

MAURICIA CAETANO CAMMAROTA

**AVALIAÇÃO DA FUNÇÃO ABSORTIVA DE SEGMENTO JEJUNAL
NEOVASCULARIZADO POR OMENTOENTEROPEXIA EM RATOS.**

**Dissertação apresentada à
Universidade de Brasília – Faculdade
de Medicina, para a obtenção do
Título de Mestre em Ciências Médicas**

**COORDENADOR: Professor Doutor Leopoldo Luis dos Santos Neto
ORIENTADORA: Professora Doutora Mércia Maria Braga Rocha**

Brasília

2006

Cammarota, Mauricia Caetano.

Avaliação da função absorptiva de segmento jejunal neovascularizado por omentoenteropexia em ratos. Brasília (DF), 2006
123p.

Dissertação de mestrado – Faculdade de Medicina – Universidade de Brasília.

1. Síndrome do intestino curto. 2. Omentoenteropexia. 3. Absorção de d-xilose. 4. Cirurgia. 5. Ratos.

Aos meus amados pais, Stela e Márcio, exemplos e amigos insuperáveis.

Ao Fernando, amado companheiro.

Ao Marcelo e ao Enzo, que serão sempre minha inspiração.

AGRADECIMENTO ESPECIAL

À Professora Dra. Mércia Maria Braga Rocha por sua orientação, dedicação e empenho para a pesquisa e formação de pesquisadores.

AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Dr. Paulo Tubino, mestre, exemplo de determinação e comprometimento.

Aos acadêmicos de medicina da Universidade de Brasília, Bruno de Almeida Pessanha Guedes, Bruno Rodrigues de Moura Santos e Larissa Goveia Moreira, pelo inestimável auxílio na fase experimental do estudo.

Ao Dr. Luiz Fernando Marouelli e ao Dr. Orlando Czarneski pelo empenho para concessão da liberação de carga-horária que possibilitou a realização do mestrado.

Ao Prof. Dr. Luiz Alberto Simioni, do Laboratório de Farmacologia da Faculdade de Medicina da Universidade de Brasília, que permitiu a utilização dos equipamentos e instalações do laboratório para a realização do teste da d-xilose.

Ao Prof. Dr. Mário Moraes do Laboratório de Patologia do Hospital Universitário de Brasília, por permitir a utilização de suas instalações e equipamentos para leitura e análise morfométrica das lâminas.

Ao Prof. Dr. Florêncio Figueiredo C. Neto pela inestimável colaboração na preparação das lâminas e realização da avaliação imuno-histoquímica das peças.

Ao Sr. César Augusto Melo pela precisão e presteza na realização das análises estatísticas dos dados obtidos.

Ao Dr. Simônides Bacelar pelo empenho na revisão ortográfica e estilística do texto da dissertação.

À Dra. Marcela Caetano Cammarota e ao Dr. Aldo Pereira Neto pelo auxílio na revisão ortográfica e na formatação do texto da dissertação.

Ao Sr. Paulo H. B. Leite pela sua competência e disponibilidade na realização das fotografias.

À Dra. Gabriela Mariângela Farias de Oliveira, médica veterinária responsável pelo Laboratório de Cirurgia Experimental da Faculdade de Medicina da Universidade de Brasília, e aos funcionários Sr.^{ta} Renata Ribeiro de Sousa e Sr. José Tavares dos Santos, pela colaboração na fase experimental do estudo.

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1. Fotografia que demonstra a ligadura dos vasos mesentéricos para a enterectomia de 90% do intestino delgado.
- Figura 2a. Fotografia que demonstra a enterectomia realizada e os cotos intestinais prontos para a anastomose término-terminal.
- Figura 2b. Desenho esquemático do intestino remanescente após enterectomia de 90% do intestino delgado, mostrando o local da enterotomia e da anastomose jejunoileal.
- Figura 3. Fotografia que demonstra a anastomose jejunoileal término-terminal.
- Figura 4a. Fotografia que demonstra a incisão antimesentérica do delgado para a omentoenteropexia.
- Figura 4b. Desenho esquemático da incisão seromuscular na borda antimesentérica do jejuno.
- Figura 5a. Fotografia demonstrando a omentoenteropexia.
- Figura 5b. Desenho esquemático da omentoenteropexia.
- Figura 6a. Fotografia demonstrando a ligadura do mesentério e a alça vascularizada pela omentoenteropexia.
- Figura 6b. Desenho esquemático da enterostomia, ligadura e secção do mesentério.
- Figura 7. Fotografia do conjunto de gaiolas metabólicas individuais utilizadas no experimento.
- Figura 8a. Fotografia demonstrando a peça retirada, imediatamente antes da fixação.
- Figura 8b. Fotografia demonstrando a abertura longitudinal na borda antimesentérica da peça.
- Figura 9a. Desenho esquemático demonstrando o padrão da aferição da altura das vilosidades e da profundidade das criptas intestinais.
- Figura 9b. Fotografia demonstrando a aferição da altura das vilosidades e profundidade das criptas intestinais.



- Figura 10. Fotografia demonstrando as criptas jejunais com aumento de 40x, após a marcação imuno-histoquímica pelo PCNA. As células marcadas são de coloração marrom-escuro.
- Figura 11. Gráfico da variação ponderal dos animais dos grupos C, IC e ICOE.
- Figura 12. Gráfico de barras que representam as médias mais ou menos o desvio padrão da concentração de xilose urinária nos grupos C, IC e ICOE.
- Figura 13. Análise da xilose total absorvida nos grupos C, IC e ICOE – diagrama box-plot.
- Figura 14. Gráfico de barras que representam as médias mais ou menos o desvio padrão das medidas de altura das vilosidades nos grupos C, IC e ICOE.
- Figura 15. Gráfico de barras que representam as médias mais ou menos o desvio padrão das medidas de profundidade das criptas nos grupos C, IC e ICOE.
- Figura 16. Histograma da variável peso inicial com curva normal.
- Figura 17. Histograma da variável peso 1 (peso após uma semana desde o início do estudo) com curva normal.
- Figura 18. Histograma da variável peso 2 (peso após duas semanas desde o início do estudo) com curva normal.
- Figura 19. Histograma da variável peso 3 (peso após três semanas desde o início do estudo) com curva normal.
- Figura 20. Histograma da variável peso 4 (peso após quatro semanas desde o início do estudo) com curva normal.
- Figura 21. Histograma da variável peso 5 (peso após cinco semanas desde o início do estudo) com curva normal.
- Figura 22. Histograma da variável peso 6 (peso após seis semanas desde o início do estudo) com curva normal.
- Figura 23. Histograma da variável peso xilose (peso aferido na data do teste de absorção da d-xilose) com curva normal.
- Figura 24. Histograma da variável peso eutanásia (peso aferido na data da eutanásia) com curva normal.
- Figura 25. Histograma da variável concentração de xilose urinária com curva normal.

Figura 26. Histograma da variável xilose total absorvida com curva normal.

Figura 27. Curva padrão de absorbâncias para diluições crescentes de d-xilose com a equação gerada pela curva.

LISTA DE TABELAS

- Tabela 1. Pesos dos animais do grupo-controle (C).
- Tabela 2. Pesos dos animais do grupo intestino curto (IC).
- Tabela 3. Pesos dos animais do grupo intestino curto e omentoenteropexia (ICOE).
- Tabela 4. Resultado do teste de absorção da d-xilose no grupo-controle (C).
- Tabela 5. Resultado do teste de absorção da d-xilose no grupo intestino-curto (IC).
- Tabela 6. Resultado do teste de absorção da d-xilose no grupo intestino-curto e omentoenteropexia (ICOE).
- Tabela 7. Resultado do pós-teste de Tukey para a variável concentração de d-xilose urinária.
- Tabela 8. Resultado do teste de Kruskal-Wallis para a variável d-xilose total absorvida.
- Tabela 9. Altura das vilosidades da mucosa intestinal dos ratos do grupo C em micrômetros.
- Tabela 10. Profundidade das criptas da mucosa intestinal dos ratos do grupo C em micrômetros.
- Tabela 11-a. Altura das vilosidades da mucosa intestinal dos ratos (1 a 7) do grupo IC em micrômetros.
- Tabela 11-b. Altura das vilosidades da mucosa intestinal dos ratos (8 a 14) do grupo IC em micrômetros.
- Tabela 12-a. Profundidade das criptas da mucosa intestinal dos ratos (1 a 7) do grupo IC em micrômetros.
- Tabela 12-b. Profundidade das criptas da mucosa intestinal dos ratos (1 a 7) do grupo IC em micrômetros.
- Tabela 13-a. Altura das vilosidades da mucosa intestinal dos ratos (1 a 8) do grupo ICOE em micrômetros.
- Tabela 13-b. Altura das vilosidades da mucosa intestinal dos ratos (9 a 15) do grupo ICOE em micrômetros.

- Tabela 14-a. Profundidade das criptas da mucosa intestinal dos ratos (1 a 8) do grupo ICOE em micrômetros.
- Tabela 14-b. Profundidade das criptas da mucosa intestinal dos ratos (9 a 15) do grupo ICOE em micrômetros.
- Tabela 15-a. Altura das vilosidades e profundidade das criptas da mucosa jejunal (em micrômetros) - análise estatística.
- Tabela 15-b. Comparação dos grupos quanto as variáveis altura das vilosidades e profundidade das criptas: pós-teste de Tukey.
- Tabela 16. Contagem das células em fase proliferativa nas criptas jejunais dos ratos do grupo C.
- Tabela 17. Contagem das células em fase proliferativa nas criptas jejunais dos ratos do grupo IC.
- Tabela 18. Contagem das células em fase proliferativa nas criptas jejunais dos ratos do grupo ICOE.

ÍNDICE

1. INTRODUÇÃO	01
2. OBJETIVO	04
3. LITERATURA	05
4. MÉTODO	20
5. RESULTADOS	46
6. DISCUSSÃO	82
7. CONCLUSÃO	91
8. REFERÊNCIAS	92
9. NORMAS ADOTADAS	100
10. RESUMO	101
11. ABSTRACT	102
12. APÊNDICE	103
13. ANEXOS	115

1. INTRODUÇÃO

A síndrome do intestino curto (SIC) é uma condição clínica caracterizada pela malabsorção de nutrientes, causada por perda da extensão ou capacidade funcional do intestino delgado (KVIETYS, 1999). Seu tratamento representa um grande desafio. O manejo cirúrgico é foco de controvérsias e objeto de pesquisa na busca da excelência técnica em um espectro terapêutico que abrange desde as reconstruções autólogas até o transplante intestinal (BIANCHI, 2006). A neovascularização por omentoenteropexia, como alternativa para o alongamento intestinal, representa, nesse contexto, uma técnica cujo potencial de aplicação no tratamento da SIC tem sido avaliado.

A omentoenteropexia foi proposta como alternativa técnica experimental de neovascularização intestinal pela primeira vez por SHOSHANY, COHEN, MORDOHOVICH, HAYARI, HAR-SHAI e BAR-MAOR (1994-b). Entretanto, desde 1946, quando um segmento de intestino delgado foi implantado no subcutâneo, posteriormente liberado de seus vasos mesentéricos e utilizado como segmento interposto no esôfago por LONGMIRE e RAVITCH (1946), alguns modelos e técnicas de neovascularização intestinal vêm sendo estudados.

Há aproximadamente vinte anos, estudos com a utilização de segmento intestinal isolado e neovascularizado têm sido realizados. JAUME, KIMURA, RATNER, WILKINS, DIETZEK e STEIN (1987), observaram a viabilidade, a capacidade absorptiva e a motilidade de um segmento cólico neovascularizado por mioenteropexia, após a secção posterior completa do mesentério. KIMURA e SOPER (1990) e IENAGA, KIMURA, HASHIMOTO, LEE, BRAKSTAD e SOPER (1990) descreveram o modelo Iowa 1, que consistia em um segmento jejunal isolado, neovascularizado por mioenteropexia (músculo reto abdominal) e que permanecia viável após ligadura do seu mesentério. Em 1991, YAMAZATO, KIMURA, YOSHINO e SOPER apresentaram o modelo Iowa 2, semelhante ao primeiro, porém neovascularizado por hepatoenteropexia. YOSHINO, KIMURA, YAMAZATO, SCOTT e SOPER (1991) demonstraram ser o modelo Iowa 2 funcionalmente adequado. Este foi o primeiro estudo funcional realizado em um modelo de neovascularização.

Em 1993, KIMURA e SOPER relataram experiência clínica satisfatória com uso das técnicas descritas nos modelos Iowa 1 e 2, em um caso extremo de SIC.

SHOSHANY e col. (1994-b) sugeriram a utilização de uma via alternativa de neovascularização: o grande omento. Os autores levantaram possíveis limitações dos modelos de mioenteropexia e hepatoenteropexia, como fixação do segmento intestinal, restrição do comprimento do segmento a ser neovascularizado e potenciais riscos pelo uso do fígado como fonte vascular. O novo modelo proposto seguia os mesmos princípios de seromiotomia longitudinal antimesentérica, com fixação do grande omento (em lugar do fígado ou da parede muscular) ao longo da área cruenta criada. Para tanto, foi utilizado um segmento intestinal isolado. O experimento foi realizado em ratos e cães e mostrou ser a omentoenteropexia um modelo viável de neovascularização intestinal, com a vantagem de permitir grande mobilidade do segmento neovascularizado.

Em 1995, SHOSHANY, DIAMOND, MORDOHOVICH e BAR-MAOR publicaram resultados de testes funcionais com o segmento intestinal isolado neovascularizado por omentoenteropexia. Os autores observaram absorção normal de glicose e glicina no modelo estudado.

ROCHA, MARTINS, TUBINO e BISCHOFF (2002-b), publicaram o primeiro estudo de omentoenteropexia em um segmento jejunal não isolado. O experimento foi realizado em ratos e consistiu em omentoenteropexia com seis centímetros de extensão, realizada em um segmento jejunal 20 cm distal ao ângulo duodeno-jejunal. Sete semanas depois da omentoenteropexia, esse segmento teve sua vascularização mesentérica ligada. No mesmo ato, realizou-se uma secção intestinal proximal e uma distal ao segmento neovascularizado, seguidos de anastomoses para o restabelecimento do trânsito intestinal. O estudo mostrou a viabilidade do segmento intestinal, não sendo observada ocorrência de obstrução jejunal anatômica ou funcional.

Em 2002, ROCHA, MARTINS e PATRÍCIO estudaram histologicamente o segmento jejunal neovascularizado, não isolado e observaram redução do número de células ganglionares por gânglio nervoso, assim como dilatação do segmento neovascularizado, quando comparado aos grupos-controle. ROCHA, MARTINS, PATRÍCIO e TUBINO (2003) aprofundaram os estudos histológicos e imuno-histoquímicos do segmento intestinal neovascularizado, demonstrando a ocorrência de espessamento da camada muscular e o

aumento do tamanho das vilosidades e das criptas intestinais, além das alterações descritas no estudo anterior.

Até o presente momento, o modelo de neovascularização intestinal por omentoenteropexia foi objeto de diversas avaliações, em sua maioria como segmento isolado. Mais recentemente, estudos passaram a ser realizados em segmentos jejunais neovascularizados e não isolados, demonstrando que o segmento submetido à omentoenteropexia é viável, apresenta motilidade, usualmente tem diâmetro, espessura da camada muscular e tamanho aumentado das vilosidades e das criptas intestinais, além de número reduzido de células ganglionares por gânglio nervoso. Em todos esses estudos o objetivo primordial foi avaliar o modelo sob o aspecto estrutural.

Sob o ponto de vista funcional, a omentoenteropexia foi estudada apenas em modelos de segmento intestinal isolado. Não há estudos funcionais de segmentos intestinais neovascularizados, com sua continuidade mantida. Até o presente momento, não há estudos experimentais de neovascularização intestinal aplicada a situações de intestino curto. O presente estudo se propõe a avaliar a capacidade absorptiva e adaptativa do segmento jejunal neovascularizado por omentoenteropexia em ratos submetidos à situação de intestino curto. Para tanto, são considerados os seguintes aspectos: variação ponderal dos animais, o resultado do teste de absorção da d-xilose e as alterações histológicas morfométricas e imuno-histoquímicas dos segmentos jejunais em questão.

2. OBJETIVO

Avaliar a capacidade absorptiva e as alterações histológicas e imunohistoquímicas da mucosa de segmento jejunal neovascularizado por omentoenteropexia em ratos com síndrome do intestino curto.

3. LITERATURA

3.1 - SÍNDROME DO INTESTINO CURTO

A SIC caracteriza-se como uma condição clínica de insuficiência intestinal. Ela pode ser definida como redução da massa funcional de intestino, aquém do mínimo necessário para a digestão e absorção de nutrientes e líquidos necessários à manutenção da homeostase. A consequência imediata da insuficiência absorptiva é a desnutrição e a dependência de outra via de nutrição, a parenteral (TILSON, 1980; VANDERHOOF e LANGNAS, 1997).

A SIC pode ser congênita ou adquirida. Como causas congênitas citam-se a gastrosquise e as múltiplas atresias intestinais. Mais comuns, as condições adquiridas advêm principalmente de acidentes vasculares e doenças inflamatórias que determinam grandes ressecções intestinais.

