$0,06 \pm 0,06$	$0,04 \pm 0,04$	$0,08 \pm 0,02$
ΣM	$0,18 \pm 0,04\text{ab}$	$0,02 \pm 0,01\text{b}$	$0,26 \pm 0,06\text{a}$	$0,32 \pm 0,07\text{a}$	$0,25 \pm 0,06\text{a}$	$0,17 \pm 0,04\text{ab}$	$0,18 \pm 0,05\text{ab}$	

Letras diferentes na mesma linha representam diferença estatística entre os momentos e letras diferentes na mesma coluna representam diferença estatística entre os grupos ($p < 0,05$). ΣM = média dos momentos; ΣGr = média dos grupos † M0-M11 – dias após a enterotomia

3.3 Líquido peritoneal

Os animais do grupo GT2 e GT3 apresentaram menores valores de pH do líquido peritoneal. Além disso, na comparação entre os momentos, houve diminuição dos valores de pH no M1(6,71±0,15) quando comparado ao M0 (7,19±0,19) (Tabela 10 **Erro! Fonte de referência não encontrada.**).

Tabela 10. Médias $\pm$ erro padrão dos valores de pH do líquido peritoneal de 16 éguas, divididas em quatro grupos: controle (GC), submetido somente à infusão de solução salina estéril NaCl 0,9%, grupo tratado 1 (GT1) submetidos à infusão de alteplase na cavidade peritoneal, grupo tratado 2 (GT2), submetidos ao implante de membrana de carboximetilcelulose (CMC) + poli (vinil alcoólico) (PVA) na serosa e grupo tratado 3 (GT3) submetidos implante de membrana de CMC + PVA + alteplase na serosa. Jaboticabal, 2018.

pH							
Grupos	Momentos						ΣGr
	M0	M1	M3	M7	M9	M11	
GC	7,63±0,24	7,13±0,31	7,00±0,00	7,50±0,29	7,50±0,29	7,50±0,29	7,38±0,11A
GT1	7,25±0,25	7,17±0,14	7,50±0,29	7,25±0,25	7,25±0,25	7,25±0,25	7,28±0,09AB
GT2	6,88±0,13	6,00±0,00	7,00±0,00	6,50±0,29	6,63±0,24	6,75±0,25	6,64±0,10B
GT3	7,00±0,00	6,50±0,20	6,50±0,20	6,63±0,24	6,50±0,20	6,75±0,25	6,65±0,08B
ΣM	7,19±0,19a	6,71±0,15b	7,00±0,13ab	6,97±0,16ab	6,97±0,15ab	7,06±0,14ab	

*Letras diferentes na mesma linha representam diferença estatística entre os momentos e letras diferentes na mesma coluna representam diferença estatística ente os grupos ($p < .05$). Σ M= média dos momentos; Σ Gr = média dos grupos

† M0-M11 – dias após a enterotomia

A densidade do líquido peritoneal aumentou no momento M1(1030,13±1,59) em todos os grupos, permanecendo aumentada até o M11 (1025,63±1,51). Na comparação entre grupos nos diferentes momentos, houve diferença somente em M11, no qual o grupo GT3 (1031,25±2,39) apresentou maior valor médio de densidade que os grupos GC (1021,25±3,39) e GT1 (1021,25±1,25) (Figura 5).

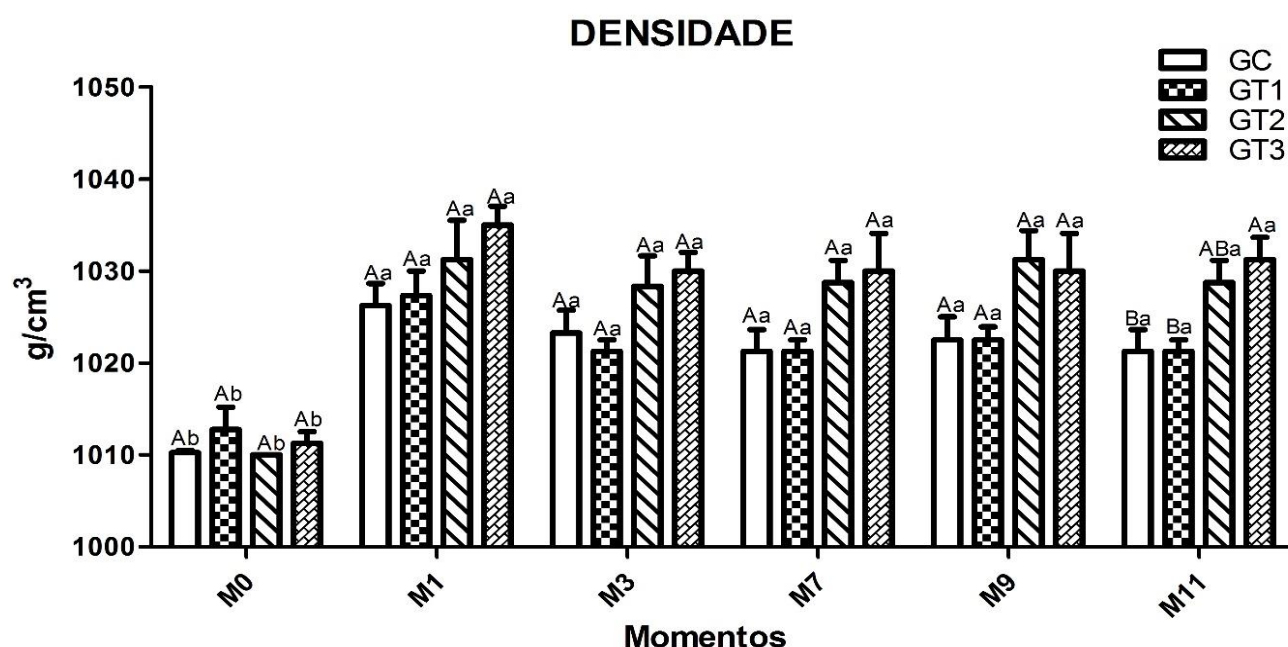


Figura 5. Comparação das médias $\pm$ erro padrão (EPM) das interações entre os momentos, entre os grupos e entre os momentos x grupos da densidade do líquido peritoneal de 16 éguas, divididas em quatro grupos: controle (GC), submetido somente à infusão de solução salina estéril NaCl 0,9%, grupo tratado 1 (GT1) submetidos à infusão de alteplase na cavidade peritoneal, grupo tratado 2 (GT2), submetidos ao implante de membrana de carboximetilcelulose (CMC) + poli (vinil alcoólico) (PVA) na serosa e grupo tratado 3 (GT3) submetidos implante de membrana de CMC + PVA + alteplase na serosa. Jaboticabal, 2018. Letras maiúsculas diferentes significam diferença estatística entre os grupos e letras minúsculas diferentes significam diferença estatística entre os momentos ($p < .05$).

Tanto para a proteína total quanto para o lactato do líquido peritoneal, houve diferença significativa somente na comparação das médias dos momentos, sendo evidente o aumento desses componentes em todos os dias avaliados após a enterotomia em relação ao M0, com destaque para o maior aumento em M1 (Tabela 11).

Tabela 11. Médias $\pm$ erro padrão dos valores de proteína total e lactato do líquido peritoneal de 16 éguas, divididas em quatro grupos: controle (GC), submetido somente à infusão de solução salina estéril NaCl 0,9%, grupo tratado 1 (GT1) submetidos à infusão de alteplase na cavidade peritoneal, grupo tratado 2 (GT2), submetidos ao implante de membrana de carboximetilcelulose (CMC) + poli (vinil alcoólico) (PVA) na serosa e grupo tratado 3 (GT3) submetidos implante de membrana de CMC + PVA + alteplase na serosa. Jaboticabal, 2018.

PROTEÍNA TOTAL DO LÍQUIDO PERITONEAL g.dL ⁻¹							
Grupos	Momentos						Σ Gr
	M0	M1	M3	M7	M9	M11	
GC	0,48 $\pm$ 0,06	3,04 $\pm$ 0,66	2,64 $\pm$ 0,70	2,33 $\pm$ 0,72	2,39 $\pm$ 0,81	2,08 $\pm$ 0,82	2,16 $\pm$ 0,29
GT1	0,50 $\pm$ 0,04	3,66 $\pm$ 0,82	2,46 $\pm$ 0,52	2,16 $\pm$ 0,30	2,33 $\pm$ 0,30	2,28 $\pm$ 0,32	2,17 $\pm$ 0,24
GT2	0,36 $\pm$ 0,07	4,41 $\pm$ 0,79	3,90 $\pm$ 0,61	3,51 $\pm$ 0,74	4,10 $\pm$ 0,72	3,45 $\pm$ 0,50	3,29 $\pm$ 0,36
GT3	0,51 $\pm$ 0,09	5,07 $\pm$ 0,71	4,28 $\pm$ 0,77	4,40 $\pm$ 0,78	4,76 $\pm$ 0,88	4,71 $\pm$ 0,83	3,95 $\pm$ 0,42
Σ M	0,46 $\pm$ 0,03c	4,07 $\pm$ 0,39a	3,32 $\pm$ 0,36ab	3,10 $\pm$ 0,38b	3,40 $\pm$ 0,42ab	3,13 $\pm$ 0,39b	

LACTATO mmol.L ⁻¹							
Grupos	Momentos						Σ Gr
	M0	M1	M3	M7	M9	M11	
GC	0,75 $\pm$ 0,05	2,77 $\pm$ 0,46	1,31 $\pm$ 0,25	1,16 $\pm$ 0,23	0,93 $\pm$ 0,17	1,24 $\pm$ 0,19	1,36 $\pm$ 0,17
GT1	0,73 $\pm$ 0,06	6,03 $\pm$ 2,53	2,36 $\pm$ 1,04	1,15 $\pm$ 0,11	1,30 $\pm$ 0,15	1,58 $\pm$ 0,18	2,02 $\pm$ 0,49
GT2	0,72 $\pm$ 0,09	4,34 $\pm$ 0,59	2,40 $\pm$ 0,74	1,73 $\pm$ 0,25	1,50 $\pm$ 0,25	1,42 $\pm$ 0,23	2,02 $\pm$ 0,28
GT3	0,73 $\pm$ 0,12	4,68 $\pm$ 0,98	3,15 $\pm$ 0,40	2,65 $\pm$ 1,13	2,14 $\pm$ 0,62	2,31 $\pm$ 0,63	2,52 $\pm$ 0,35
Σ M	0,73 $\pm$ 0,04d	4,33 $\pm$ 0,64a	2,31 $\pm$ 0,35b	1,67 $\pm$ 0,31bc	1,47 $\pm$ 0,19c	1,64 $\pm$ 0,19bc	

*Letras diferentes na mesma linha representam diferença estatística entre os momentos e letras diferentes na mesma coluna representam diferença estatística ente os grupos ($p < .05$). Σ M= média dos momentos; Σ Gr = média dos grupos

† M0-M11 – dias após a enterotomia

Da mesma forma, a glicose do líquido apresentou diferença estatística somente na comparação das médias dos momentos, porém houve redução em sua quantificação em M1 e M3 (Tabela 12).

Tabela 12. Médias $\pm$ erro padrão dos valores de glicose do líquido peritoneal de 16 éguas, divididas em quatro grupos: controle (GC), submetido somente à infusão de solução salina estéril NaCl 0,9%, grupo tratado 1 (GT1) submetidos à infusão de alteplase na cavidade peritoneal, grupo tratado 2 (GT2), submetidos ao implante de membrana de carboximetilcelulose (CMC) + poli (vinil alcoólico) (PVA) na serosa e grupo tratado 3 (GT3) submetidos implante de membrana de CMC + PVA + alteplase na serosa. Jaboticabal, 2018.

GLICOSE mmol.L ⁻¹							
Grupos	Momentos						ΣGr
	M0	M1	M3	M7	M9	M11	
GC	6,44±0,16	5,33±0,53	5,57±0,17	6,06±0,28	6,57±0,77	5,91±0,13	5,98±0,17
GT1	6,25±0,06	3,37±1,26	5,04±1,29	6,42±0,79	6,54±0,92	6,78±1,01	5,83±0,42
GT2	5,83±0,09	5,39±0,58	4,72±0,19	5,14±0,22	5,59±0,18	5,44±0,26	5,35±0,13
GT3	6,17±0,20	3,70±0,20	4,02±0,27	4,67±0,66	5,96±0,50	5,47±0,37	5,05±0,24
ΣM	6,17±0,08a	4,578±0,39c	4,83±0,33bc	5,57±0,30ab	6,16±0,31a	5,90±0,29a	

*Letras diferentes na mesma linha representam diferença estatística entre os momentos e letras diferentes na mesma coluna representam diferença estatística ente os grupos ($p < .05$). Σ M= média dos momentos; Σ Gr = média dos grupos

† M0-M11 – dias após a enterotomia.

Após a análise de contagem total de células nucleadas e neutrófilos segmentados do líquido peritoneal, detectou-se diferença estatística entre as médias dos momentos mostrando aumento para ambas variáveis em todos os dias avaliados em relação aos valores basais (M0) (Tabela 13).

Tabela 13. Médias $\pm$ erro padrão da contagem total de células nucleadas e de neutrófilos segmentados do líquido peritoneal de 16 éguas, divididas em quatro grupos: controle (GC), submetido somente à infusão de solução salina estéril NaCl 0,9%, grupo tratado 1 (GT1) submetidos à infusão de alteplase na cavidade peritoneal, grupo tratado 2 (GT2), submetidos ao implante de membrana de carboximetilcelulose (CMC) + poli (vinil alcoólico) (PVA) na serosa e grupo tratado 3 (GT3) submetidos ao implante de membrana de CMC + PVA + alteplase na serosa. Jaboticabal, 2018.