Os recentes avanços de suporte clínico têm permitido aos pacientes portadores de SIC uma sobrevida cada vez maior. Entretanto, as complicações decorrentes da SIC e do seu tratamento passaram a ficar mais claras, tornando um grande desafio oferecer qualidade de vida aos pacientes. Dessa forma, diversos são os estudos que vêm sendo realizados com foco na abordagem cirúrgica da SIC, para melhorar as condições de motilidade e absorção intestinal (WARNER e CHAET, 1993; CUKIER, WAITZBERG, BORGES, SILVA, GAMA-RODRIGUES e PINOTTI, 1999).

Os principais objetivos de uma operação para tratamento do intestino curto são: promover a lentificação do trânsito, a adaptação e o aumento da capacidade de absorção intestinal. Para tanto, diversas técnicas operatórias foram propostas.

A confecção de válvulas intestinais proposta por LOPES-PEREZ, MARTINEZ, MACHUCA, LOPEZ, UNDA, RODRIGUEZ e MIGUELEZ (1981) e COLLINS, VICENTE, GERORGESON e KELLY (1996), a interposição de segmentos intestinais descrita por FINK e OLSON (1967); FAGUNDES, PLAPLER, GOLDENBERG, NOVO e JULIANO (1989); PLAPLER, FAGUNDES, GOLDENBERG, NOVO, JULIANO e BEKHOR (1990); PIGOT, MESSING, CHAUSSADE, PFEIFFER, POULIQUEN e JIAN (1990); TAHA (1996) e a vagotomia relatada por ALBO, ANGOTTI, SORENSEN e MICHAELS (1974), foram

técnicas propostas com objetivo de reduzir o trânsito intestinal e promover maior exposição do conteúdo alimentar, aumentando a absorção de nutrientes.

A remodelação intestinal foi descrita para tratar a dilatação dos segmentos intestinais remanescentes nos casos de intestino curto e melhorar o peristaltismo e a absorção. Esse princípio foi proposto inicialmente por BIANCHI (1980), associado ao alongamento intestinal, conforme descrito em detalhes mais adiante. KIMURA e SOPER (1993) aplicaram o princípio de alongamento intestinal usando fontes vasculares diversas. GEORGESON, HALPIN, FIGUEROA, VICENTE e HARDIN. (1994) usaram a remodelação e alongamento intestinal de forma seqüencial para o tratamento de casos refratários de intestino curto. Outra técnica de remodelação intestinal chamada de enteroplastia seriada transversal foi descrita por KIM, FAUZA, GARZA, OH, NURKO e JAKSIC (2003). Esses autores propuseram a remodelação e o alongamento intestinal pela aplicação de grampeadores lineares de cada lado do intestino dilatado formando um canal mais estreito e longo em ziguezague, realizando o estudo em porcos. KIM, LEE, GARZA, DUGGAN, FAUZA e JAKSIC (2003) relataram o uso desse tipo de enteroplastia para o tratamento de uma criança de dois anos, com sucesso.

A interposição de retalhos autólogos para promover formação de neomucosa intestinal, levando ao aumento da superfície de absorção, foi proposta por GATON, CZERNOBILSK, KRAUS, MOTOVIC, GLAS, TAUB e MAN (1980). Esses autores utilizaram retalho de serosa de cólon e realizaram estudos em cães. SIMÕES, ANDRADE, LOUREIRO, CECCATO, CARDOSO e SANTIS (1995) estudaram esse mesmo princípio utilizando retalho da parede abdominal.

Alguns autores têm realizado estudos de alongamento intestinal por meio do uso de técnicas de expansão, pela aplicação de pressão hidrostática crescente (CHEN, ZHANG, QU, WANG e XIE, 1997), ou pelo uso de expansores mecânicos (PARK, PUAPONG, WU, ATKINSON e DUNN, 2004). Até o momento, essas técnicas estão restritas a experimentos isolados.

Dentre as técnicas descritas acima, as de remodelação e alongamento intestinal têm importância fundamental neste estudo e são revisadas em detalhe.

Em 1980, BIANCHI propôs o alongamento intestinal baseado na divisão longitudinal do intestino no plano do seu mesentério, formando dois novos tubos intestinais irrigados pelos vasos de cada folheto mesentérico, anastomosados em série. GEORGESON e col. (1994) publicaram artigo sobre o uso seqüencial do alongamento intestinal para o tratamento de casos

refratários, como alternativa ao transplante intestinal. FIGUEROA-COLON, HARRIS, BIRDSONG, FRANKLIN E GEORGESON (1996) avaliaram o impacto nutricional do alongamento intestinal e concluíram que a operação levou a um aumento da tolerância à nutrição enteral, melhorou o estado nutricional e diminuiu a necessidade de internação dos pacientes. WEBER e POWELL (1996) avaliaram funcionalmente cinco crianças com SIC e intestino remanescente com comprimento inferior a 50 centímetros, submetidas ao alongamento intestinal e observaram melhora da absorção intestinal em curto e em médio prazo após o procedimento. BIANCHI (1997), avaliou a própria experiência com alongamento intestinal em 20 crianças e observou melhora da estase intestinal, diminuição da translocação bacteriana e promoção da adaptação intestinal. THOMPSON, PINCH, YOUNG e VANDERHOOF (2000-b) avaliaram o resultado do alongamento intestinal em longo prazo em 16 crianças e observaram que metade dos pacientes apresentou benefícios permanentes. Os autores sugerem que essa operação deve ser empregada em casos selecionados. WALKER, NUCCI, YAWORSKI e BARKSDALE Jr. (2006) revisaram a experiência de 20 anos com o procedimento de Bianchi em uma única instituição e concluíram que a técnica promove a adaptação intestinal, favorece o desmame da nutrição parenteral e tem importante potencial para melhorar o prognóstico de pacientes com SIC.

Desde a descrição inicial do alongamento intestinal, em 1980, outros autores estudam opções técnicas ao uso do próprio mesentério como fonte vascular para a divisão intestinal. JAUME e col. (1987) utilizaram o músculo como fonte vascular, realizando uma mioenteropexia em um segmento cólico e demonstraram sua viabilidade após secção do mesentério. O modelo Iowa 1, baseado em um segmento jejunal isolado por estomas e neovascularizado por mioenteropexia foi proposto a seguir por KIMURA e col. (1990) e IENAGA e col. (1990). Neste modelo, o músculo reto abdominal foi usado como fonte vascular e o jejuno neovascularizado permaneceu viável após a secção do mesentério. YAMAZATO e col. (1991) apresentaram o modelo Iowa 2. Neste, o segmento jejunal isolado foi submetido à neovascularização por hepatoenteropexia, seguindo-se a ligadura do mesentério depois de cinco semanas. YOSHINO e col. (1991) mostraram, por meio de testes de motilidade e absorção de nutrientes, ser o modelo Iowa 2 funcionalmente satisfatório.

Em 1993, KIMURA e col. relataram a primeira experiência com uso das técnicas descritas nos modelos Iowa 1 e 2 no tratamento de uma pessoa com SIC. O doente teve o intestino remanescente submetido a sermiotomia ao longo da borda antimesentérica. Um segmento

cruento de parede abdominal interna e fígado foi criado mediante a ressecção de uma faixa de peritônio. A borda antimesentérica do intestino foi suturada ao longo desse segmento cruento: mio-hepatoenteropexia. Depois de oito semanas, procedeu-se ao alongamento intestinal, mediante completa secção longitudinal do intestino, formando-se dois hemiintestinos com diâmetros suficientes para serem tubularizados e anastomosados em série. Um hemiintestino manteve-se vascularizado pela via mesentérica original. O segundo passou a receber suprimento sanguíneo desde suas conexões vasculares com músculo (parede abdominal anterior) e fígado. Essa operação permitiu um alongamento de 20 cm em um paciente com 17 cm de duodeno e 17 cm de cólon distal; do ponto de vista clínico ele deixou de ser totalmente dependente de nutrição parenteral e passou a receber até 60% do aporte calórico por via enteral.

Os modelos de neovascularização por omentoenteropexia foram propostos a partir de 1994. (SHOSHANY, HAR-SHAI, RAMON, BAR-MAOR e KIMURA, 1994-a; SHOSHANY e col., 1994-b; SHOSHANY, MORDOHOVICH, LICHTIG e BAR-MAOR, 1995-b) Esses autores argumentaram que o grande omento, quando usado como fonte vascular, permitia maior mobilidade do intestino neovascularizado. Além disso, citam-se como vantagens a de não se tratar de um tecido nobre como o fígado ou o músculo e de ser tecnicamente mais simples a realização da omentoenteropexia. Esses autores realizaram alguns estudos usando o modelo de segmento intestinal isolado por estomas. Foram avaliados os seguintes aspectos: a viabilidade do intestino neovascularizado, após a ligadura do mesentério, a neoformação vascular e, ainda, a absorção de glicose e glicina neste segmento. Os achados morfológicos e funcionais do segmento neovascularizado foram considerados promissores para futuro emprego da técnica de omentoenteropexia (SHOSHANY e col., 1995-a).

ROCHA e col. (2002-b) publicaram o primeiro estudo de omentoenteropexia em um segmento jejunal não isolado, focando a viabilidade da alça neovascularizada e procurando observar as alterações histológicas decorrentes da técnica. O estudo da alça intestinal neovascularizada em continuidade com o trânsito intestinal possibilita excluir a hipotrofia que ocorre em segmentos isolados. Em seguida, ROCHA e col. (2002-a e 2003) aprofundaram os estudos histológicos e imuno-histoquímicos do segmento intestinal neovascularizado, sugerindo que, embora alterações inflamatórias inespecíficas do procedimento cirúrgico possam justificar alguns dos achados encontrados, como espessamento das camadas musculares, a omentoenteropexia contribui para dilatação da alça e para a redução do número

de células ganglionares por gânglio nervoso. A observação do aumento da profundidade das criptas e da altura das vilosidades ainda merece ser mais bem avaliada.

Em recente revisão sobre o papel da reconstrução intestinal autóloga na aquisição de autonomia enteral, BIANCHI (2006) sugeriu a possibilidade de combinação de técnicas disponíveis em um mesmo paciente para a obtenção de melhores resultados. O autor cita, por exemplo, que o estabelecimento de neovascularização na borda antimesentérica do intestino poderia ser aliado à técnica original de alongamento intestinal, com divisão do seu mesentério, para possibilitar o alongamento intestinal em três comprimentos. Cita ainda o uso de técnicas de expansão intestinal, introduzidas por GEORGESON e col. (1994), como uma forma de preparação para o procedimento de alongamento intestinal.

Além de todas as técnicas referidas para o tratamento da SIC, merece atenção o transplante de intestino delgado, que emerge cada vez mais como uma boa alternativa terapêutica.

O transplante intestinal é estudado como opção de tratamento para situações de perda intestinal desde a segunda metade do século passado. LILLEHEI, GOOTT e MILLER (1959); BALLINGER, CHRISTY e ASHBY (1962); REYES, BUENO, KOCOSHIS, GREEN, ABU-ELMAGD, FURUKAWA, BARKSDALE, STROM, FUNG, TODO, IRISH e STARZL (1998) preconizaram essa técnica. Apesar da grande dificuldade de manejo clínico dos pacientes submetidos ao transplante de intestino, a disponibilidade de novas técnicas e sobretudo de novas drogas para a imunossupressão, tem permitido sobrevivências que variam de 50% a 70% dos pacientes, em centros especializados (REYES, MAZARIEGOS, BOND, GREEN, DVORCHIK, KOSMACH-PARK e ABU-ELMAGD, 2002; BOND, MAZARIEGOS, SINDHI, ABU-ELMAGD e REYES, 2005). Entretanto, por se tratar de uma operação de alta complexidade, de alto custo e que requer equipe multidisciplinar altamente especializada, são poucos os centros com condições de oferecer essa modalidade de tratamento aos seus pacientes.

Em recente revisão da experiência de uma mesma instituição, WALKER e col. (2006) ponderaram que os resultados obtidos com transplante de intestino delgado vêm melhorando consideravelmente nos últimos anos, a ponto de se questionar a utilidade do alongamento intestinal no atual manejo da SIC. Como dificuldades do procedimento de Bianchi, esses autores apontam a alta morbidade perioperatória. Entretanto, mesmo em instituições com grande experiência na área, o transplante intestinal apresenta como inconvenientes a

necessidade de imunossupressão crônica, a ocorrência de infecções oportunistas, o risco de rejeição, a ocorrência de múltiplas hospitalizações e ainda o aumento do risco para doenças linfoproliferativas. Na série revisada, uma percentagem significativa dos pacientes se beneficiou do procedimento de alongamento intestinal. Os autores concluem com a sugestão de que o alongamento intestinal tem importante potencial para melhorar o prognóstico de pacientes com SIC, podendo corresponder a um passo preparatório para alguns pacientes que virão a necessitar inevitavelmente do transplante intestinal.

BARKSDALE e STANFORD (2002) procuraram estabelecer critérios para indicação de procedimentos chamados de “reconstrução gastrointestinal autóloga” (RGIA), dentro do contexto de possibilidade de transplante intestinal. Esses autores sugeriram que pacientes que apresentassem impossibilidade de desmame progressivo da nutrição parenteral e ocorrência de complicações graves relacionadas à condição de intestino curto poderiam ser candidatos. Seriam pacientes com intestino remanescente ultra curto (menor que 10% com piloro ileocecal ou menor que 20% sem válvula ileocecal). Esses pacientes se beneficiariam daqueles procedimentos como forma de “terapia coadjuvante pró-adaptativa”.

BIANCHI (2006) sugeriu que os procedimentos de RGIA não devam ser considerados apenas como último recurso, mas sim, fazer parte de um programa bem estruturado para a aquisição de “autonomia intestinal”, formulado por equipe multidisciplinar nessa área, idealmente em centros especializados, nos quais o paciente possa ser registrado e acompanhado em longo prazo. Nesse contexto, são estabelecidos indicações e momentos específicos para cada modalidade de tratamento, incluindo RGIA e transplantes de fígado e fígado/intestino. FISHBEIN e MATSUMOTO (2006) observaram altas taxas de mortalidade dos pacientes com falência intestinal aguardando na lista para transplante. Esses autores sugeriram que esses pacientes devam ser referidos precocemente para centros especializados, com abordagem multidisciplinar, de forma a maximizar os resultados da terapêutica de suporte gastrintestinal (incluindo a reconstrução autóloga) e do transplante, quando indicado.

Entende-se, portanto, que o manejo da SIC requer o domínio de diversas áreas e inclui diversas modalidades terapêuticas que podem ser usadas de forma seqüencial para maximizar os resultados do tratamento. Desta forma, a atuação sinérgica de profissionais especializados em nutrição parenteral, de cirurgiões capacitados para os procedimentos de RGIA e de equipe treinada em transplante, em centros voltados para o atendimento de pacientes com falência

intestinal, parece representar a tendência mais atual e eficaz para oferecer tratamento de excelência na SIC.

3.2 - GRANDE OMENTO

As funções e aplicações do grande omento vêm sendo estudadas há quase 100 anos. RUBIN (1911) relatou suas capacidades de absorção, de neovascularização vascular e linfática, de proteção e de defesa, durante a ocorrência de processos inflamatórios. Mais tarde, a adesividade do omento e sua característica de envolver superfícies inflamadas, foram observadas por FREEMAN (1916). LIEBERMANN-MEFFERT (2000) destacou ainda as funções imunológicas e bioquímicas particulares do grande omento, além de sua capacidade de favorecer a cicatrização em superfícies lesadas e espaços-mortos. A utilização do grande omento com finalidades cirúrgicas específicas vem sendo descrita paralelamente.

O grande omento caracteriza-se como uma prega peritoneal, que se origina na grande curvatura gástrica e se adere ao cólon transversal, sendo ricamente preenchido por tecido adiposo. Sua vascularização se faz a partir dos vasos gastroepiplóicos. Destes, partem três ramos arteriais, as artérias omentais direita, média e esquerda, cujos ramos secundários são ricamente anastomosados entre si, permitindo a confecção de retalhos longos, com pedículo formado por um desses vasos. Essa característica anatômica dá ao grande omento versatilidade e mobilidade, possibilitando seu emprego em diversas condições cirúrgicas, com fins de proteção ou neovascularização. (FREEMAN, 1916; CARTER, JENKINS e WHITFIELD, 1972; GOLDSMITH, CHEN e DUCKETT, 1973; GOLDSMITH, 1977 e 1980; SÖNMEZ, BASAKLAR, TÜRKYILMAZ, DEMIROGULLARI, NUMANOGLU, KONUS, DURSUN, ALTIN e KALE, 1995).

Dentre as principais utilizações cirúrgicas do grande omento, destacam-se o uso como proteção para enteroanastomoses (CARTER e col., 1972; KATSIKAS, SECHAS, ANTYPAS, FLOUDAS, MOSHOVOS, GOGAS, RIGAS, PAPACHARALAMBOUS e SKALKEAS, 1977), descritos por estes autores em estudos realizados em ratos e cães, e por GOLDSMITH (1977), em seres humanos. O uso como fonte auxiliar de suprimento vascular foi descrito por GOLDSMITH (1980), no tratamento de doença isquêmica acometendo membro superior direito. SONMEZ e col. (1995) empregaram a orquioomentopexia como fonte vascular auxiliar, no tratamento da distopia testicular alta. TISINAI, SHEDD, HARRIS, UNTHANK, GROSFELD, ABU-DALU e GROSFELD (1990) estudaram o crescimento, a neovascularização e a função enzimática de enxertos intestinais fetais implantados no grande omento e sob a cápsula renal, em ratos, destacando melhores resultados com grande omento.