CONTAGEM TOTAL DE CÉLULAS NUCLEADAS							
/mL							
Grupos	Momentos						Σ Gr
	M0	M1	M3	M7	M9	M11	
GC	566 $\pm$ 191	201.850 $\pm$ 55.153	99.645 $\pm$ 73.778	71.201 $\pm$ 35.792	78.888 $\pm$ 55.357	58.525 $\pm$ 34.755	85.112 $\pm$ 21.542
GT1	1.031 $\pm$ 159	63.433 $\pm$ 16.153	79.038 $\pm$ 26.747	69.525 $\pm$ 16.559	76.475 $\pm$ 27.084	82.538 $\pm$ 29.009	62.007 $\pm$ 9.673
GT2	453 $\pm$ 89	113.088 $\pm$ 13.984	129.988 $\pm$ 50.162	108.688 $\pm$ 27.767	108.150 $\pm$ 19.022	123.000 $\pm$ 31.529	97.228 $\pm$ 13.758
GT3	388 $\pm$ 172	117.250 $\pm$ 16.737	208.125 $\pm$ 45.772	144.486 $\pm$ 62.442	167.813 $\pm$ 61.514	107.638 $\pm$ 30.834	124.283 $\pm$ 20.507
Σ M	610 $\pm$ 96b	123.905 $\pm$ 18.694a	129.199 $\pm$ 26.435a	98.475 $\pm$ 19.356a	107.831 $\pm$ 22.079a	92.925 $\pm$ 15.489a	

NEUTRÓFILOS SEGMENTADOS							
/mL							
Grupos	Momentos						Σ Gr
	M0	M1	M3	M7	M9	M11	
GC	410 $\pm$ 195	230.423 $\pm$ 31.039	90.281 $\pm$ 68.286	62.255 $\pm$ 32.338	18.908 $\pm$ 4.592	54.310 $\pm$ 33.454	71.682 $\pm$ 19.772
GT1	532 $\pm$ 112	57.645 $\pm$ 16.146	64.057 $\pm$ 22.857	62.394 $\pm$ 14.780	69.238 $\pm$ 25.709	69.497 $\pm$ 24.844	53.879 $\pm$ 8.553
GT2	176 $\pm$ 35	94.247 $\pm$ 3.736	112.718 $\pm$ 48.443	97.671 $\pm$ 25.491	94.729 $\pm$ 17.074	108.136 $\pm$ 29.247	84.194 $\pm$ 12.695
GT3	229 $\pm$ 107	102.092 $\pm$ 18.473	171.794 $\pm$ 37.967	117.642 $\pm$ 51.106	142.092 $\pm$ 50.464	94.758 $\pm$ 26.973	104.768 $\pm$ 17.045
Σ M	337 $\pm$ 67b	121.102 $\pm$ 18.511a	109.712 $\pm$ 23.539a	84.990 $\pm$ 16.244a	81.242 $\pm$ 17.537a	81.675 $\pm$ 13.980a	

*Letras diferentes na mesma linha representam diferença estatística entre os momentos e letras diferentes na mesma coluna representam diferença estatística entre os grupos ($p < .05$). Σ M = média dos momentos; Σ Gr = média dos grupos † M0-M11 – dias após a enterotomia.

Semelhantemente, a comparação das médias dos momentos da contagem de eosinófilos do líquido apresentou aumento em M1 (365±199), M3 (853±375) , M7 (117±89) e M11 (222±147) em comparação com M0 (3±1) e M9 (0±0) (

Tabela 14).

Tabela 14. Médias $\pm$ erro padrão da contagem total de eosinófilos do líquido peritoneal de 16 éguas, divididas em quatro grupos: controle (GC), submetido somente à infusão de solução salina estéril NaCl 0,9%, grupo tratado 1 (GT1) submetidos à infusão de alteplase na cavidade peritoneal, grupo tratado 2 (GT2), submetidos ao implante de membrana de carboximetilcelulose (CMC) + poli (vinil alcoólico) (PVA) na serosa e grupo tratado 3 (GT3) submetidos implante de membrana de CMC + PVA + alteplase na serosa. Jaboticabal, 2018.

EOSINÓFILOS /mL							
Grupos	Momentos						ΣGr
	M0	M1	M3	M7	M9	M11	
GC	1±3	1.027±889	840±786	340±340	0±0	0±0	372±197
GT1	7±4	435±205	1.820±1.100	128±128	0±0	297±297	448±216
GT2	1±1	0±0	751±649	0±0	0±0	533±533	223±142
GT3	3±2	0±0	0±0	0±0	0±0	60±60	10±10
ΣM	3±1b	365±199a	853±375a	117±89a	0±0b	222±147a	

*Letras diferentes na mesma linha representam diferença estatística entre os momentos e letras diferentes na mesma coluna representam diferença estatística ente os grupos ($p < .05$). Σ M= média dos momentos; Σ Gr = média dos grupos

† M0-M11 – dias após a enterotomia.

A contagem de células mesoteliais mostrou diferença somente entre as médias dos grupos, sendo que houve maior contagem dessas células em GT3 em comparação ao GC e GT1 (Tabela 15).

Tabela 15. Médias $\pm$ erro padrão da contagem total de células mesoteliais do líquido peritoneal de 16 éguas, divididas em quatro grupos: controle (GC), submetido somente à infusão de solução salina estéril NaCl 0,9%, grupo tratado 1 (GT1) submetidos à infusão de alteplase na cavidade peritoneal, grupo tratado 2 (GT2), submetidos ao implante de membrana de carboximetilcelulose (CMC) + poli (vinil alcoólico) (PVA) na serosa e grupo tratado 3 (GT3) submetidos implante de membrana de CMC + PVA + alteplase na serosa. Jaboticabal, 2018.

CÉLULAS MESOTELIAIS							
/mL							
Grupos	Momentos						Σ Gr
	M0	M1	M3	M7	M9	M11	
GC	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0B
GT1	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0B
GT2	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	435 $\pm$ 435	1.037 $\pm$ 1.037	376 $\pm$ 376	1.406 $\pm$ 1.017	566 $\pm$ 259AB
GT3	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	3.026 $\pm$ 1.687	6.769 $\pm$ 3.987	4.112 $\pm$ 2.835	2.318 $\pm$ 932A
Σ M	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	109 $\pm$ 109	1.016 $\pm$ 546	1.786 $\pm$ 1.164	1.379 $\pm$ 801	

*Letras diferentes na mesma linha representam diferença estatística entre os momentos e letras diferentes na mesma coluna representam diferença estatística ente os grupos ($p < .05$). Σ M= média dos momentos; Σ Gr = média dos grupos

† M0-M11 – dias após a enterotomia.

A contagem de linfócitos diferiu entre grupos nos momentos M1 (3.850 ± 912) e M7 (2.733 ± 747), sendo que no primeiro o GC (8.517 ± 1.777) foi superior aos demais grupos e no segundo (M3) GT2 (1.540 ± 390) foi menor que GT3 (2.599 ± 1.301). Enquanto que na comparação dos momentos entre os grupos, houve aumento na contagem de linfócitos no M1 em relação aos demais momentos do GC e no GT2; e aumento na contagem de linfócitos no M7 (5.354 ± 2.626) em relação ao M0 (140 ± 59) do GT3 (Figura 6).