Mais recentemente, diversos estudos têm se concentrado na avaliação da ação angiogênica omental, utilizando extratos purificados de grande omento e observando sua atividade sobre tecidos diversos (CARTIER, BRUNETTE, HASHIMOTO, BOURNE e SHAFF, 1990 e IMAIZUMI, HASHI e KANO, 1990). O processo de angiogênese ocorre em três etapas, segundo esses autores. Primeiro, há a degradação da membrana basal tecidual, seguida pela mobilização e pela proliferação das células endoteliais, que depende da ação de fatores liberados durante a resposta inflamatória, cicatrização ou no processo de crescimento tumoral. Os mediadores da angiogênese são, em sua maioria, polipeptídeos. Dentre eles destacam-se os fatores de crescimento de fibroblastos, a angiogenina e os fatores de crescimento α e β (FOLKMAN e KLAGSBRUN, 1987 e IMAIZUMI e col., 1990). Outros elementos envolvidos na angiogênese são classificados por FOLKMAN e col. (1987) em mitógenos endoteliais de baixo peso molecular, fatores quimiotáticos endoteliais e lipídeos (prostaglandinas 1 e 2). Participam ainda, como agentes moduladores da resposta angiogênica, a heparina e o cobre, embora um polipeptídeo não modulado pela heparina já tenha sido parcialmente identificado por IMAIZUMI e col. (1990).

Portanto, o grande omento alia uma conformação anatômica que lhe proporciona grande mobilidade e plasticidade a capacidades funcionais bastante particulares, incluindo ações imunológicas, angiogênicas, absorptivas e adesivas. Esse conjunto de características confere ao grande omento potencial de utilização em procedimentos de neovascularização.

3.3 - TESTE DE ABSORÇÃO DA D-XILOSE

O teste de absorção de d-xilose é aceito como um método confiável de avaliação da absorção intestinal. A xilose é um monossacarídeo absorvido no duodeno e jejuno proximal, de forma passiva, por difusão lenta. A utilização hepática e tecidual dessa pentose é muito reduzida e a reabsorção tubular renal insignificante, o que permite que a excreção urinária seja muito aproximada da xilose absorvida. Como sua absorção não requer digestão prévia, o processo depende basicamente da integridade morfológica e funcional da parede do intestino delgado. A recuperação sangüínea ou urinária da xilose devidamente quantificada, é uma importante ferramenta no diagnóstico da malabsorção (BENSON, CULVER, RAGLAND, JONES, DRUMMEY e BOUGAS, 1957; SINGH, CHAUDRY, CHUDLER. O'NEILL e CHAUDRY, 1991)

A excreção urinária de xilose foi descrita inicialmente por FISHBERG e FRIEDFELD (1932), como índice de função renal. Mais tarde HELMER e FOUTS (1937) sugeriram relação entre a excreção urinária de xilose e sua absorção intestinal. ROLSTON e MATHAN (1989) demonstraram que a absorção da xilose poderia refletir a área absorptiva do jejuno.

Embora tenha sido descrito para uso em seres humanos, diversos estudos realizados em ratos utilizaram o teste de absorção da d-xilose com os mesmos propósitos. SINGH, CHAUDRY, CHUDLER e O'NEILL (1991) avaliaram o efeito do choque hemorrágico pós-traumático na capacidade de absorção intestinal em ratos. HAYASHI, HIROSE, SENGA, ONITSUKA, FUWA, MORI e YAMADA (2000) avaliaram a absorção de d-xilose em ratos com hipertensão portal. WAYHS, PATRÍCIO, AMÂNCIO, PEDROSO, FAGUNDES NETO e MORAIS (2004) usaram o teste da d-xilose para avaliação de ratos com anemia ferropriva.

O método que vem sendo aplicado por esses diversos autores para a realização do teste em animais é semelhante ao usado em seres humanos. Após um período de jejum, uma solução de d-xilose diluída a 10% é administrada oralmente (ou por gavagem, nos animais); imediatamente faz-se a coleta da urina durante um período de cinco horas. O conteúdo de d-xilose excretado na urina é aferido após uma reação colorimétrica, pela leitura da absorbância da solução em um espectrofotômetro (ROE e RICE, 1948; KERSTELL, 1961; GOODHART e KINGSTON, 1969)

Alguns fatores podem interferir na absorção ou na excreção urinária da xilose. Primeiramente, as alterações da função renal implicam em excreção reduzida, conforme

descrito por FISHBERG e FRIEDFELD (1932). Situações de aumento do trânsito intestinal podem diminuir sua absorção duodenal. Infecções bacterianas intestinais podem modificar seu metabolismo. O uso concomitante de outra substância pode causar interferência: ácido acetil-salicílico, colchicina, digitálicos, indometacina, kanamicina, ácido nalidíxico, fenformin, neomicina, atropina, inibidores da monoaminoxidase e sais de ouro. Além desses fatores, condições fisiopatológicas específicas podem alterar a capacidade absorptiva intestinal e, conseqüentemente, os resultados do teste, como por exemplo, o trauma e a hipovolemia (SINGH e col.,1991).

Diversos estudos mostram que a absorção de d-xilose está comprometida em circunstâncias de atrofia das vilosidades intestinais. Entretanto, nas situações de intestino curto, estudos revelam que o intestino remanescente sofre alterações adaptativas, de modo que compensam, mesmo que parcialmente, a função dos segmentos perdidos (NGUYEN, THOMPSON e QUIGLEY, 1996 e THOMPSON, QUIGLEY e ADRIAN, 1996). As adaptações intestinais que se seguem às grandes enterectomias serão revistas na próxima sessão.

3.4 - ALTERAÇÕES ESTRUTURAIS E ADAPTAÇÕES INTESTINAIS APÓS ENTERECTOMIAS E APÓS A OMENTOENTEROPEXIA

Depois de grandes ressecções intestinais, o intestino remanescente sofre alterações estruturais e funcionais para compensar a perda de função do segmento perdido. Essas alterações são mediadas por diversos fatores que incluem hormônios, citocinas, secreções gastrointestinais, fatores de crescimento, além dos nutrientes dados por via oral ou parenteral. Elas dependem ainda de fatores como a idade, extensão da ressecção, presença da válvula ileocecal, extensão do cólon remanescente e concomitância de outras doenças intestinais. O principal determinante isolado do potencial adaptativo intestinal é a quantidade de intestino remanescente (ROBINSON, ZIEGLER e WILMORE, 1999; WASHIZAWA, GU, GU, OPENO, JONES e ZIEGLER, 2004; ZEKRI, SRAIRI, BEM AMMAR, JAAFOURA MOHAMED, BEN MANSOUR, 2004; RIBEIRO, PINTO, MIRANDA, BROMBERG, LOPASSO e IRYA, 2004 e CISLER, BUCHMAN, 2005), e o principal estímulo indutor de adaptação intestinal é a perda de extenso segmento intestinal (CHAVES, SMITH e WILLIAMSON, 1987).

O potencial adaptativo é maior quando há perda do jejuno do que quando se perde o íleo. Acredita-se que isso se deva à maior capacidade adaptativa ileal, às diferenças funcionais e estruturais intrínsecas, às diferenças regionais motoras e hormonais e mesmo à exposição distinta de cada um desses segmentos a elementos intraluminais (THOMPSON e FERGUSON, 2000-a). A perda jejunal determina secreção reduzida de hormônios intestinais como a secretina e a colecistocinina. A perda ileal implica comprometimento do ciclo entero-hepático, com redução da absorção de sais biliares, prejuízo da absorção de gorduras e ocorrência de diarreia (RIBEIRO e col., 2004).

Pelo processo de adaptação, o intestino aumenta sua eficiência absorptiva por unidade de comprimento, procurando atender à demanda metabólica do organismo. As alterações observadas podem ser tanto mórficas quanto funcionais. No primeiro caso, há crescimento (em extensão), mas é mais significativo o aumento do diâmetro da alça, da altura das vilosidades e da profundidade das criptas intestinais, o que, efetivamente, aumenta a superfície absorptiva. Do ponto de vista funcional, pode ser observado o aumento da atividade enzimática da borda em forma de escova dos enterócitos (SUKHOTNIK, MOGILNER, SHAMIR, SHEHADEH, BEJAR, HIRSH e CORAN, 2005-a).

Diversos métodos podem ser utilizados para a avaliação morfológica da resposta adaptativa intestinal. A aferição da altura das vilosidades e da profundidade das criptas e a contagem do número de células nesses compartimentos, constituem uma forma simples de detectar a proliferação da mucosa, sendo amplamente utilizada e bem aceita. A principal limitação da avaliação morfométrica é que estruturas tridimensionais são avaliadas apenas em duas dimensões. Mais sofisticados, os estudos morfométricos ultra-estruturais são realizados com utilização de microscopia eletrônica e se prestam à mesma finalidade, sendo mais sensíveis, porém menos disponíveis. Citam-se ainda os estudos de estimativa da massa de mucosa intestinal e os de quantificação bioquímica do conteúdo de proteína e ácidos nucléicos por unidade de comprimento intestinal, que também se baseiam na estimativa de massa de mucosa (IGLESIAS, SILVA Jr. e ZUCOLOTO, 1998).

Alterações intestinais em segmentos neovascularizados por omentoenteropexia já foram objeto de estudo. IENAGA e col. (1990) e SHOSHANY e col. (1995-b) realizaram estudos histológicos de segmentos intestinais isolados e neovascularizados por omentoenteropexia, não evidenciando alterações significativas da parede intestinal. Entretanto, o foco de ambos os estudos foi evidenciar a viabilidade do segmento intestinal neovascularizado e não comparar a morfologia da parede do intestino neovascularizado com controles. ROCHA e col. (2002-a) estudaram aspectos histológicos e morfométricos do segmento intestinal neovascularizado por omentoenteropexia, em continuidade com o trânsito intestinal, comparando-os com controles. Foi observado aumento do diâmetro intestinal, espessamento das camadas musculares e aumento da altura das vilosidades e da profundidade das criptas nesses segmentos, em relação aos dados dos grupos-controle. Nesse mesmo estudo foi demonstrada a diminuição do número de células ganglionares nos segmentos neovascularizados. ROCHA e col. (2003) estudaram morfologicamente e por imuno-histoquímica o segmento jejunal neovascularizado por omentoenteropexia, observando as mesmas alterações anteriormente descritas. Em ambos os estudos, o aumento do diâmetro da alça neovascularizada e as alterações neurais observados foram considerados como possíveis resultantes da omentoenteropexia. Já o espessamento das camadas musculares e o aumento da altura das vilosidades e profundidade das criptas, segundo os autores, poderiam estar relacionados a outros fatores e merecem ser mais bem avaliados.

3.5 – IMUNO-HISTOQUÍMICA

Técnicas mais recentes de avaliação da adaptação intestinal se baseiam na atividade de proliferação celular da mucosa. Um método acurado de estimativa consiste na contagem de figuras de mitose ou metáfases celulares em criptas submetidas à microdissecção. Essa técnica é muito sensível e leva em consideração as três dimensões da estrutura da cripta. Em experimentação animal, a quantificação da taxa de entrada de células em mitose é considerada o padrão ouro de avaliação de proliferação celular e, para isso, são usados agentes como a vincristina, para a interrupção da divisão celular na metáfase. Entretanto, as técnicas de imunohistoquímica ainda são o método preferido por muitos autores para verificação da atividade proliferativa na mucosa intestinal (WONG e WRIGHT, 1999).

O conhecimento dos mecanismos reguladores do ciclo celular levou à descoberta de antígenos celulares expressos em células proliferantes, que podem ser identificados por métodos imunohistoquímicos. Nesta técnica, são utilizados anticorpos específicos para esses antígenos. O antígeno nuclear de proliferação celular (*proliferating cell nuclear antigen* - PCNA), representa um exemplo de proteína que pode ser reconhecida pelo anticorpo monoclonal PC10, empregado para marcação.

O PCNA é uma proteína nuclear associada ao ciclo celular, que atua como cofator para a DNA-polimerase delta. Sua descrição original foi feita por MIYACHI, FRITZLER e TAN (1978), durante experimentos com soro de pacientes com lúpus eritematoso sistêmico, em virtude de sua reação positiva com núcleos de células em proliferação e negativa com células restantes de tecido normal humano. Observou-se que, durante o ciclo celular, sua distribuição aumenta a partir da fase G1, atingindo o pico máximo em S, diminuindo a partir da fase G2 e passando a exibir níveis muito baixos na fase M e em células quiescentes, que passa a não ser possível sua identificação por métodos imunohistoquímicos. Desta forma, a marcação positiva desta proteína pode ser interpretada como índice de divisão celular.

O PCNA vem sendo empregado como marcador de adaptação intestinal em ratos por diversos autores (FIORE, LEDNICZKY, LU, ORAZI, DU, WILLIAMS e GROSFELD, 1998; EIZAGUIRRE, ALDAZABAL, BARRENA, GARCIA-ARENZANA, ARIZ, CANDELAS e TOVAR, 1999 e EIZAGUIRRE, ALDAZABAL, BARRENA, GARCIA-ARENZANA, ARIZ, CANDELAS e TOVAR, 2000). Sua utilização é bem estabelecida para tecidos de roedores, identificando células em qualquer estágio de divisão celular (WAITZBERG, CUKIER,

MUCERINO, LOGULO, TORRINHAS e CASTRO, 1999). Entretanto, a preparação do tecido a ser estudado pode influenciar o resultado, sendo fundamental a adequação técnica. Também o tratamento com fatores de crescimento pode determinar a expressão do antígeno na célula. (WONG e WRIGHT, 1999).

4. MÉTODO

4.1 - PARECER DA COMISSÃO DE ÉTICA NO USO ANIMAL

O protocolo de pesquisa detalhado nesta sessão foi submetido à avaliação do COMITÊ DE ÉTICA NO USO ANIMAL – CEUA, do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade de Brasília, sob o número 62142/2004, sendo aprovado.

4.2 - AMOSTRA

Foram utilizados 46 ratos machos da linhagem Wistar (*Rattus norvegicus albinus*), fornecidos pelo Bioagri Laboratórios Ltda., com idade variando entre 12 e 13 semanas de vida e peso inicial variando entre 240g e 330g.

Durante o experimento os animais foram mantidos em gaiolas de polipropileno com dimensões de 41 x 32 x 16 centímetros, forradas com serragem, limpas em dias alternados. Foram alimentados com ração própria para a espécie e água *ad libitum*. Por um período de seis dias, para a realização dos testes de absorção da d-xilose, os animais foram mantidos em gaiolas metabólicas de metal, recebendo ração e água *ad libitum*, exceto nas horas de realização do teste. O alojamento e todos os procedimentos se deram no Laboratório de Cirurgia Experimental da Faculdade de Medicina da Universidade de Brasília.

O peso inicial dos animais foi tomado imediatamente antes da primeira operação, após sete dias de adaptação no Laboratório de Cirurgia Experimental da Faculdade de Medicina. As pesagens subseqüentes foram realizadas semanalmente, durante nove semanas e no momento da eutanásia.

Os animais foram distribuídos, aleatoriamente, em três grupos:

- Grupo 1: C (Controle) – Dez ratos submetidos a duas laparotomias com manipulação das alças intestinais.
- Grupo 2: IC (Intestino curto) – Dezoito ratos submetidos a enterectomia de 90% do intestino delgado, e, posteriormente, a laparotomia com manipulação das alças intestinais.

- Grupo 3: ICOE (Intestino curto e omentoenteropexia) – Dezoito ratos submetidos a ressecção de 90% do intestino delgado e omentoenteropexia, e, subseqüentemente, à ligadura dos vasos mesentéricos.

4.3 – PROCEDIMENTOS

O experimento consistiu na realização de dois procedimentos cirúrgicos, do teste de absorção da d-xilose e de retirada das peças para estudo e eutanásia. A primeira operação marcou o início do experimento. Todos os animais foram submetidos à segunda operação quatro semanas depois do início, e ao teste da d-xilose entre 17 e 22 dias depois da segunda operação. O procedimento de retirada das peças e eutanásia foi feito seis dias depois do teste da d-xilose. O protocolo usado para os procedimentos cirúrgicos está detalhado no anexo I.

4.3.1 - Procedimentos comuns aos grupos nos períodos de pré e pós-operatório

Pré-operatório:

- Jejum: todos os animais permaneceram em jejum durante as cinco horas que precederam os procedimentos anestésicos e cirúrgicos.
- Anestesia: injeção intramuscular, em dose única, de solução de cloridrato de cetamina na dose de 10mg/Kg e cloridrato de xilasina na dose de 1.0mg/kg.
- Identificação: os animais foram identificados com perfuradores próprios de cartilagem auricular, antes do primeiro procedimento operatório e após a anestesia.

Pós-operatório:

No período pós-operatório, os ratos foram mantidos em observação por duas horas, aquecidos por calor radiante. Em seguida, foram recolocados nas gaiolas de polipropileno, forradas com serragem. Durante cinco horas receberam somente água, *ad libitum*, e após este período, receberam também ração.

4.3.2- Procedimentos distintos

Primeira operação:

Grupo 1: C.

- 1 - Tricotomia da parede anterior do abdome;
- 2 - anti-sepsia com solução de álcool iodado a 2% , técnica asséptica;
- 3 - laparotomia mediana de 4 cm de comprimento;
- 4 - manipulação do intestino delgado;
- 5 - fechamento da parede: peritônio e aponeurose com fio Ethibond[®] 3-0 em plano único, com sutura contínua e festonada; pele, com sutura contínua, de fio Seda[®] 3-0.

Grupo 2: IC.

- 1 - Tricotomia da parede anterior do abdome;
- 2 - anti-sepsia com solução de álcool iodado a 2% , técnica asséptica;
- 3 - laparotomia mediana de 4 cm de comprimento;
- 4 - ressecção de 90% do intestino delgado, permanecendo 9 cm de jejuno medidos a partir do ângulo duodenojejunal e 1cm de íleo terminal para anastomose (figuras 1, 2a e 2b);
- 5 - anastomose término-terminal jejunoileal, com pontos simples, separados, com fio Vicryl[®] 6-0 (figura 3);
- 6 - fechamento da parede: peritônio e aponeurose com fio Ethibond[®] 3-0 em plano único, com sutura contínua e festonada; pele, com sutura contínua de fio Seda[®] 3-0.

Grupo 3: ICOE.

- 1 - Tricotomia da parede anterior do abdome;
- 2 - anti-sepsia com solução de álcool iodado a 2% , técnica asséptica;
- 3 - laparotomia mediana de 4 cm de comprimento;
- 4 - ressecção de 90% do intestino delgado, permanecendo 8 cm de jejuno medidos a partir do ângulo duodenojejunal e 1cm de íleo terminal para anastomose (figuras 1, 2a e 2b);
- 5 - anastomose término-terminal jejunoileal, com pontos simples, separados, com fio Vicryl[®] 6-0 (figura 3);

6 - incisão seromuscular na borda antimesentérica do jejuno, com extensão de 8 cm (figuras 4a e 4b);

7 - confecção da omentoenteropexia: fixação do grande omento a toda extensão da incisão seromuscular com sutura contínua de fio Prolene® 6-0 (figuras 5a e 5b);

8 - fechamento da parede: peritônio e aponeurose com fio Ethibond® 3-0 em plano único, com sutura contínua e festonada; pele, com sutura contínua de fio Seda® 3-0.

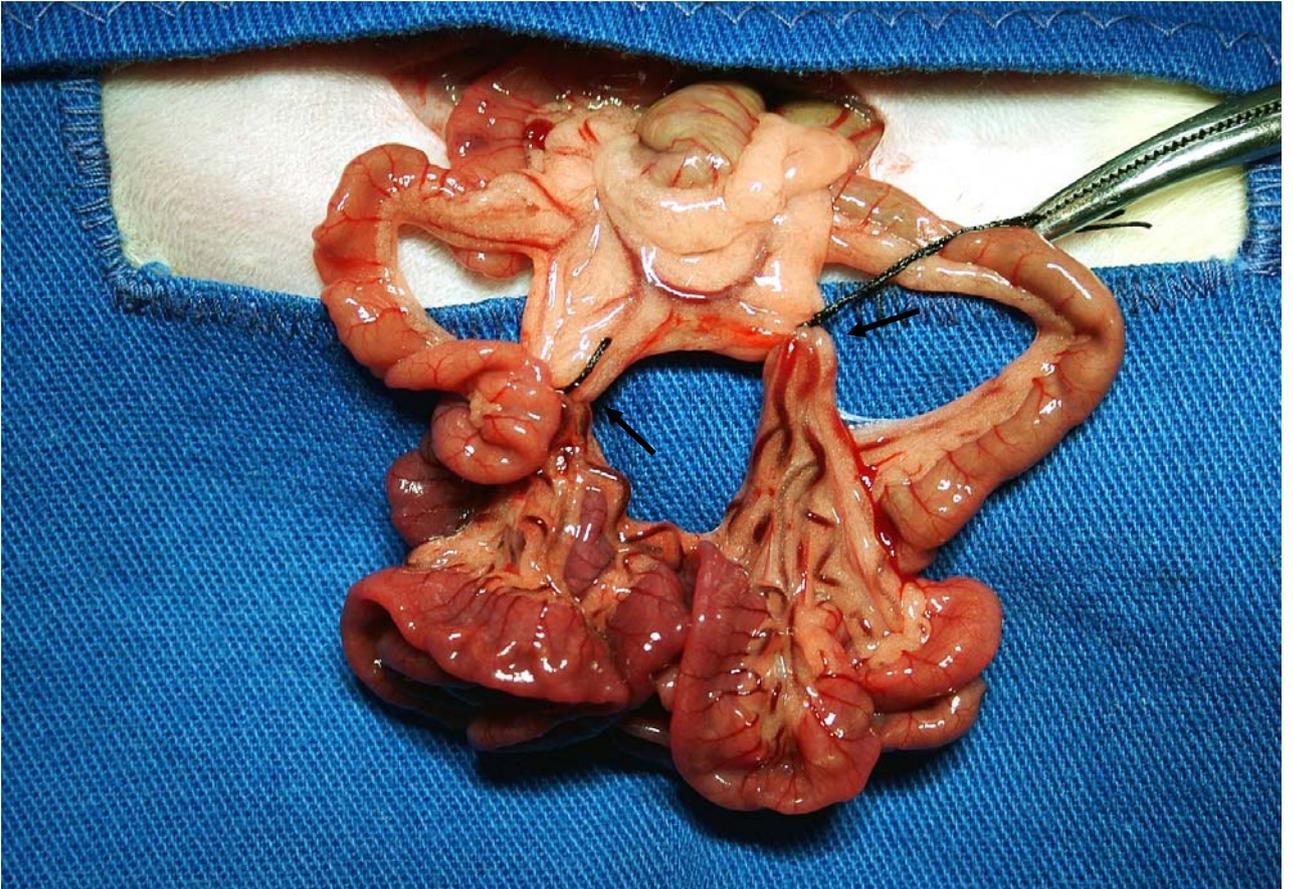


Figura 1 - Fotografia que demonstra a ligadura dos vasos mesentéricos (setas) para a enterectomia de 90% do intestino delgado.

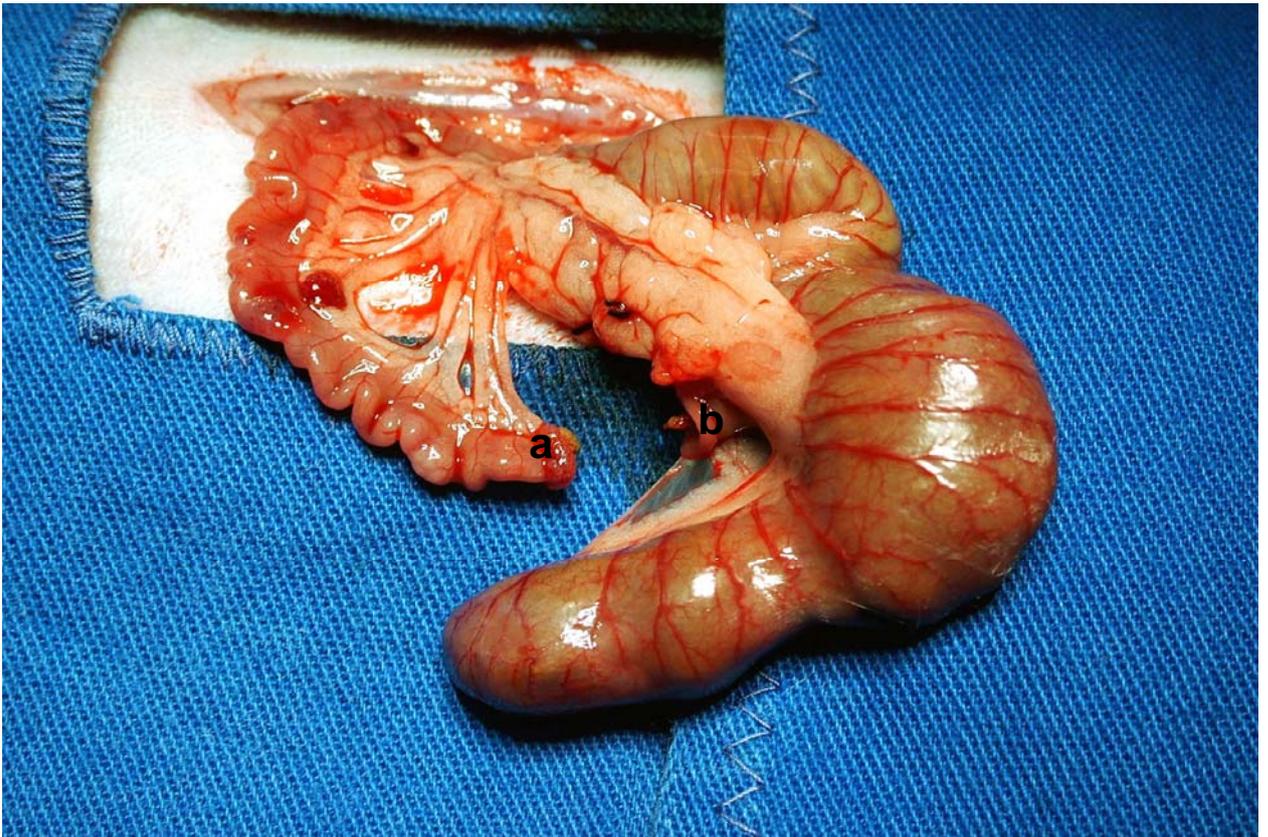


Figura 2a - Fotografia que demonstra a enterectomia realizada e os cotos intestinais (a) e (b) prontos para anastomose término-terminal.

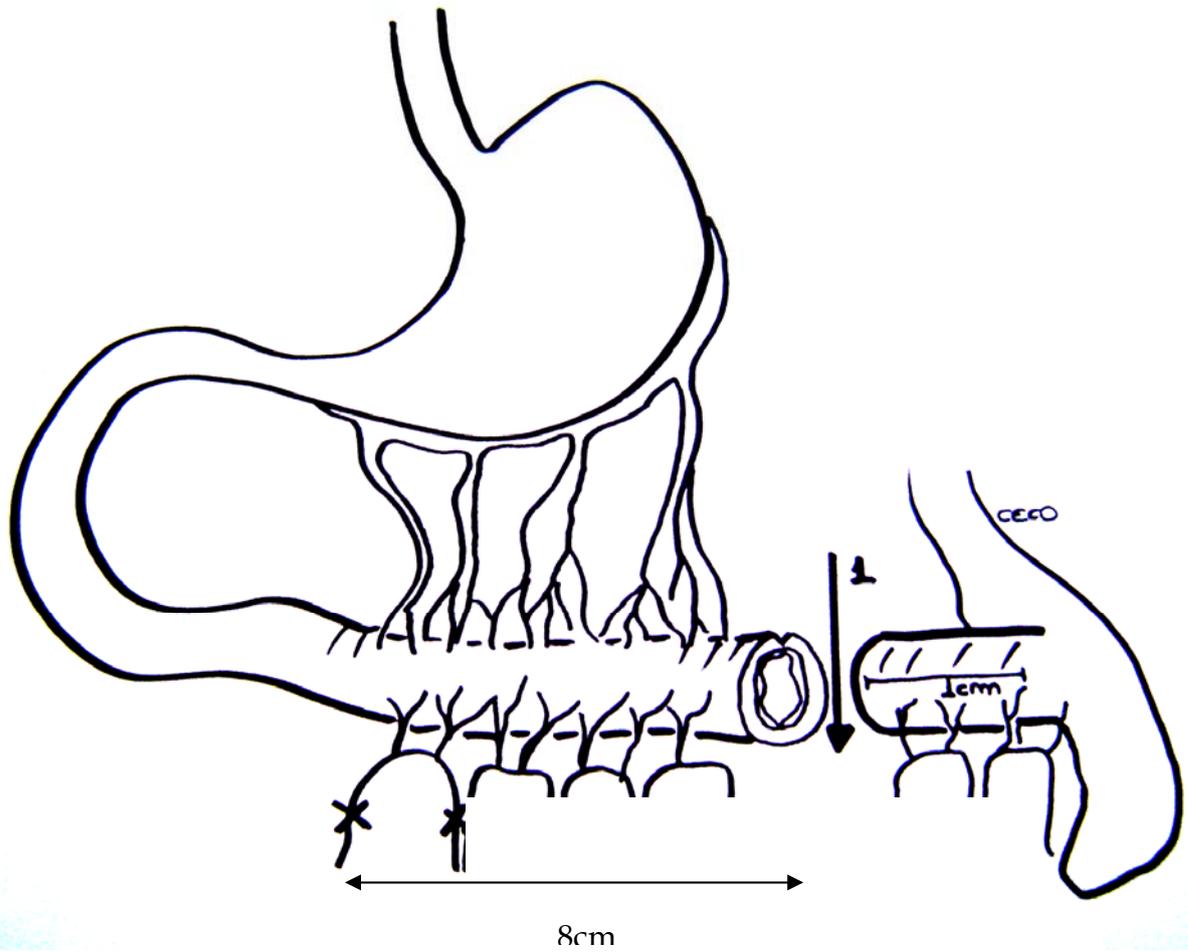


Figura 2b - Desenho esquemático do intestino remanescente após enterectomia de 90% do delgado, mostrando local da enterotomia e da anastomose jejuno-ileal (1).

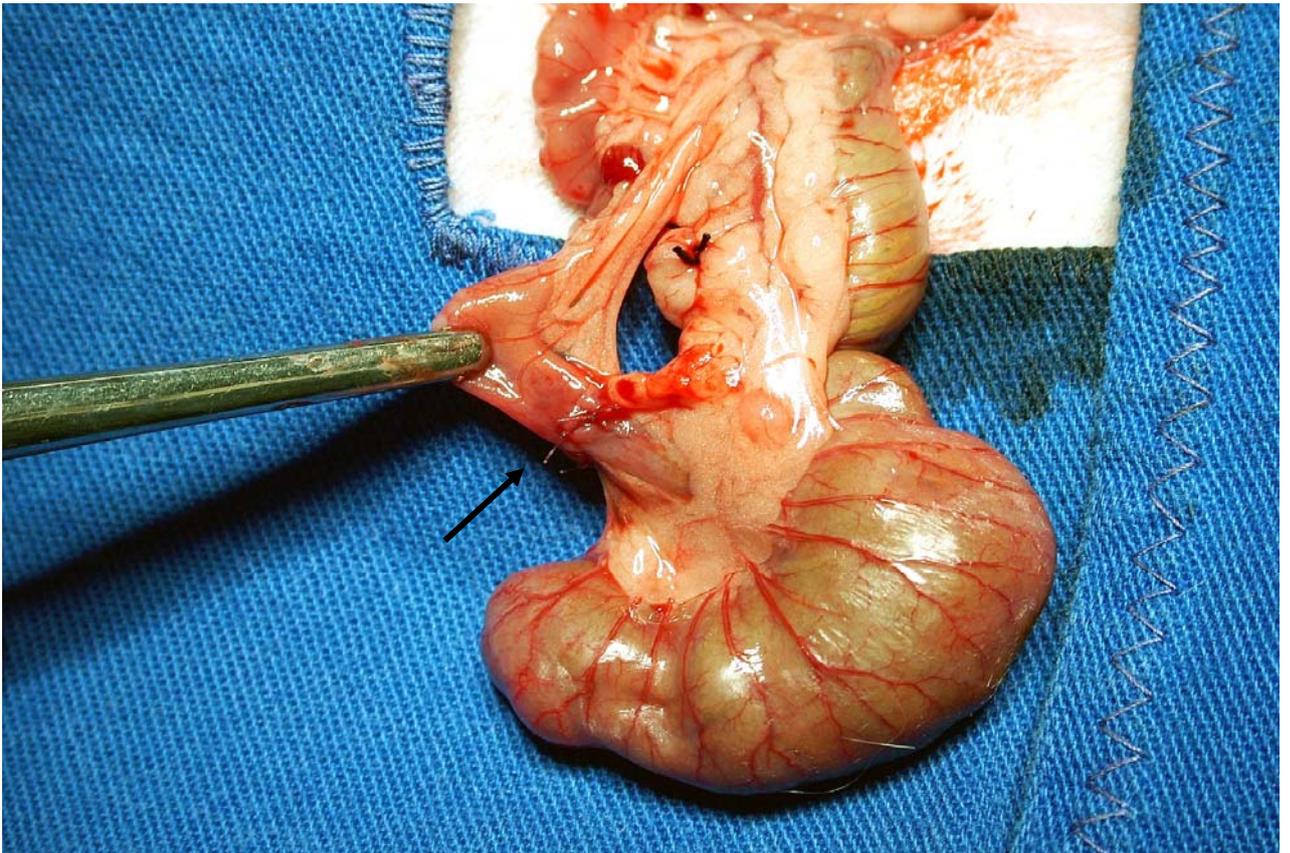


Figura 3 - Fotografia que demonstra a anastomose jejunoileal término-terminal (seta).