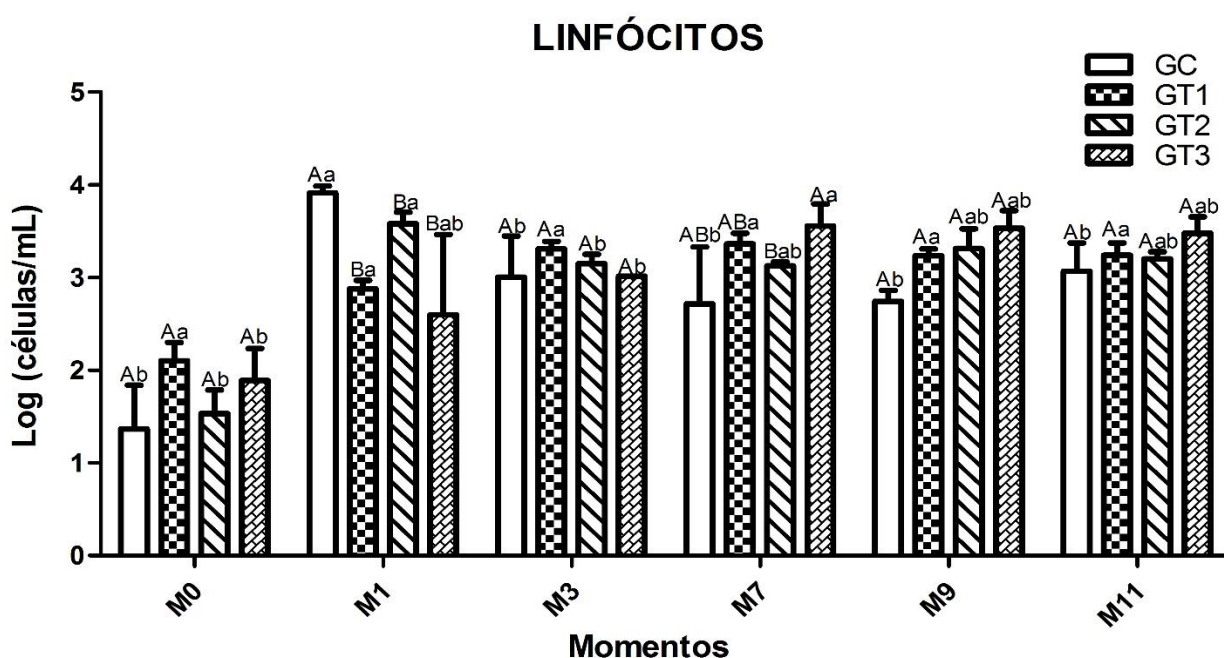


Figura 6. Comparação das médias $\pm$ erro padrão (EPM) das interações entre os momentos, entre os grupos e entre os momentos x grupos da contagem de linfócitos do líquido peritoneal de 16 éguas, divididas em quatro grupos: controle (GC), submetido somente à infusão de solução salina estéril NaCl 0,9%, grupo tratado 1 (GT1) submetidos à infusão de alteplase na cavidade peritoneal, grupo tratado 2 (GT2), submetidos ao implante de membrana de carboximetilcelulose (CMC) + poli (vinil alcoólico) (PVA) na serosa e grupo tratado 3 (GT3) submetidos implante de membrana de CMC + PVA + alteplase na serosa. Jaboticabal, 2018. Letras maiúsculas diferentes significam diferença estatística entre os grupos e letras minúsculas diferentes significam diferença estatística entre os momentos ($p < .05$).

A análise estatística mostrou que a contagem de macrófagos do líquido peritoneal apresentou diferença entre grupos nos momentos M1 (12.953 ± 2.877) e M3 (16.251 ± 3.561), sendo que no primeiro o GT2 (28.047 ± 4.133) foi superior aos demais grupos e no segundo GT3 (33.732 ± 8.464) foi superior aos demais grupos (Figura 7). Na comparação entre os momentos dentro de cada grupo houve diferença na contagem de macrófagos, sendo M1 maior que M0, M7, M9 e M11 no grupo GT2 e M3 maior que M0, M1, M7, M9 e M11 no grupo GT3.

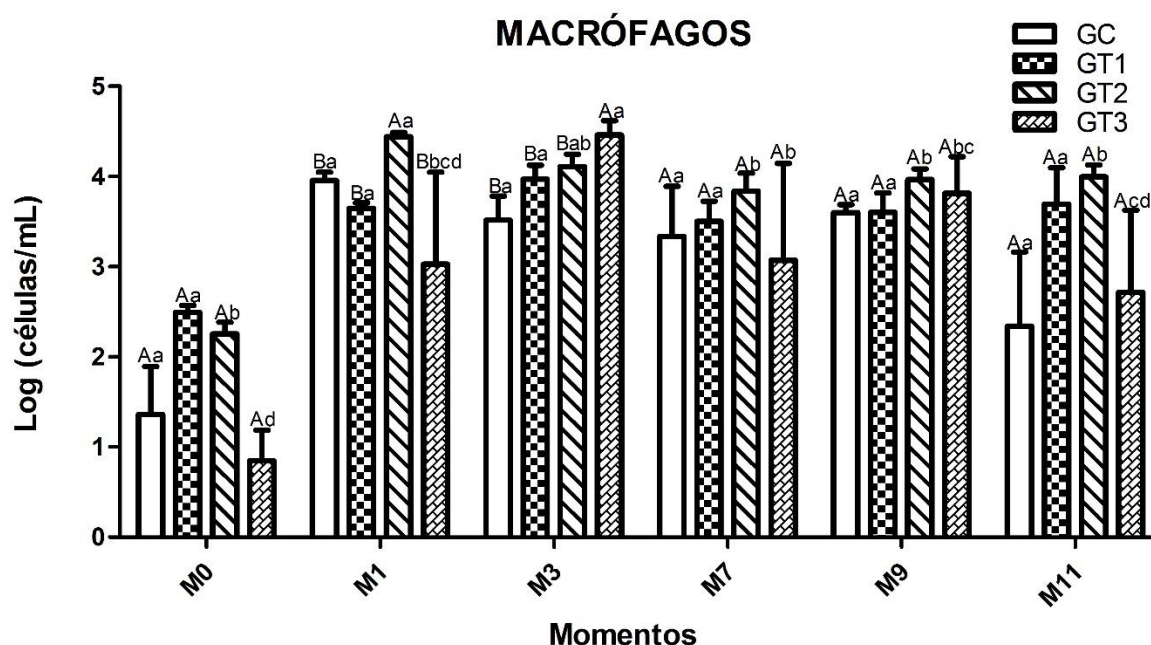


Figura 7. Comparação das médias $\pm$ erro padrão (EPM) das interações entre os momentos, entre os grupos e entre os momentos x grupos da contagem de macrófagos do líquido peritoneal de 16 éguas, divididas em quatro grupos: controle (GC), submetido somente à infusão de solução salina estéril NaCl 0,9%, grupo tratado 1 (GT1) submetidos à infusão de alteplase na cavidade peritoneal, grupo tratado 2 (GT2), submetidos ao implante de membrana de carboximetilcelulose (CMC) + poli (vinil alcoólico) (PVA) na serosa e grupo tratado 3 (GT3) submetidos implante de membrana de CMC + PVA + alteplase na serosa. Jaboticabal, 2018. Letras maiúsculas diferentes significam diferença estatística entre os grupos e letras minúsculas diferentes significam diferença estatística entre os momentos ($p < .05$). Letras maiúsculas diferentes significam diferença

estatística entre os grupos e letras minúsculas diferentes significam diferença estatística entre os momentos ($p < .05$).

3.4 Aderências

Nos grupos GC, GT1 e GT2, 50% dos equinos apresentaram aderência ao exame laparoscópico e no GT3 todos os animais (100%) apresentaram aderências intestinais no local da aplicação da membrana. Dentre o GT3, um animal não foi submetido à videolaparoscopia, pois foi necessária a realização do procedimento de eutanásia, na qual foi identificada a presença de aderência. (Figura 8).