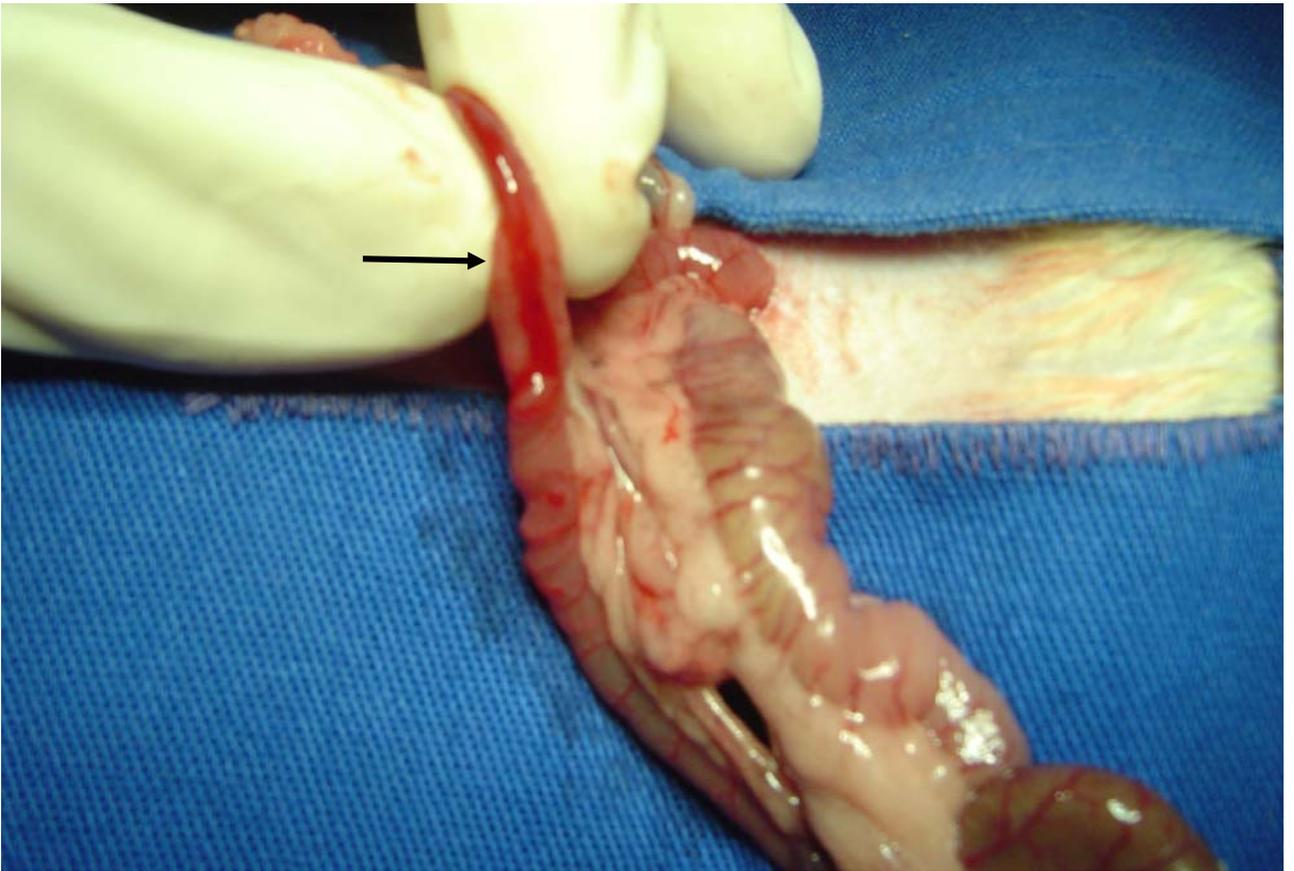


Figura 4a - Fotografia que demonstra a incisão antimesentérica do delgado para a omentoenteropexia (seta).

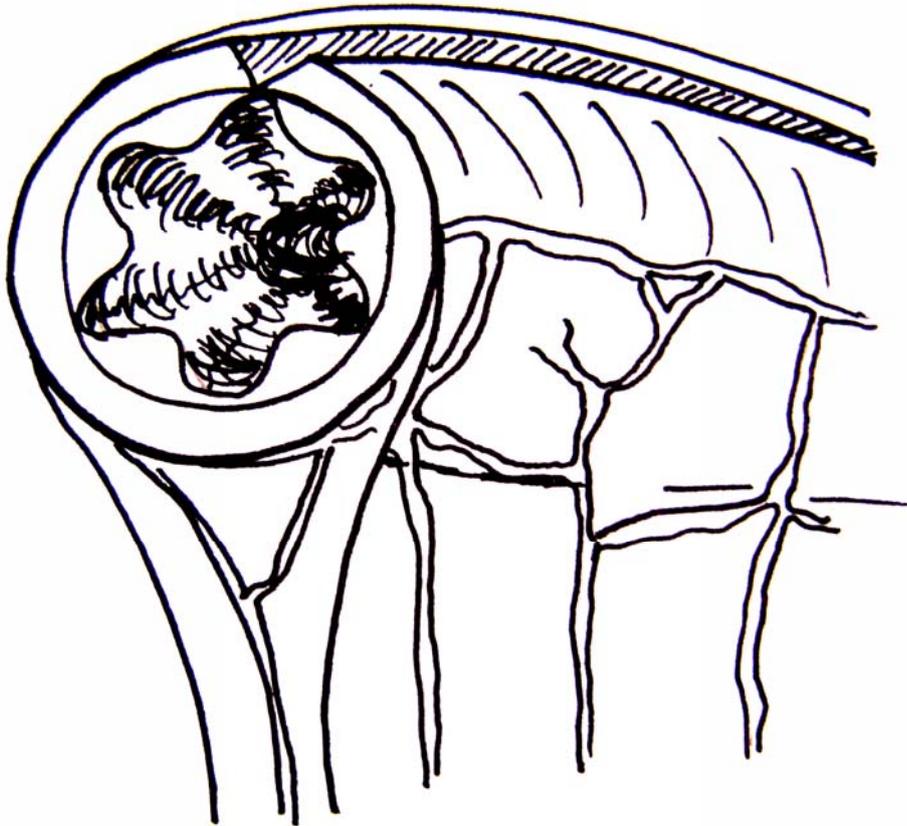


Figura 4b - Desenho esquemático da incisão seromuscular na borda antimesentérica do jejuno.

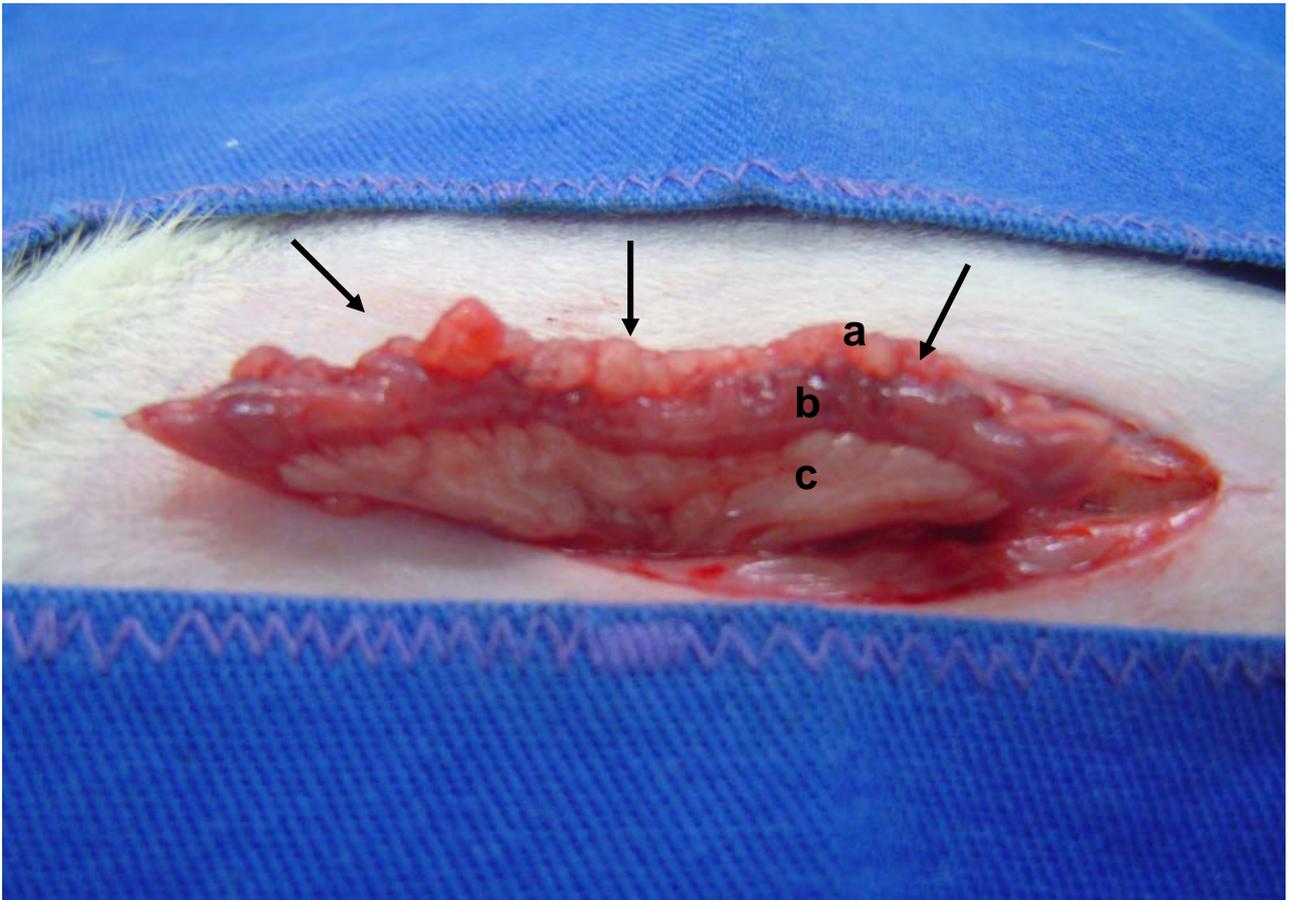


Figura 5a - Fotografia demonstrando a omentoenteropexia (setas) no rato 29.

a – grande omento

b – intestino

c – mesentério

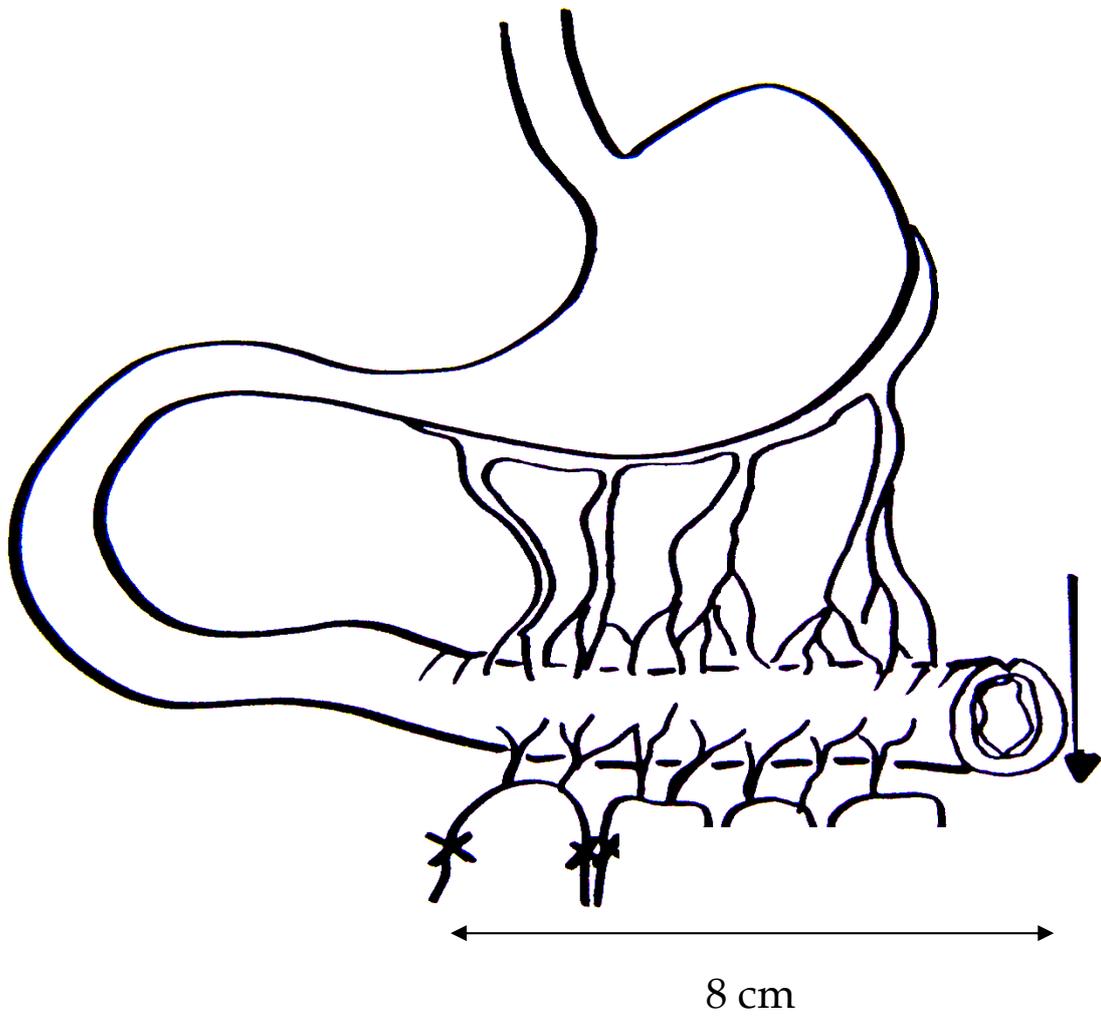


Figura 5b - Desenho esquemático da omentoenteropexia

Segunda operação:

Grupo 1: C.

- 1 – Tricotomia da parede anterior do abdome;
- 2 – anti-sepsia com solução de álcool iodado a 2% , técnica asséptica;
- 3 – laparotomia mediana de 4 cm de comprimento;
- 4 – manipulação do intestino delgado;
- 5 – fechamento da parede: peritônio e aponeurose com fio Ethibond® 3-0 em plano único, com sutura contínua e festonada; pele, com sutura contínua de fio Seda® 3-0.

Grupo 2 :IC.

- 1 – Tricotomia da parede anterior do abdome;
- 2 – anti-sepsia com solução de álcool iodado a 2% , técnica asséptica;
- 3 – laparotomia mediana de 4 cm de comprimento;
- 4 – manipulação do intestino delgado;
- 5 - fechamento da parede: peritônio e aponeurose com fio Ethibond® 3-0 em plano único, com sutura contínua e festonada; pele, com sutura contínua de fio Seda® 3-0.

Grupo 3: ICOE.

- 1 - Tricotomia da parede anterior do abdome;
- 2 - anti-sepsia com solução de álcool iodado a 2% , técnica asséptica;
- 3 - laparotomia mediana de 4 cm de comprimento;
- 4 - ligadura dos vasos do mesentério jejunal com fio Seda® 3-0, em toda sua extensão (figuras 6a e 6b);
- 5 - fechamento da parede: peritônio e aponeurose com fio Ethibond® 3-0 em plano único, com sutura contínua e festonada; pele, com sutura contínua de fio Seda® 3-0.

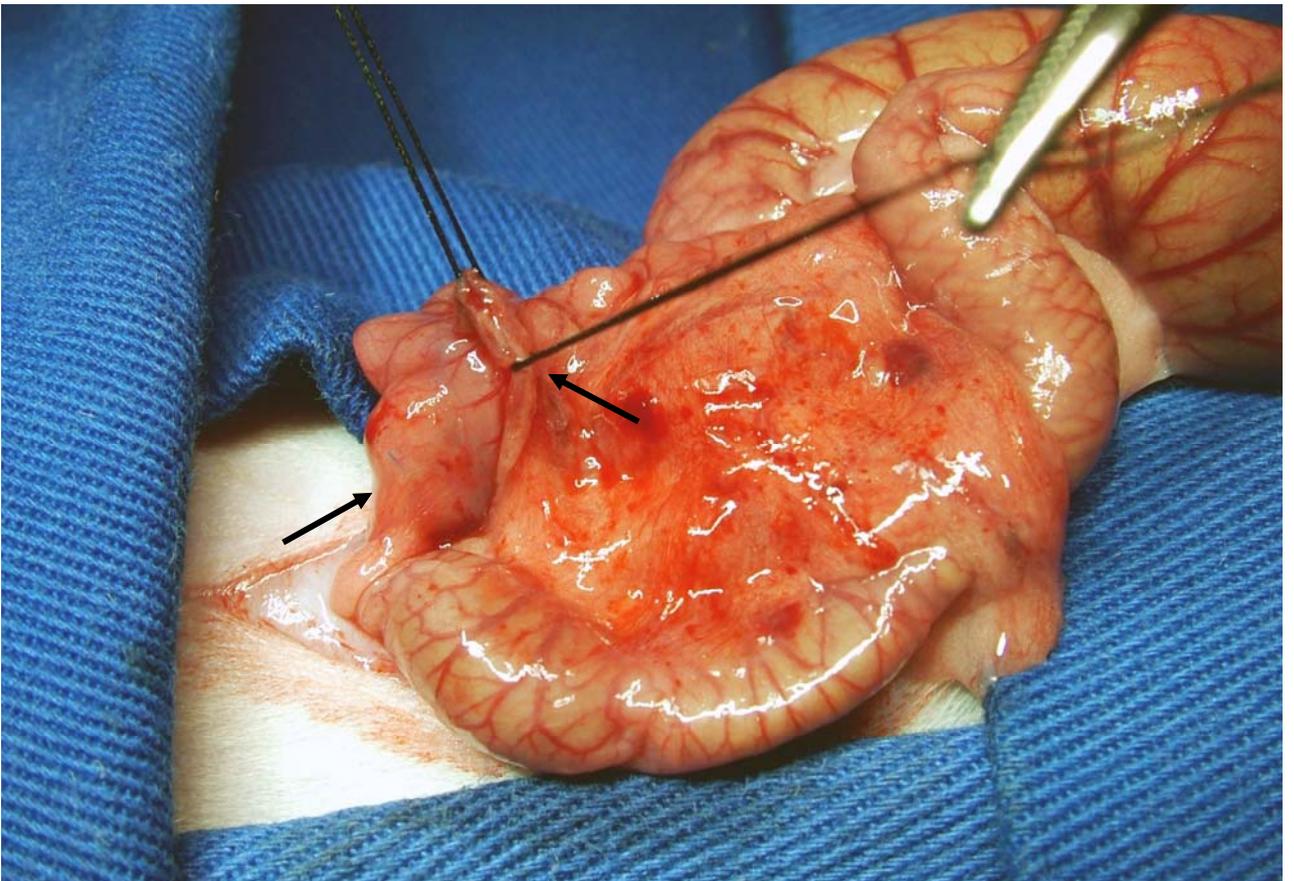


Figura 6a - Fotografia demonstrando a ligadura do mesentério (seta da direita) e a alça vascularizada pela omentoenteropexia (seta da esquerda).

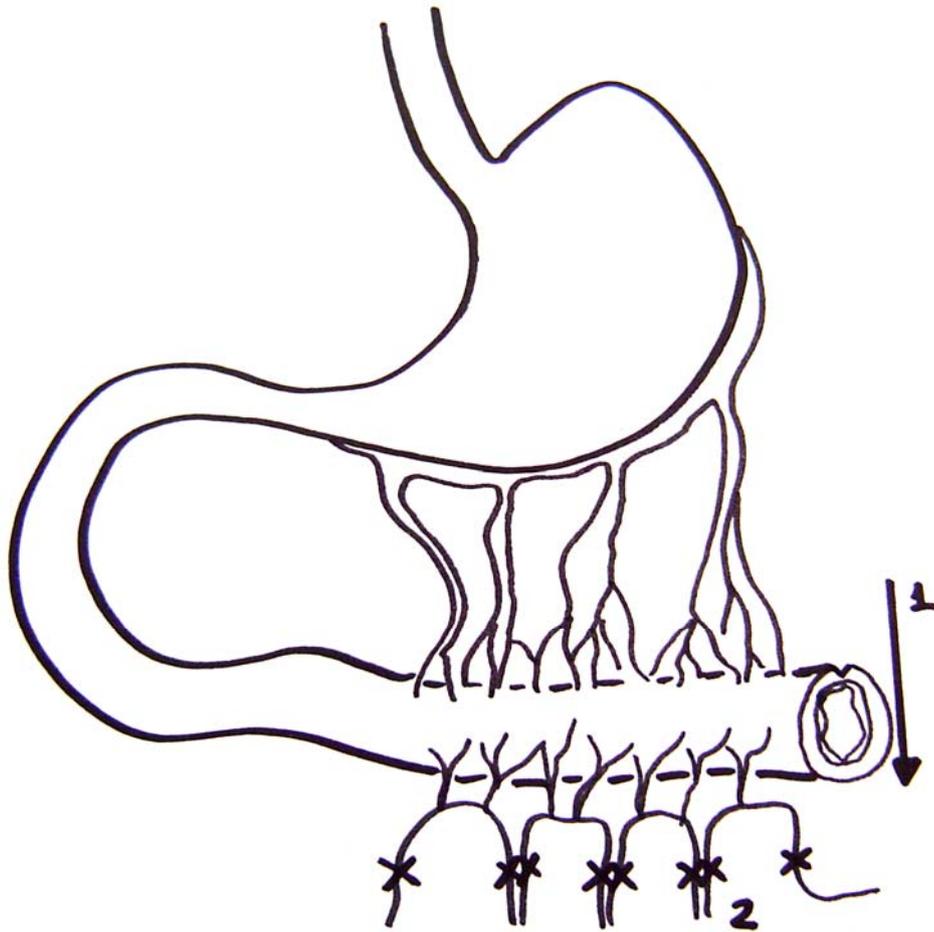


Figura 6b - Desenho esquemático da enterostomia (1) e ligadura e secção do mesentério (2).

4.3.3 – Teste da d-xilose

O teste da d-xilose foi realizado no período entre 17 e 22 dias após a segunda operação. Os animais foram transferidos para as gaiolas metabólicas individuais e mantidos por sete dias até a data do teste, para adaptação (figura 7).

Na data do teste os animais receberam apenas água *ad libitum*, por um período de oito horas. Ao final deste período os animais foram pesados. A administração de d-xilose em solução diluída a 10% em água destilada foi realizada por gavagem, na dose de 0,5g/Kg de peso do animal. Em seguida os animais retornaram às gaiolas metabólicas por um período de cinco horas para coleta da urina. As amostras de urina foram congeladas para posterior análise. Após o término da coleta da urina os animais foram transferidos para as gaiolas de polipropileno.

As amostras de urina coletadas foram descongeladas e submetidas a uma reação química colorimétrica, para permitir a aferição da concentração de d-xilose mediante a leitura de sua densidade óptica (absorbância). Paralelamente, foram lidos os valores de absorbância de soluções padrão com diluições crescentes de d-xilose (concentrações conhecidas), para confecção da curva padrão. Os procedimentos laboratoriais para análise da urina e dosagem da d-xilose, assim como a curva padrão e as equações utilizadas, encontram-se detalhados no anexo II.

4.3.4 – Procedimento cirúrgico para retirada das peças e eutanásia

Seis dias após o teste da d-xilose os animais foram pesados e reoperados para a retirada das peças. A peça consistiu no segmento de oito centímetros de jejuno, a partir do ângulo duodeno-jejunal (figuras 8a). Nos grupos IC e ICOE a anastomose jejunoileal foi o limite da ressecção. Os animais foram submetidos à eutanásia por inalação contínua de éter, sob máscara, ainda sob efeito da anestesia intramuscular.



Figura 7 - Fotografia do conjunto de gaiolas metabólicas individuais utilizadas no experimento.

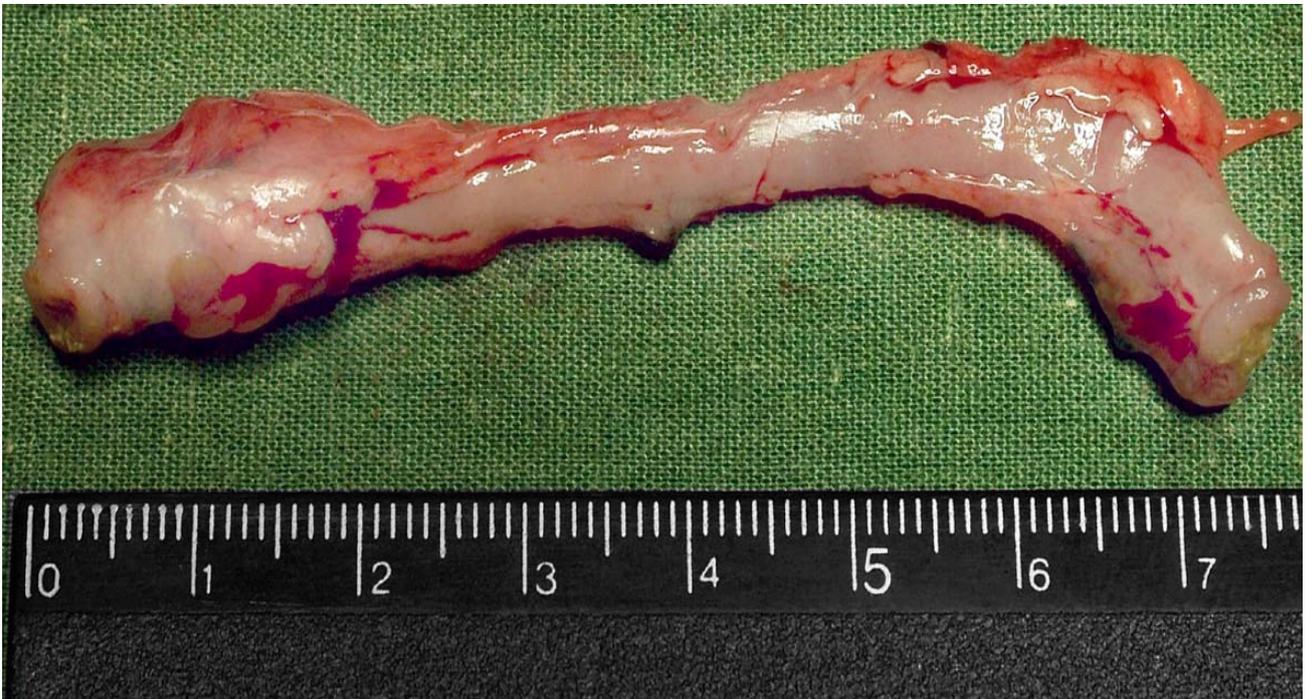


Figura 8a - Fotografia demonstrando a peça retirada, imediatamente antes da fixação.

4.3.5 – Exame anatomopatológico

As peças retiradas de cada animal foram abertas no sentido longitudinal (figura 8b), na borda antimesentérica e presas a um pedaço de cartolina com dimensões de 9x2 centímetros, com marcação das extremidades proximal e distal. A fixação foi feita com solução de formaldeído tamponado a 10% por no mínimo 24 horas, sendo posteriormente realizado o processamento histológico padrão, com a produção dos blocos de parafina.

Foram selecionados cortes histológicos da porção média de cada peça, medida entre 3,5 e 4,5 centímetros, desde sua extremidade proximal. A espessura dos cortes foi padronizada em 5µm, no sentido transversal. As lâminas foram coradas pelo método da hematoxilina-eosina.

O material proveniente dos mesmos blocos foi preparado em lâminas silanizadas para serem processadas pela técnica da avidina-biotina peroxidase, para a marcação imuno-histoquímica. Foi empregado método baseado na proliferação do antígeno nuclear celular (*proliferating cell nuclear antigen* - PCNA) - pesquisa da proteína P-10.

As técnicas utilizadas nos procedimentos que se referem ao preparo das lâminas encontram-se no Anexo III.

As lâminas produzidas foram submetidas à avaliação histológica. O material foi numerado, não sendo possível ao examinador a identificação do grupo de origem.

Os equipamentos utilizados para esta avaliação foram: um microscópio óptico Carl-Zeiss, modelo Axio Shop 2 plus® equipado com câmera de vídeo e conectado a um computador com processador Pentium4 - Intel. As aferições foram realizadas com auxílio dos programas Pegasus Capture Studio® e Axio Vision 3.1® (Carl-Zeiss). A análise foi realizada no Laboratório de Anatomia Patológica do Hospital Universitário da Universidade de Brasília.

4.3.6 - Avaliação das lâminas coradas pelo método da hematoxilina-eosina

Dez vilosidades e 10 criptas intestinais foram selecionadas para análise e morfometria, a partir de imagens capturadas do microscópio com aumento de 10x. A imagem capturada do microscópio foi transmitida ao computador para a aferição da altura das vilosidades e profundidade das criptas jejunais, em micrômetros. As medidas foram

realizadas com o emprego do aplicativo próprio, de forma manual, com o uso do *mouse* do computador. A altura das vilosidades foi medida desde o ápice até a transição com as criptas e a profundidade das criptas correspondeu ao restante da altura do epitélio mucoso (conforme demonstrado nas figuras 9a e 9b).

Os dados produzidos foram submetidos ao tratamento estatístico.

4.3.7 - Avaliação imuno-histoquímica

Nas imagens capturadas do microscópio com aumento de 40x (figura 10), foi realizada a contagem manual das células de criptas jejunais inteiras, somando um mínimo de 500 células, classificadas como marcadas (coloração marrom-escura) e não marcadas (coloração azul). Foi calculado o quociente entre o número de células marcadas e o número total de células contadas. O resultado foi expresso como percentagem (quociente multiplicado por 100) de células marcadas pelo PCNA nas criptas jejunais.

Os dados produzidos foram submetidos ao tratamento estatístico.



Figura 8b - Fotografia demonstrando a abertura longitudinal na borda antimesentérica da peça.

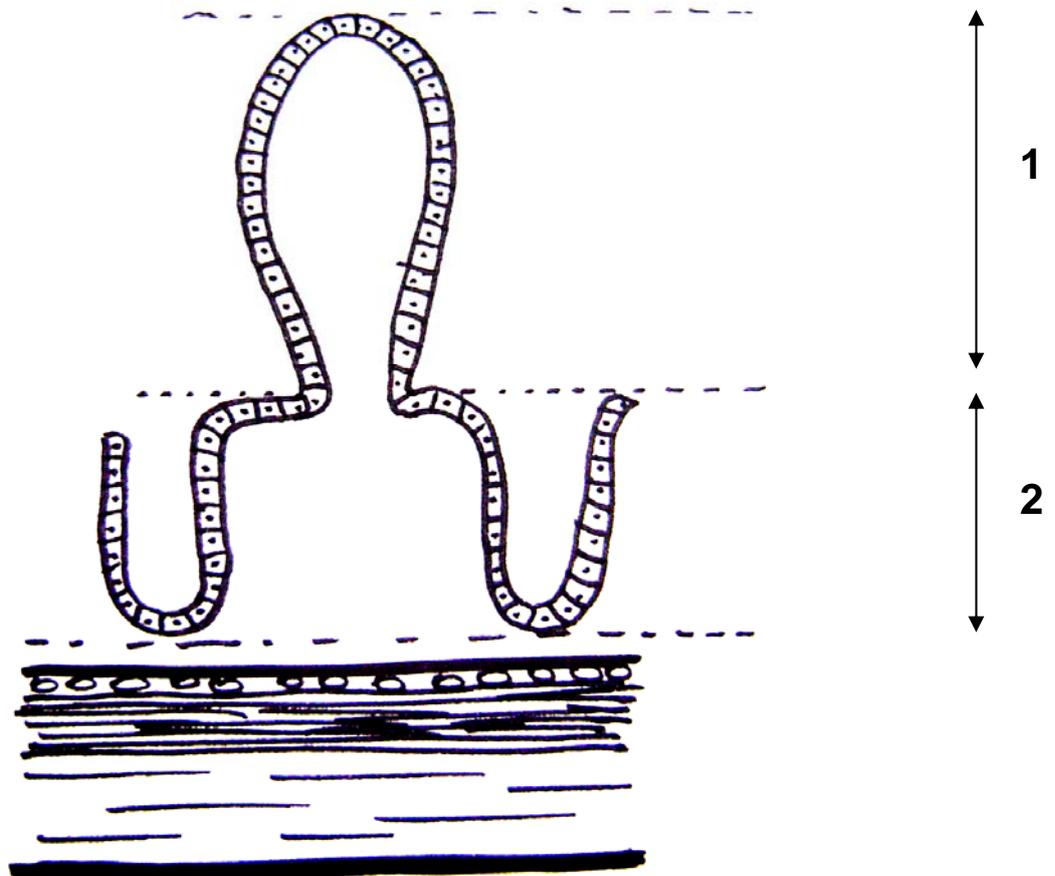


Figura 9a - Desenho esquemático demonstrando a aferição da altura das vilosidades (1) e da profundidade das criptas intestinais (2).

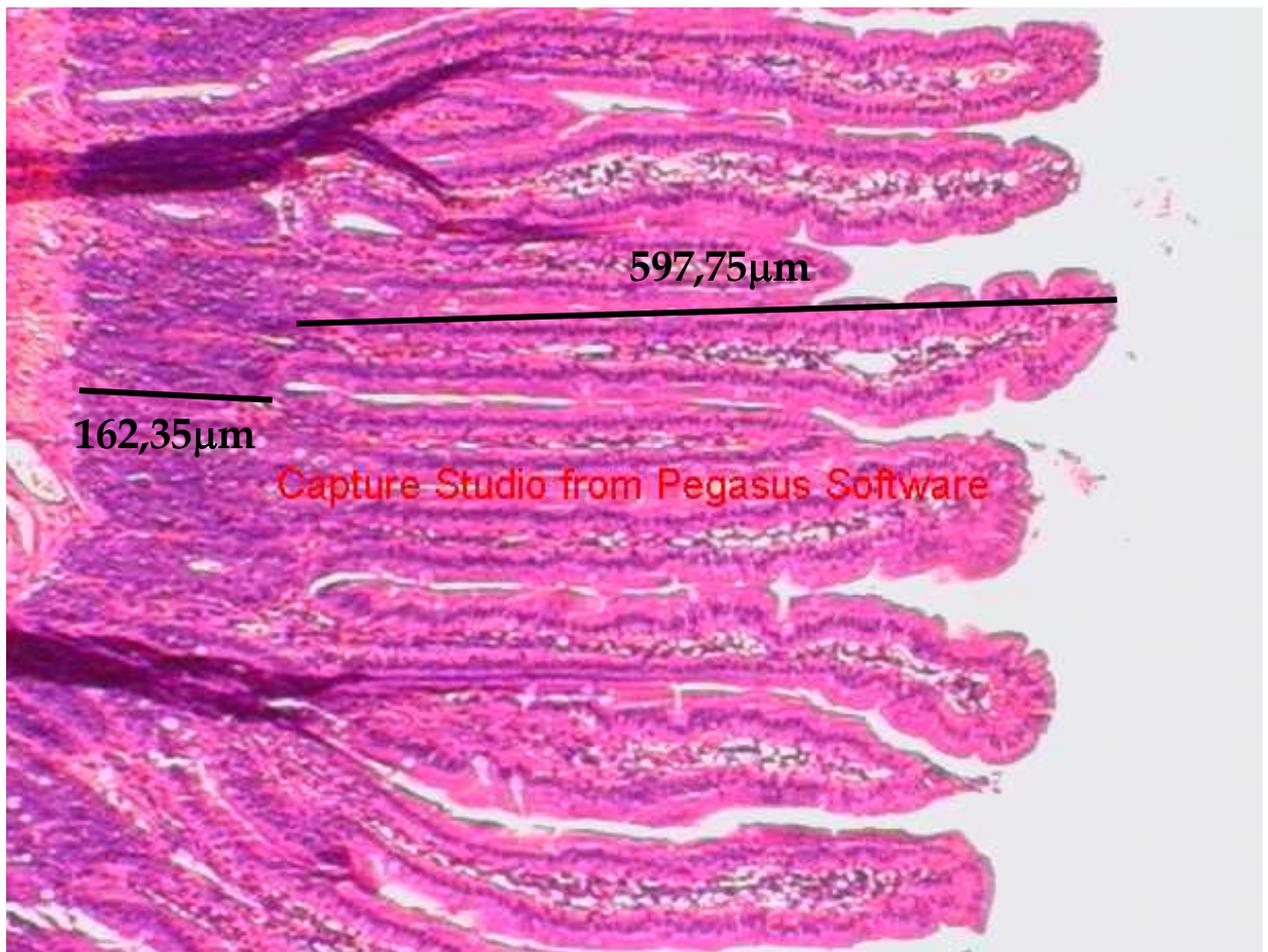


Figura 9b - Fotografia demonstrando a aferição da altura das vilosidades e profundidade das criptas intestinais.