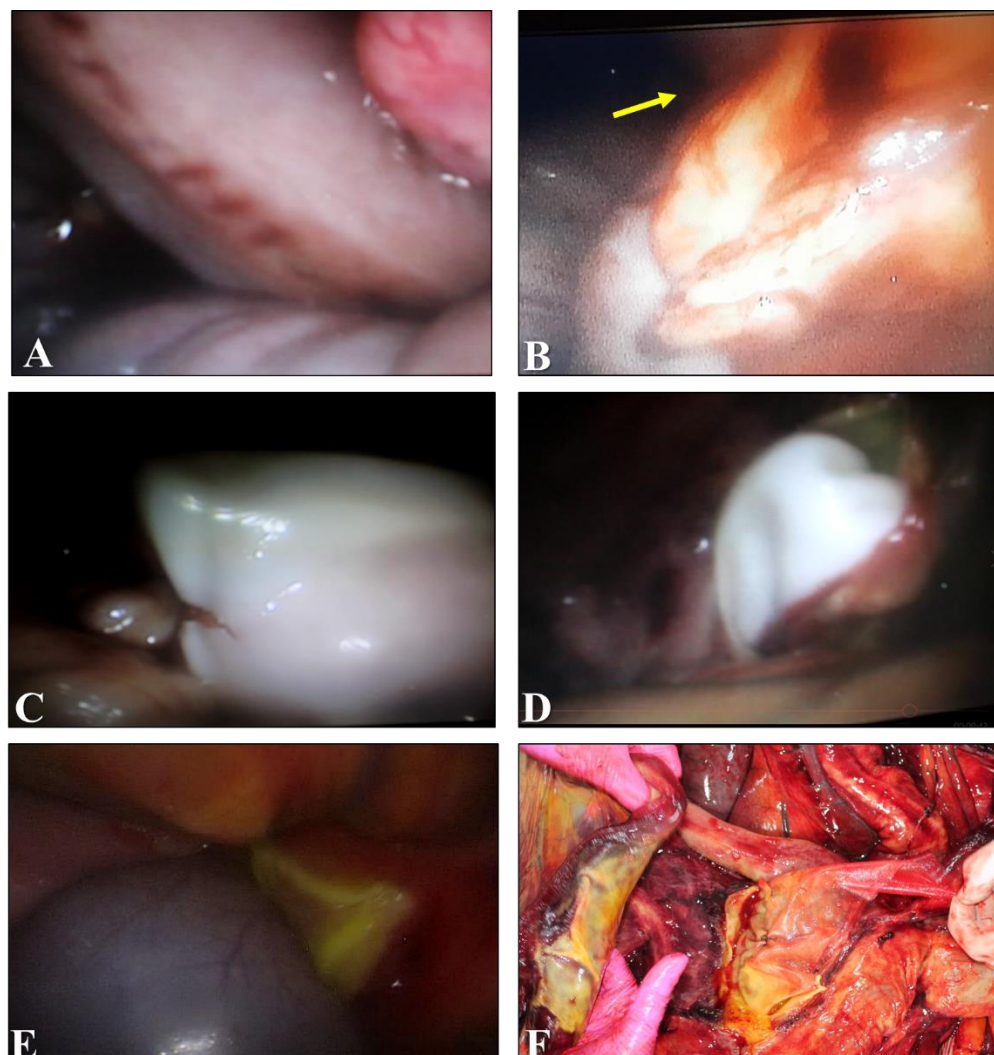


Figura 8. Imagem laparoscópica da região do cólon descendente submetida à enterotomia e implantação de biomaterial e imagem necroscópica. (A) Imagem da região da enterotomia livre de aderências. (B) Imagem da região a enterotomia aderida na parede abdominal (seta). (C) Imagem da membrana de poli (vinil alcoólico) (PVA) + carboximetilcelulose (CMC) do GT2 sem a presença de aderências. (D) Imagem da membrana de PVA + CMC aderida. (E) Imagem da membrana PVA + CMC + alteplase do GT3 aderida. (F) Imagem necroscópica do cólon menos ainda com a presença da membrana após separação da aderência. Jaboticabal, 2018.

4. DISCUSSÃO

Estudos relatam que a frequência cardíaca é um bom indicador de dor, hipovolemia e choque endotoxêmico em cavalos, de modo que frequências cardíacas de 50 ± 19 bpm entre 15 e 25 horas após a cirurgia intestinal foram reportadas.^{21,22} No presente estudo, animais saudáveis foram submetidos a enterotomia do cólon descendente e poucas alterações clínicas foram notadas. Apesar de não apresentarem diferença estatística, os valores de FC se apresentaram dentro ou próximo dos valores de referência para a espécie equina. As maiores frequências cardíacas observadas se concentraram no GT1 e no GT3. O aumento da frequência cardíaca observada no grupo GT1 não denomina sinal de dor pós-operatória, pois um dos animais deste grupo possuía temperamento difícil, se apresentando muito agitado no momento do exame físico. No grupo GT3, um dos animais apresentou a partir do terceiro dia diminuição do apetite e da quantidade de fezes, e a partir do quarto dia pós-operatório, sinais de dor abdominal que foram se intensificando até o décimo segundo dia, onde optou-se, por fins humanitários, a realização do procedimento de eutanásia. O aumento persistente da FC está correlacionado com prognósticos ruins²¹⁻²³. Com exceção do animal citado previamente, os animais presentes neste estudo mantiveram seus valores próximos aos valores de referência, corroborando os achados de Díaz-Archundia et al.²⁴ que observaram FCs em cavalos submetidos a enterotomia variando de 41 bpm, no primeiro dia pós-cirúrgico, a 37bpm, 72 horas após o procedimento, dessa forma, configurando um bom prognóstico de recuperação.

Os resultados aqui encontrados mostraram diminuição da motilidade intestinal até o terceiro dia pós-operatório. Alguns estudos apontam que a inflamação gerada pela

manipulação das alças leva à alteração dos padrões mioelétricos normais, suprimindo a atividade dos músculos intestinais.^{25,26} Ademais, a administração de α -2 agonistas, como a detomidina, utilizada neste estudo, também reduz a motilidade pela ativação dos receptores subtipo α -2A. A detomidina em cavalos reduz o esvaziamento gástrico e diminui a motilidade do duodeno.²⁷ Não há estudos correlacionando a ação destes fármacos em segmentos mais aborais em equinos, porém em cães a medetomidina também afetou a motilidade do cólon e seus efeitos foram mais prolongados quando comparados com outros segmentos intestinais.²⁸ Neste estudo, a diminuição da motilidade nos primeiros dias pós-operatórios, provavelmente, deu-se por vários motivos, tais como: a inflamação causada pela manipulação das alças; ação dos α -2 agonistas; e diminuição do acesso ao alimento.

A perda de sangue gerada durante uma cirurgia intestinal é capaz de alterar os valores de hematócrito e do número de hemácias no período pós-cirúrgico,^{29,30} o que foi constatado neste estudo. Os valores de hemoglobina podem ser alterados pela presença de processo inflamatório crônico associado à injúria tecidual ou infecção, através do sequestro de ferritina nos macrófagos, diminuição da secreção e eficiência da eritropoietina e também pela diminuição da meia vida das hemácias.³¹ No presente estudo, houve diminuição acentuada dos valores de hemoglobina no GT3, sugerindo um maior grau e duração do processo inflamatório. Biomateriais escolhidos para serem utilizados em implantes, devem apresentar boas características de biocompatibilidade de forma a minimizar reações inflamatórias.³² As membranas compostas de CMC vêm sendo utilizadas há algumas décadas como estratégias profiláticas à formação de aderências com resultados satisfatórios.^{15,33} Em relação ao PVA, Slieker et al.³⁴ não perceberam benefícios na utilização de hidrogel de PVA em modelos de anastomose em ratos na prevenção de

aderências pós-cirúrgicas. Outro estudo implantou membranas de PVA no tecido subcutâneo de ovelhas para avaliar sua biocompatibilidade *in vivo* e observou a formação de uma resposta inflamatória crônica, formação de cápsula fibrótica à histopatologia.³⁵ A diminuição dos valores de hemoglobina nos grupos GT3 podem ser atribuídos à persistência do processo inflamatório causado pela implantação da membrana.

A liberação de catecolaminas pela ocasião da dor pós-cirúrgica, possivelmente, ocasionou as alterações na contagem diferencial de leucócitos dos animais no primeiro dia após a enterotomia, sendo essas alterações compatíveis com o leucograma de estresse, que é caracterizado por neutrofilia, linfopenia e eosinopenia, as quais estiveram presentes neste estudo. Apesar desse aumento de neutrófilos não ter gerado leucocitose no M1, isso provavelmente se deve ao fato da migração simultânea de leucócitos para a cavidade peritoneal a partir do primeiro dia pós-cirúrgico, persistindo até o último dia avaliado. Cabe ressaltar que o maior influxo de células se deu no M3, onde evidenciamos leucopenia e a maior contagem de células nucleadas no líquido peritoneal. É relatado na literatura que após cirurgias abdominais há a migração de leucócitos para o local da injúria tecidual ou para a cavidade peritoneal em casos de peritonite, levando à leucopenia nas fases iniciais pós-cirúrgicas.³⁶

Um dos principais mecanismos ao qual se atribui a formação das aderências intestinais é a persistência do processo inflamatório. O trauma cirúrgico induz uma resposta inflamatória caracterizada pela migração de neutrófilos, macrófagos e outros leucócitos para o local da inflamação entre 48 e 72h.^{1,2,37} Vural et al.³⁸ demonstraram a diminuição da formação de aderências intestinais em ratos com neutropenia induzida pela administração

de ciclofosfamida. Outro estudo reduziu significativamente a adesiogênese por meio da administração de anticorpos anti-neutrófilos em ratos, mostrando a importância destas células para o desenvolvimento desta afecção.³⁹

As células T CD4⁺ com fenótipo Th1 secretam IL-17, uma potente citocina pró-inflamatória que orchestra a migração de leucócitos para a cavidade peritoneal.¹¹ Chung et al.¹¹ demonstraram a redução no desenvolvimento das aderências após abrasão cecal em animais com depleção de células T. Neste mesmo estudo foi evidenciada a migração de células T CD4⁺ até 72 horas após a cirurgia intestinal¹¹. Observamos a diminuição das células T CD4⁺ em 3 dos 4 grupos deste trabalho, porém essa diminuição não acarretou no aumento simultâneo das células inflamatórias no líquido peritoneal, por este motivo a quantificação das células T CD4⁺ no sangue e líquido peritoneal se faz necessária para elucidar a cinética deste tipo celular após cirurgia abdominal em equinos e sua implicação no desenvolvimento de aderências.

A densidade e a dosagem de proteína do líquido peritoneal são importantes parâmetros que podem identificar o tipo de efusão presente nos equinos, além de identificar a possível lesão presente. O valor normal de proteína total no líquido peritoneal de equinos deve ser menor que 2,5 g.dL⁻¹,⁴⁰ e os equinos submetidos somente a celiotomia exploratória apresentaram valores de proteína total de 4,38 ± 0,54 g.dL⁻¹ no primeiro dia e 3,92 ± 2,20 g.dL⁻¹ no sétimo dia pós-cirúrgico.⁴¹ Em nosso estudo, a proteína total apresentou comportamento semelhante e atingiu valores compatíveis com a classificação clínico-patológica de exsudato. Os exsudatos podem ser caracterizados pela alteração da permeabilidade vascular causada por mediadores inflamatórios,²⁹ que, neste caso, foram

gerados pelo estímulo cirúrgico. É interessante notar que mesmo após 11 dias após a cirurgia, os valores de proteína total não retornam aos valores basais, sugerindo que a inflamação continuou presente até o 11º dia pós enterotomia.

Os valores de pH e glicose encontrados nos momentos pós-enterotomia se encontram levemente abaixo dos valores de referência para a espécie e podem ter sido em consequência de uma leve peritonite asséptica. De acordo com Van Hoogmoed e colaboradores,⁴² valores de pH e glicose são úteis para o diagnóstico precoce de peritonite, sendo valores de pH menores que 7,3, de glicose menores que 1,6 mmol.L⁻¹ e a diferença entre glicose plasmática e peritoneal maior que 2,7 mmol.L⁻¹, caracterizando peritonite séptica e endotoxemia. Em relação ao lactato peritoneal, observamos um aumento acentuado em M1, inferindo uma situação de hipoperfusão teciduais pós-cirúrgica, uma vez que o lactato é um produto da glicólise anaeróbia e em situações de diminuição de perfusão sanguínea ou hipóxia sua produção é aumentada.⁴³

A avaliação laparoscópica é considerada um procedimento cirúrgico minimamente invasivo⁴⁴ e é uma ferramenta útil para avaliação da cavidade abdominal especialmente sua porção dorsal, não acessível por meio de celiotomia mediana.^{45,46} Neste estudo a videolaparoscopia foi importante para a avaliação da presença ou não de aderências intestinais. Observou-se uma alta incidência de aderências nos grupos avaliados.

Muitos estudos experimentais com agentes trombolíticos foram utilizados em animais de laboratório para a prevenção de aderências,⁴⁷ porém em equinos, não há relatos de sua utilização,¹⁸ devido ao seu alto custo. Não observamos complicações na utilização intra-abdominal como hemorragias, relatadas em outros experimentos com streptokinase,

um fármaco de ação semelhante à alteplase.⁴⁸⁻⁵⁰ Montz e colaboradores⁵¹ perceberam efeitos satisfatórios na prevenção de aderências em cirurgias intestinais radicais em cães, após a administração seriada de alteplase intraperitoneal. Diversos estudos demonstraram eficácia na utilização da alteplase para a prevenção de aderências intestinal em ratos^{52,53} e coelhos⁵⁴, porém um estudo associando a alteplase à CMC não preveniu a formação de aderências e apresentou complicações como hemorragia^{55,56}. Mais investigações são necessárias para avaliar a eficácia da alteplase na prevenção de aderências em equinos.