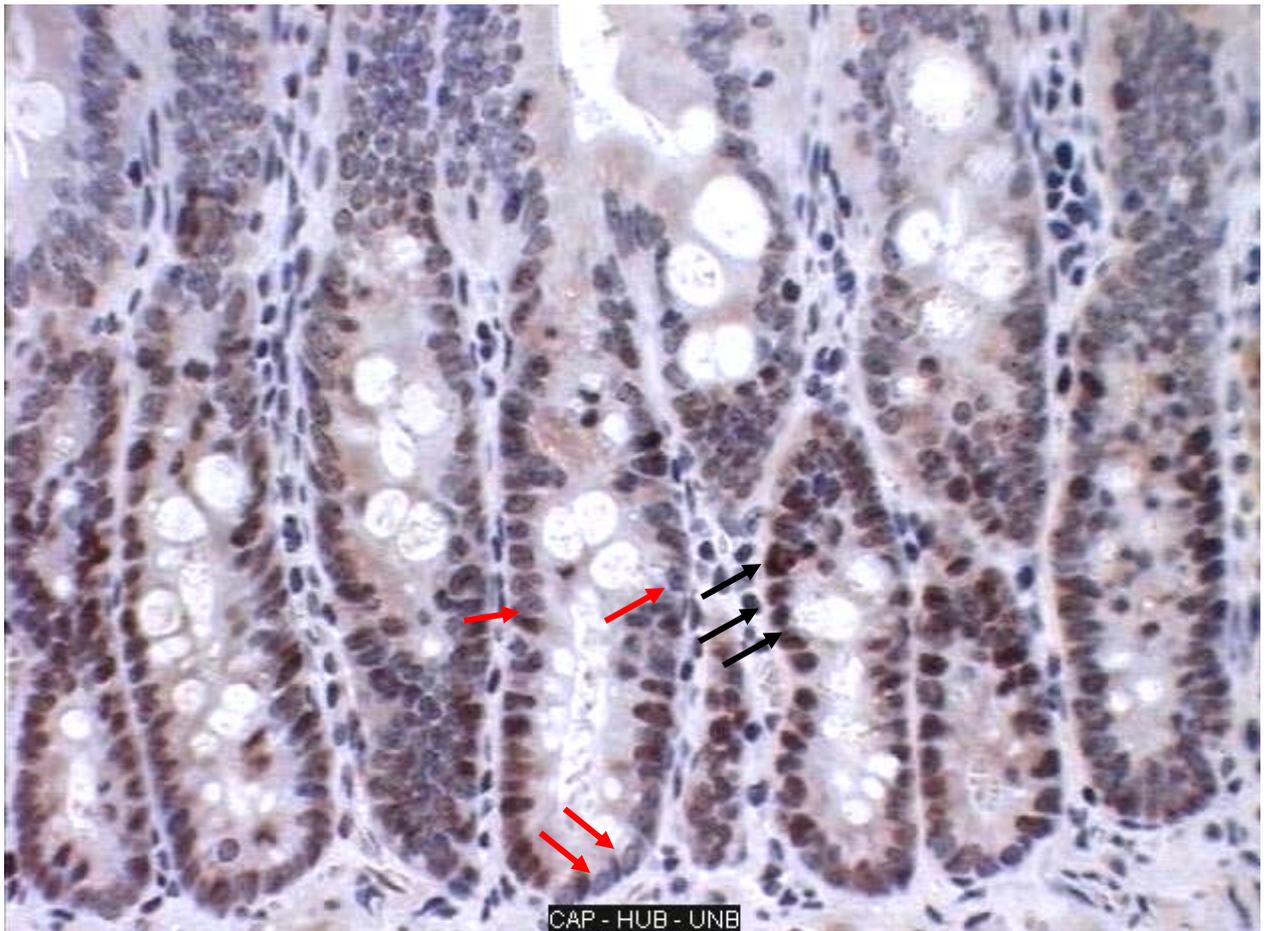


Figura 10 - Fotografia demonstrando as criptas jejunais com aumento de 40x, após a marcação imuno-histoquímica pelo PCNA. As células marcadas são de coloração marrom-escuro (setas pretas) e as não-marcadas são de coloração azulada (setas vermelhas).

4.4 – ANÁLISE ESTATÍSTICA

4.4.1 – Dados do teste da d-xilose

O teste de Kolmogorov-Smirnov foi utilizado para testar a normalidade da distribuição dos dados das variáveis estudadas (CONOVER, 1980). A distribuição destes foi representada em histogramas com curvas normais, para cada variável estudada.

Após o estabelecimento da normalidade da distribuição, testes paramétricos foram utilizados para testar a nulidade das hipóteses relativas a variáveis de distribuição normal. Nestes casos foi utilizada a análise de variância ANOVA, (CONOVER, 1980).

A identificação de grupos diferentes, quando comparados entre si, foi feita com a aplicação do pós-teste de Tukey.

Testes não paramétricos foram utilizados para testar a nulidade das hipóteses das variáveis em que a distribuição dos dados não foi normal. O teste de Kruskal-Wallis foi aplicado neste caso (VIEIRA, 1991).

Foi admitido erro padrão aceitável como menor do que 5% para todos os dados.

4.4.2 – Dados da avaliação morfométrica

O teste de Kolmogorov-Smirnov foi utilizado para testar a normalidade da distribuição dos dados de criptas e vilosidades. Para distribuição normal, foi utilizada a análise da variância (ANOVA) para identificar possíveis diferenças nos valores de altura das vilosidades e profundidade das criptas entre os grupos controle, IC e ICOE. O pós-teste de Tukey foi empregado para verificar quais grupos foram diferentes entre si.

4.4.3 – Dados da avaliação imuno-histoquímica

O teste de Kolmogorov-Smirnov foi utilizado para testar a normalidade da distribuição dos dados. Para a distribuição normal, foi utilizada a análise da variância (ANOVA), para identificação de possíveis diferenças na percentagem de células em fase proliferativa entre os grupos C, IC e ICOE.

A análise estatística descrita foi realizada por especialista independente, com o emprego do programa SPSS® 12.0 para Windows® (*Microsoft, Inc.*).

5. RESULTADOS

5.1 – ANÁLISE GERAL

Quarenta e seis ratos machos foram utilizados no experimento. Trinta e seis foram submetidos a enterectomia para confecção de um modelo de intestino curto. Desses, 18 foram submetidos a neovascularização jejunal por omentoenteropexia e 18 permaneceram com a vascularização jejunal anatômica. Os outros dez ratos foram submetidos apenas às laparotomias. O peso inicial dos animais variou entre 240 g e 330 g (tabelas 1, 2 e 3).

Oito animais morreram durante o experimento. Um animal do grupo-controle (C), três animais do grupo intestino curto e omentoenteropexia (ICOE) e quatro do grupo intestino curto (IC). Dois morreram depois da primeira operação (um do grupo IC e um do grupo ICOE). Os demais, depois da segunda operação (um do grupo C, três do grupo IC e dois do grupo ICOE). As causas de morte observadas foram: depressão respiratória pós-anestésica em dois animais (um do grupo C e outro do grupo IC), falha de fixação da omentoenteropexia com necrose intestinal em um animal (grupo ICOE) e desnutrição associada à síndrome do intestino curto nos demais (dois do grupo ICOE e três do grupo IC). Os animais que morreram foram excluídos do estudo.

Em todos os animais submetidos à neovascularização, a fixação da omentoenteropexia foi adequada; a única exceção foi o animal descrito acima, que apresentou necrose intestinal.

Nenhum rato submetido à enterectomia apresentou complicações relativas à anastomose intestinal, como deiscência ou estenose.

5.2 – ANÁLISE DO PESO DOS ANIMAIS

Os pesos iniciais dos animais variaram entre 240g e 330g.

Os animais do grupo C apresentaram ganho ponderal durante o estudo, com dois períodos de pequenas perdas após a quarta e a sexta semanas. O peso médio final foi 36% maior do que o peso médio inicial.

Os animais do grupo IC apresentaram significativa perda ponderal na primeira semana de seguimento, após a primeira operação. Seguiu-se um período de recuperação ponderal, durante quatro semanas. Os animais voltaram a perder peso na quinta semana, recuperando-se a seguir. Ao término do estudo o peso médio desses animais foi semelhante ao peso inicial.

Os animais do grupo ICOE apresentaram significativa perda ponderal na primeira semana do estudo. Seguiu-se um período de recuperação ponderal, até a quarta semana. A partir da quinta semana houve nova perda significativa de peso. Os animais apresentaram pequena recuperação e perda nas últimas três semanas do estudo. O peso médio final foi inferior ao peso médio inicial.

Os pesos dos animais de cada grupo, aferidos durante todo o experimento, estão nas tabelas 1, 2 e 3.

TABELA 1 - Pesos dos animais do grupo-controle (C).

Rato	Peso In	Peso 1	Peso 2	Peso 3	Peso 4	Peso 5	Peso 6	Peso xl	Peso e
C1	262,99	289,56	308,25	330,8	350,77	348,03	369,91	374,66	388,92
C2	290,78	309,18	342,25	357,94	387,58	372,32	390,77	404,57	438,88
C3	300,92	320,56	357,9	389,69	440,41	403,99	426,13	420,92	440,3
C4	294,21	301,45	328,95	347,45	369,6	347,89	355,86	344,4	362,19
C5	280,75	321,55	361,88	388,87	396,14	393,59	415,39	420,83	434,82
C6	272,39	319,13	339,08	306,47	325,09	351,11	369,91	373,91	387,58
C7	244,58	275,85	304,34	328,95	344,93	331,28	355,62	363,7	376,19
C8	257,54	286,13	315,35	348,1	357,79	346,14	361,27	237,59	261,41
C9	329,65	351,26	372,25	389,54	402,68	425,52	431,49	456,87	486,11

PIn – peso inicial (aferido no início do estudo);

P1 a P6 – pesos aferidos nas semanas 1 a 6, respectivamente, a partir do início do estudo;

Pxl – pesos aferidos na realização do teste de absorção da d-xilose;

Pe – pesos aferidos na data da eutanásia;

C1 a C9 – animais do grupo-controle.

TABELA 2 - Pesos dos animais do grupo intestino curto (IC).

Rato	Peso In	Peso 1	Peso 2	Peso 3	Peso 4	Peso 5	Peso 6	Peso xl	Peso e
IC1	292,73	233,8	233,1	214,76	209,73	196,58	198,42	190,56	197,65
IC2	308,48	280,23	272,42	267,35	278,93	251,93	255,5	243,81	257,93
IC3	294,91	250,31	273,21	296,37	318,56	301,38	320,87	320,42	339,16
IC4	292,36	253,12	271,22	289,42	315,08	296,92	305,33	301,55	318,12
IC5	277,96	243,63	264,18	282,1	303,5	291,86	310,1	320,75	336,89
IC6	282,15	230,75	236,29	245,27	253,53	254,76	273,79	264,26	278,73
IC7	290,03	267,85	280,54	296,91	319,72	311,55	327,75	336,67	347,32
IC8	277,01	264,55	280,12	288,82	302,86	288,91	305,47	307,17	316,86
IC9	230,78	219,79	230,89	250,03	264,32	249,87	261,8	270,85	271,95
IC10	277,22	218,12	236,42	250,87	253,41	241,03	240,55	363,64	383,1
IC11	272,65	236,35	258,92	283,52	293,74	288,21	305,41	290,88	301,02
IC12	251,95	217,12	288,23	241,64	247,77	246,28	257,07	244,45	248,5
IC13	254,92	217,34	227,94	232,65	241,4	234,71	255,65	233,14	248,36
IC14	296,82	258,61	259,17	262,38	257,04	263,65	267,75	253,64	265,23

PIn – peso inicial (afenido no início do estudo);

P1 a P6 – pesos aferidos nas semanas 1 a 6, respectivamente, a partir do início do estudo;

Pxl – pesos aferidos na realização do teste de absorção da d-xilose;

Pe – pesos aferidos na data da eutanásia;

IC1 a IC14 – animais do grupo intestino curto.

TABELA 3 - Pesos dos animais do grupo intestino curto e omentoenteropexia (ICOE).

Rato	Peso In	Peso 1	Peso 2	Peso 3	Peso 4	Peso 5	Peso 6	Peso xl	Peso e
ICOE 1	300,81	257,34	265,11	256,35	264,14	223,88	216,07	191,39	200,25
ICOE 2	306,05	246,79	250,26	229,88	236,91	235,15	245,96	240,84	237
ICOE 3	329,79	281,31	309,19	310,06	330,32	250,02	227,29	211,72	213,44
ICOE 4	293,31	249,03	274,11	300,79	316,68	248,94	259,2	261,6	241,31
ICOE 5	275,77	256,21	255,18	259,21	268,05	242,87	243,39	229,48	225,85
ICOE 6	271,35	236,35	255,73	279,14	304,32	262,73	273,77	269,79	278,52
ICOE 7	282,74	244,28	271,3	297,66	314,42	300,06	320,47	317,05	332,95
ICOE 8	282,92	232,4	256,31	265,44	281,49	264,61	267,28	259,09	267,13
ICOE 9	261,16	235,48	267,54	285,67	309,65	255,04	247,28	233,52	263,87
ICOE 10	291,35	241,99	255,52	289,28	309,83	262,89	260,86	241,6	262,79
ICOE 11	288,95	253,75	298,88	327,3	348,65	334,66	353,61	356,56	364
ICOE 12	271,64	256,64	275,98	299,75	299,96	259,76	256,78	248,4	256,35
ICOE 13	272,57	226,24	233,17	249,92	273,35	253,91	271,04	266,81	280,01
ICOE 14	266,69	234,5	258,51	270,12	288,46	276,77	298,14	288,32	299,65
ICOE 15	289,25	218,63	232,94	263,36	276,86	249,46	267,24	263,9	269,35

Pln – peso inicial (aferido no início do estudo);

P1 a P6 – pesos aferidos nas semanas 1 a 6, respectivamente, a partir do início do estudo;

Pxl – pesos aferidos na realização do teste de absorção da d-xilose;

Pe – pesos aferidos na data da eutanásia;

ICOE1 a ICOE15 – animais do grupo intestino curto e omentoenteropexia.

5.2.1 – Análise estatística da variável peso e comparação entre os grupos

As aferições de peso apresentaram distribuição normal. A hipótese nula foi que a variação dos pesos dos animais dos grupos C, IC e ICOE ao longo do tempo era igual. Os resultados foram listados abaixo.

1. O peso dos animais do grupo controle variou ao longo do tempo ($p < 0,001$);
2. O peso dos animais do grupo IC variou ao longo do tempo ($p < 0,001$);
3. O peso dos animais do grupo ICOE variou ao longo do tempo ($p < 0,001$);

Quando se comparou a variação dos pesos dos animais ao longo do tempo entre os grupos estudados, os resultados foram os que estão a seguir.

1. Houve diferença de variação de peso entre os animais do grupo-controle e do grupo IC ($p < 0,001$);
2. Houve diferença de variação de peso entre os animais do grupo-controle e do grupo ICOE ($p < 0,001$);
3. Não houve diferença de variação de peso entre os animais do grupo IC e do grupo ICOE ($p = 0,977$);

O gráfico da variação ponderal dos animais de cada grupo ao longo do tempo está ilustrado na figura 11.

Os histogramas de distribuição dos pesos dos animais a partir do início do estudo e a cada nova aferição semanal, até a data da eutanásia, são apresentados no apêndice.