Muitos estudos avaliaram o desenvolvimento de aderências intestinais em equinos utilizando-se barreiras físicas, como a infusão CMC e membrana combinada com hialuronato de sódio. No entanto, a seleção dos casos e comparação dos grupos geralmente é feita entre equinos com diferentes afecções e procedimentos cirúrgicos. Juntamente com a ausência de acompanhamento dos animais a longo prazo, a falta de informações acerca da incidência de relapatorotomia e/ou necropsia dificulta a avaliação da eficácia na prevenção das aderências intestinais por este tipo de membrana.¹²

A utilização do PVA para a prevenção de aderências intestinais tem sido avaliada em modelos leporinos associada à CMC, no formato de gel e murinos,^{57,58} associada à gelatina, em formato de membrana. O PVA associado à CMC como um gel obteve resultados promissores, prevenindo as aderências intestinais em 79% dos animais tratados.³⁰ O PVA associado à gelatina foi utilizado em 3 formulações contendo diferentes porcentagens de gelatina/PVA (10/90, 30/70 e 50/50) obtendo resultados favoráveis somente na formulação na qual se apresentava em menor proporção (10/90) e constatando que maiores porcentagens de PVA induziram maior presença de tecido fibroso, e

consequentemente a formação de aderências.⁵⁸ Até o presente momento, não há dados sobre a utilização de membranas de CMC + PVA em equinos para prevenção de aderências pós-operatórias. Na avaliação laparoscópica do GT2 foram identificadas duas membranas íntegras, sem sinais de degradação e livre de aderências tanto entre os segmentos do intestino quanto à parede abdominal e duas membranas não puderam ser integralmente visibilizadas em decorrência da extensão das aderências desenvolvidas. No GT3 todos os animais apresentaram aderências. Apesar de não apresentar complicações como hemorragias, nossos resultados foram semelhantes aos encontrados por Gehlback e colaboradores,⁵⁵ onde todos os coelhos tratados com alteplase associada à CMC apresentaram aderências. Em nosso estudo podemos atribuir a presença de aderências em metade dos animais do GT2 provavelmente a reação inflamatória gerada pela presença da membrana, como observado por Bae e colaboradores.⁵⁷ O GT3 possui além do CMC e PVA, a alteplase em sua formulação, porém o GT1 tratado somente com a alteplase apresentou 50% menos aderências que o GT3. Baseados nesses resultados, podemos inferir que a resposta inflamatória que gerou 100% de aderências no GT3 foi potencializada pela presença da alteplase. Este estudo vestes resultados, a presente formulação de biomembrana contendo CMC + PVA e CMC + PVA + Alteplase não preveniu a formação aderências em equinos.

As aderências intestinais são afecções subestimadas na clínica cirúrgica de equinos. As alterações clínico-patológicas observadas no decorrer no período pós-cirúrgico não são capazes de fornecer informações sobre a evolução das aderências, mesmo utilizando-se de estratégias profiláticas. A avaliação laparoscópica é fundamental para a avaliação da cavidade peritoneal após cirurgia e a eficácia dos tratamentos utilizados. A confecção de

novos biomateriais é necessária para que se possa desenvolver estratégias profiláticas que possuam bom custo benefício para utilização na área da gastroenterologia equina.

Comitê de ética

Este estudo foi aprovado e realizado de acordo com as diretrizes da Comissão de ética no Uso de Animais (CEUA) da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias Unesp Jaboticabal, sob o número de protocolo 11.694/16.

Financiamento

Esta pesquisa foi financiada integralmente pela Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (Processo FAPESP 2015/17504-7 e 2016/09713-8)

Agradecimentos

Os autores gostariam de agradecer a Dra. Mayara Gonçalves da Fonseca pela realização das análises estatísticas desse trabalho.

5. REFERÊNCIAS

1. Rizzo A, Spedicato M, Mutinati M, et al. Peritoneal adhesions in human and veterinary medicine: from pathogenesis to therapy. A review. *Immunopharmacol Immunotoxicol.* 2010;32:481-494.
2. Moris D, Chakedis J, Rahnemai-Azar AA, et al. Postoperative abdominal adhesions: clinical significance and advances in prevention and management. *J Gastrointest Surg.* 2017;21:1713-1722.

3. Margetic S. Inflammation and hemostasis. *Biochem medica: Biochem medica*. 2012;22:49-62.
4. Hopster-Iversen CC, Hopster K, Staszuk C, et al. Effects of experimental mechanical manipulations on local inflammation in the jejunum of horses. *Am J Vet Res*. 2014;75:385-391.
5. Hopster-Iversen C, Hopster K, Staszuk C, et al. Influence of mechanical manipulations on the local inflammatory reaction in the equine colon. *Equine Vet J* 2011;43:1-7.
6. Heemskerk JW, Bevers EM, Lindhout T. Platelet activation and blood coagulation. *Thromb and haemostasis* 2002;88:186-193.
7. Mutsaers SE, Birnie K, Lansley S, et al. Mesothelial cells in tissue repair and fibrosis. *Front pharmacol* 2015;6:113.
8. Sulaiman H, Dawson L, Laurent G, et al. Role of plasminogen activators in peritoneal adhesion formation. In: Portland Press Limited; 2002.
9. Maciver AH, McCall M, Shapiro AJ. Intra-abdominal adhesions: cellular mechanisms and strategies for prevention. *Int J Surg* 2011;9:589-594.
10. Hellebrekers BW, Emeis JJ, Kooistra T, et al. A role for the fibrinolytic system in postsurgical adhesion formation. *Fertil Steril* 2005; 83: 122-129.
11. Chung DR, Chitnis T, Panzo RJ, et al. CD4⁺ T cells regulate surgical and postinfectious adhesion formation. *J Exp Med* 2002; 195: 1471-1478.
12. Freeman D. Fifty years of colic surgery. *Equine Vet J* 2018; 0: 1-13.

13. Alonso JdM, Alves ALG, Watanabe MJ, et al. Peritoneal response to abdominal surgery: the role of equine abdominal adhesions and current prophylactic strategies. *Vet Med Int.* 2014; 2014.
14. Troy JR, Holcombe SJ, Fogle CA, et al. Effects of hyaluronate-carboxymethylcellulose membranes on the clinical outcome of horses undergoing emergency exploratory celiotomy. *Vet Surg* 2018; 47: 385-391.
15. Freeman D, Schaeffer D. Clinical comparison between a continuous Lembert pattern wrapped in a carboxymethylcellulose and hyaluronate membrane with an interrupted Lembert pattern for one-layer jejunojejunostomy in horses. *Equine Vet J* 2011; 43: 708-713.
16. Renz BW, Leitner K, Odermatt E, et al. PVA gel as a potential adhesion barrier: a safety study in a large animal model of intestinal surgery. *Langenbecks Arch Surg* 2014; 399: 349-357.
17. Li J, Feng X, Liu B, et al. Polymer materials for prevention of postoperative adhesion. *Acta Biomater* 2017; 61: 21-40.
18. Eggleston RB, Mueller P. Prevention and treatment of gastrointestinal adhesions. *Vet Clin N Am-Equine* 2003; 19: 741-763.
19. Mair T. Contributions to an evidence-based medicine approach to colic surgery. *Equine Vet J.* 2002; 34: 428-429.
20. Hamza E, Gerber V, Steinbach F, et al. Equine CD4⁺ CD25^{high} T cells exhibit regulatory activity by close contact and cytokine-dependent mechanisms in vitro. *Immunology* 2011; 134: 292-304.

21. Moore BR, Moore RM. Examination of the equine patient with gastrointestinal emergency. *Vet Clin N Am-Equine*.1994; 10: 549-566.
22. Proudman C, Smith J, Edwards G, et al. Long-term survival of equine surgical colic cases. Part 2: Modelling postoperative survival. *Equine Vet J*. 2002; 34: 438-443.
23. Van der Linden MA, Laffont CM, van Oldruitenborgh-Oosterbaan MMS. Prognosis in equine medical and surgical colic. *J Vet Int Med* 2003; 17: 343-348.
24. Díaz-Archundia AY, Ibancovich-Camarillo JA, Recillas-Morales S, et al. Effects of Jejunal Manipulation During Surgical Laparotomy Techniques and Its Evaluation Using Physical, Clinical, and Echographic Parameters in Horses. *J Equine Vet Sci* 2017; 58: 40-46.
25. Koenig J, Cote N. Equine gastrointestinal motility—ileus and pharmacological modification. *The Canadian Veterinary Journal* 2006; 47: 551.
26. Dart A, Peauroi J, Hodgson D, et al. Efficacy of metoclopramide for treatment of ileus in horses following small intestinal surgery: 70 cases (1989–1992). *Aust Vet J* 1996; 74: 280-284.
27. Valverde A. Alpha-2 agonists as pain therapy in horses. *Veterinary Clinics: Equine Practice* 2010; 26: 515-532.
28. Maugeri S, FERRÈ I, Intorre L, et al. Effects of medetomidine on intestinal and colonic motility in the dog. *Journal of veterinary pharmacology and therapeutics* 1994; 17: 148-154.
29. Walton R. Fluid Analysis. In: Walton R, ed. *Equine Clinical Pathology*, 1ed ed. Hoboken: John Wiley & Sons; 2014: 357-362.

30. Teixeira LG. Processo de reparo no cólon descendente equino submetido ou não a distensão luminal: aspectos clínicos, bioquímicos e anatomopatológicos. 2011.
31. Agarwal N, Prchal JT. Anemia of chronic disease (anemia of inflammation). *Acta haematologica* 2009; 122: 103-108.
32. Yeo Y, Kohane DS. Polymers in the prevention of peritoneal adhesions. *European Journal of pharmaceuticals and Biopharmaceutics* 2008; 68: 57-66.
33. Mueller PE, Harmon BG, Hay WP, et al. Effect of carboxymethylcellulose and a hyaluronate-carboxymethylcellulose membrane on healing of intestinal anastomoses in horses. *Am J Vet Res* 2000; 61: 369-374.
34. Sliker JC, Ditzel M, Harlaar JJ, et al. Effects of new anti-adhesion polyvinyl alcohol gel on healing of colon anastomoses in rats. *Surgical infections* 2012; 13: 396-400.
35. Nuno A, Ribeiro J, Gärtner A, et al. Biocompatibility and hemocompatibility of polyvinyl alcohol hydrogel used for vascular grafting—in vitro and in vivo studies. *Journal of Biomedical Materials Research Part A* 2014; 102: 4262-4275.
36. Faleiros R. Obstrução experimental do cólon menor eqüino: aspectos clínicos, patológicos e terapêuticos. 2003 - Tese de Doutorado em Cirurgia Veterinária, Faculdade de Ciências Agrárias e ..., 2003.
37. Ward BC, Panitch A. Abdominal adhesions: current and novel therapies. *J Surg Res* 2011; 165: 91-111.
38. Vural B, Cantürk NZ, Esen N, et al. The role of neutrophils in the formation of peritoneal adhesions. *Human reproduction* 1999; 14: 49-54.

39. ten Raa S, Van den Tol MP, Sluiter W, et al. The role of neutrophils and oxygen free radicals in post-operative adhesions. *J Surg Res* 2006; 136: 45-52.
40. Nieto J. Peritoneal Fluid. In: Pusterla N, Higgins J, eds. *Interpretation of equine laboratory diagnostics*. Hoboken: John Wiley & Sons; 2018: 357-362.
41. Hanson R, Nixon A, Gronwall R, et al. Evaluation of peritoneal fluid following intestinal resection and anastomosis in horses. *Am J Vet Res* 1992; 53: 216-221.
42. Van LH, Rodger LD, Spier SJ, et al. Evaluation of peritoneal fluid pH, glucose concentration, and lactate dehydrogenase activity for detection of septic peritonitis in horses. *J Am Vet Med Assoc* 1999; 214: 1032-1036.
43. Peloso JG, Cohen ND. Use of serial measurements of peritoneal fluid lactate concentration to identify strangulating intestinal lesions in referred horses with signs of colic. *J Am Vet Med Assoc* 2012; 240: 1208-1217.
44. Wilson D. Minimally invasive surgery in the horse. *Large Animal Veterinary Rounds* 2008; 8.
45. Graham S, Freeman D. Standing diagnostic and therapeutic equine abdominal surgery. *Veterinary Clinics: Equine Practice* 2014; 30: 143-168.
46. Ragle C. Laparoscopy. In: Mair T, Divers T, Ducharme N, eds. *Manual of equine gastroenterology*. London: WB Saunders; 2002: 41-46.
47. Hellebrekers BW, Trimbos-Kemper TC, Trimbos JBM, et al. Use of fibrinolytic agents in the prevention of postoperative adhesion formation. *Fertility and sterility* 2000; 74: 203-212.

48. Wiseman D, Kamp L, Linsky C, et al. Fibrinolytic drugs prevent pericardial adhesions in the rabbit. *J Surg Res* 1992; 53: 362-368.
49. James D, Ellis H, Hugh T. The effect of streptokinase on experimental intraperitoneal adhesion formation. *The Journal of pathology and bacteriology* 1965; 90: 279-287.
50. Teixeira LG. Reparação tecidual e perfil hematológico de leporinos submetidos à prevenção de aderência abdominal após enterotomia colônica: modelo para equinos. 2018.
51. Montz F, Fowler JM, Wolff AJ, et al. The ability of recombinant tissue plasminogen activator to inhibit post-radical pelvic surgery adhesions in the dog model. *American Journal of Obstetrics & Gynecology* 1991; 165: 1539-1542.
52. Stapel A, Geissler N, Mlasowsky B, et al. Behavior of postoperative adhesions after intraperitoneal administration of fibrinolytic drugs in a rat model. *Langenbecks Archiv für Chirurgie* 1997; 382: 33-36.
53. Hill-West JL, Dunn RC, Hubbell JA. Local release of fibrinolytic agents for adhesion prevention. *J Surg Res* 1995; 59: 759-763.
54. Menzies D, Ellis H. Intra-abdominal adhesions and their prevention by topical tissue plasminogen activator. *J R Soc Med* 1989; 82: 534-535.
55. Gehlbach DL, O'Hair KC, Parks AL, et al. Combined effects of tissue plasminogen activator and carboxymethylcellulose on adhesion reformation in rabbits. *International journal of fertility and menopausal studies* 1994; 39: 172-176.
56. Holmdahl Z, AL-Jobreen M, Risberg B. The role of fibinolysis in the formation of postoperative adhesions. *Wound Rep Reg* 1994; 7: 171-176.

57. Bae SH, Son SR, Kumar Sakar S, et al. Evaluation of the potential anti-adhesion effect of the PVA/Gelatin membrane. *Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials* 2014; 102: 840-849.
58. Lang RA, Grüntzig PM, Weisgerber C, et al. Polyvinyl alcohol gel prevents abdominal adhesion formation in a rabbit model. *Fertility and sterility* 2007; 88: 1180-1186.