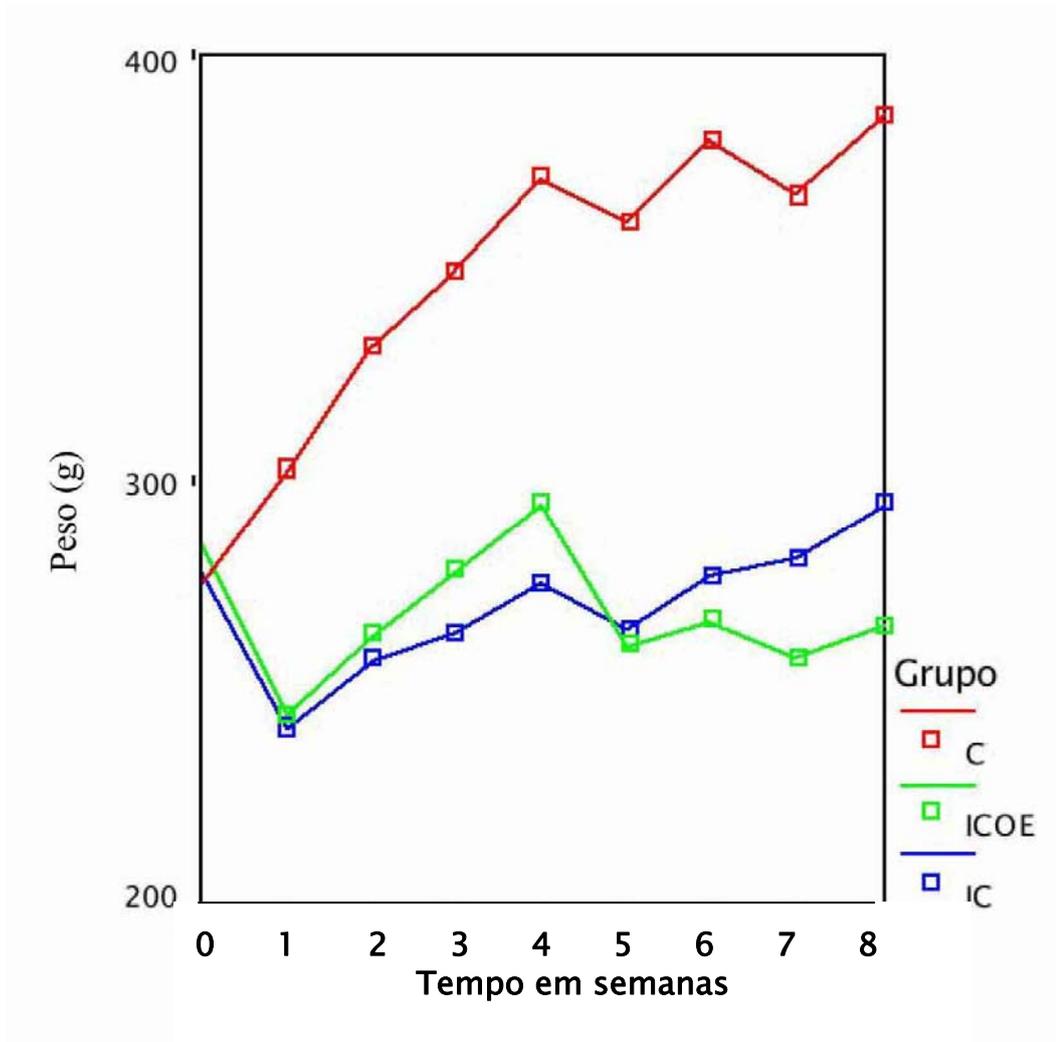


Figura 11 - Gráfico da variação ponderal dos animais dos grupos C, IC e ICOE.

C – Grupo-controle;

IC – Grupo intestino curto;

ICOE – Grupo intestino curto e omentoenteropexia.

5.3 – TESTE DA D-XILOSE

Os ratos do grupo C apresentaram valor médio de concentração de d-xilose na urina de 10,32 μ g/ml (DP=5,71 μ g/ml) e valor médio de d-xilose total absorvida de 51,49 μ g (DP 16,2 μ g/ml).

Os ratos do grupo IC apresentaram valor médio de concentração de d-xilose na urina de 2,87 μ g/ml (DP=1,97 μ g/ml) e valor médio de d-xilose total absorvida de 8,49 μ g (DP 5,69 μ g/ml).

Os ratos do grupo ICOE apresentaram valor médio de concentração de d-xilose na urina de 4,20 μ g/ml (DP=3,29 μ g/ml) e valor médio de d-xilose total absorvida de 13,78 μ g (DP 14,91 μ g/ml).

Os resultados dos testes de d-xilose, em termos de concentração de d-xilose na urina e d-xilose total absorvida dos grupos C, IC e ICOE, apresentam-se respectivamente nas tabelas 4, 5 e 6.

TABELA 4 – Resultados do teste de absorção de d-xilose no grupo-controle (C).

Rato	Volume de urina em mL	Valor de absorbância lido	Concentração de d-xilose µg/mL	D-xilose total absorvida µg
C1	4,4	0,522	9,7285713	42,81
C2	6,6	0,611	11,5448978	76,20
C3	3,5	0,913	17,708163	61,98
C4	9	0,27	4,58571423	41,27
C5	3,3	0,956	18,585714	61,33
C6	5,9	0,583	10,9734692	64,74
C7	4,8	0,603	11,3816325	54,63
C8	3,5	0,433	7,9122448	27,69
C9	5,2	0,354	6,29999992	32,76

C1 a C9 – ratos do grupo-controle.

TABELA 5 – Resultados do teste de absorção de d-xilose no grupo intestino curto (IC).

Rato	Volume de urina em mL	Valor de absorbância lido	Concentração de d-xilose µg/mL	D-xilose total absorvida µg
IC1	1,6	0,168	2,5040816	4,01
IC2	1,8	0,166	2,46326527	4,43
IC3	6	0,240	3,97346934	23,84
IC4	0,8	0,475	8,76938764	7,01
IC5	8,2	0,104	1,19795917	9,82
IC6	1,5	0,22	3,56530608	5,35
IC7	4,6	0,162	2,38163262	10,95
IC8	4,8	0,213	3,42244894	16,43
IC9	2,5	0,213	3,42244894	8,55
IC10	4,4	0,133	1,7897959	7,87
IC11	2,9	0,164	2,42244895	7,02
IC12	2,7	0,183	2,81020405	7,59
IC13	3,8	0,069	0,48367346	1,84
IC14	4	0,096	1,03469386	4,14

IC1 a IC14 – ratos do grupo intestino curto.

TABELA 6 – Resultados do teste de absorção de d-xilose no grupo intestino curto e omentoenteropexia (ICOE).

Rato	Volume de urina em mL	Valor de absorbância lido	Concentração de d-xilose µg/mL	D-xilose total absorvida µg
ICOE1	1,8	0,14	1,93265304	3,48
ICOE2	1,9	0,203	3,21836731	6,11
ICOE3	4,7	0,69	13,1571427	61,84
ICOE4	3,6	0,428	7,81020398	28,12
ICOE5	9,8	0,049	0,0755102	0,74
ICOE6	1,6	0,331	5,83061217	9,33
ICOE7	2	0,295	5,0959183	10,19
ICOE8	4,6	0,149	2,1163265	9,73
ICOE9	4,7	0,146	2,05510201	9,66
ICOE10	3,8	0,322	5,6469387	21,46
ICOE11	2,6	0,295	5,0959183	13,25
ICOE12	1,7	0,302	5,23877544	8,90
ICOE13	2,8	0,186	2,87142853	8,04
ICOE14	4,4	0,165	2,44285711	10,75
ICOE15	11,6	0,067	0,44285714	5,14

ICOE1 a ICOE15 – ratos do grupo intestino curto e omentoenteropexia.

5.3.1 – Análise estatística dos resultados do teste de absorção da d-xilose

Os valores de concentração de d-xilose urinária apresentaram distribuição normal. A hipótese nula foi que não havia diferença estatística significativa entre os grupos C, IC e ICOE. O teste de significância mostrou $p=0,000$ na comparação entre os grupos, sendo a hipótese nula rejeitada. Os resultados da comparação estatística entre os grupos são apresentados na tabela 7. O gráfico de barras que representa as médias com a variação do desvio-padrão da concentração de d-xilose urinária nos grupos C, IC e ICOE aparece na figura 12.

Os valores de d-xilose total absorvida não tiveram distribuição normal. A hipótese nula foi que não havia diferença estatisticamente significativa nos valores desta variável, entre os grupos C, IC e ICOE. O resultado deste teste foi $p<0,001$, isto é, a hipótese de que as medianas dos três grupos são iguais foi rejeitada. Os resultados são apresentados na tabela 8. O diagrama *box-plot* dessa variável mostra-se na figura 13.

Os histogramas de distribuição dos valores de concentração urinária de d-xilose e d-xilose total absorvida são apresentados no apêndice 1.

TABELA 7 - Resultado do pós-teste de Tukey para a variável concentração de d-xilose urinária.

Grupo	Grupo	p
C	IC	0,000
	ICOE	0,000
IC	C	0,000
	ICOE	0,530
ICOE	C	0,000
	IC	0,530

C – grupo-controle;

IC – grupo intestino curto;

ICOE – grupo intestino curto e omentoenteropexia.

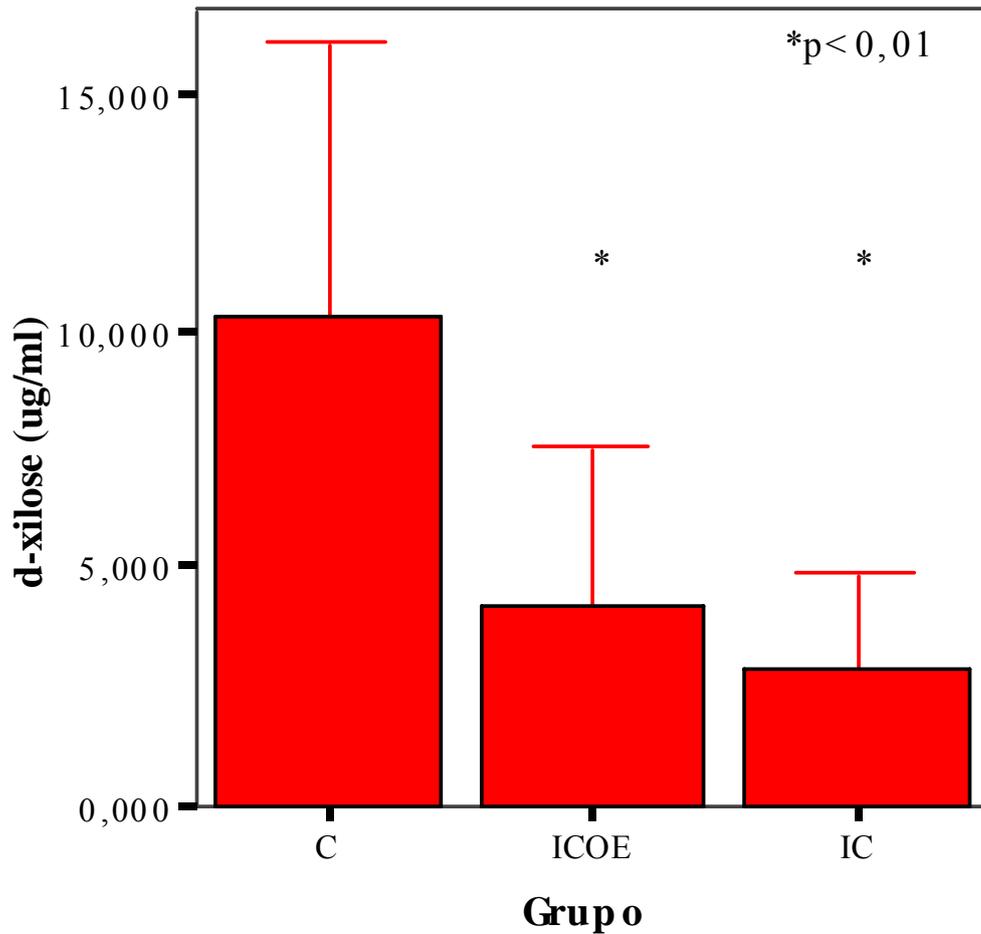


Figura 12 - Gráfico de barras que representam as médias mais ou menos o desvio padrão da concentração de d-xilose urinária nos grupos C, IC e ICOE.

C – grupo-controle;

IC – grupo intestino curto;

ICOE – grupo intestino curto e omentoenteropexia.

TABELA 8 - Resultado do teste de Kruskal-Wallis para a variável d-xilose total absorvida.

Grupo	Grupo	p
C	IC	0,000
	ICOE	0,000
IC	C	0,000
	ICOE	0,507
ICOE	C	0,000
	IC	0,507

C – grupo-controle;

IC – grupo intestino curto;

ICOE – grupo intestino curto e omentoenteropexia.

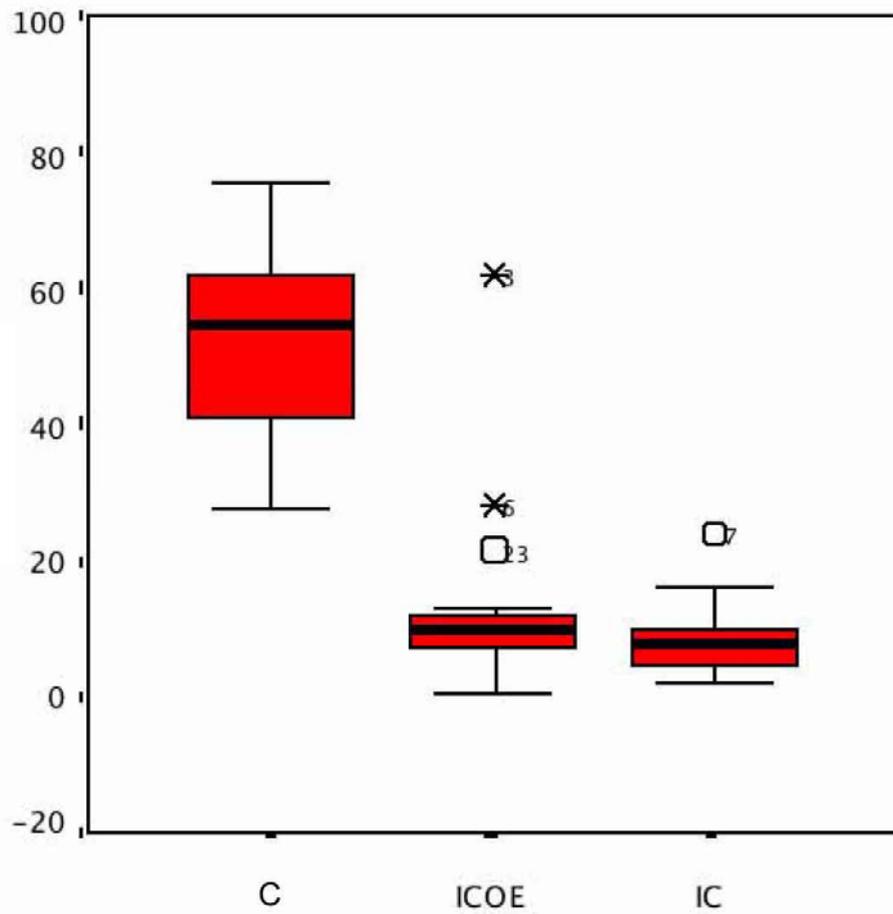


Figura 13 - Análise da d-xilose total absorvida nos grupos C, IC e ICOE – diagrama

box-plot.

C – grupo-controle;

IC – grupo intestino curto;

ICOE – grupo intestino curto e omentoenteropexia.

5.4 – AVALIAÇÃO MORFOMÉTRICA DA MUCOSA JEJUNAL

A média das aferições de altura das vilosidades da mucosa jejunal dos animais do grupo C foi de 397,38 μm (DP = 78,37 μm), e a média das aferições de profundidade das criptas foi de 164,24 μm (DP = 35,74 μm). A média das aferições dessas variáveis nos animais do grupo IC foi de 525,02 μm (DP = 44,15 μm) para altura das vilosidades e 201,44 μm (DP=19,42 μm) para profundidade das criptas. Nos animais do grupo ICOE os valores foram de 495,89 μm (DP=57,52 μm) para altura das vilosidades e 223,26 μm (DP = 31,69 μm) para profundidade das criptas.

As aferições de altura das vilosidades e profundidade das criptas da mucosa jejunal são apresentadas nas tabelas 9 e 10 (grupo C), 11a, 11b, 12a e 12b (grupo IC), 13a, 13b, 14a e 14b (grupo ICOE).

5.4.1 – Análise estatística das variáveis morfométricas

A distribuição dos dados correspondentes a esses resultados foi normal. A análise de variância (ANOVA) demonstrou diferença estatística entre os valores de altura das vilosidades e profundidade das criptas entre os grupos C, IC e ICOE ($p=0,000$). O pós-teste de Tukey confirmou que cada um dos grupos apresentou medidas diferentes entre si. Esses resultados são apresentados nas tabelas 15a e 15b.

Os gráficos de barras que representam as médias com a variação do desvio-padrão das medidas de altura das vilosidades e profundidade das criptas nos grupos C, IC e ICOE aparecem respectivamente nas figuras 14 e 15.

TABELA 9 – Altura das vilosidades da mucosa intestinal dos ratos do grupo C em micrômetros (μm).

C1	C2	C3	C4	C5	C6	C7	C8	C9
537,13	481,7	366,81	345,89	359,02	426,51	300,46	466,42	271,23
559,78	500	351,2	376,54	370,55	374,4	324,97	489,48	247,77
553,9	516,69	352,37	372,35	371,98	419,13	351,53	484,44	224,02
515,97	530,8	346,64	326,77	337,69	400,87	359,54	443,53	274,02
476,42	510,7	362,37	373,04	359,49	396,27	381,32	438,87	334,15
509,61	504,72	352,87	381,93	329,38	251,58	292,42	438,21	318,85
513,16	472,97	376,01	385,72	306,12	379,67	346,49	486,79	351,27
547,44	538,74	400,41	345,04	330,02	377,92	332,31	475,14	364,65
484,28	515,43	395,3	385,24	311,29	385,24	322,87	454,87	368,67
439,61	499,33	371,37	386,45	312,11	396,2	363,24	457,68	278,2

C1 a C9 – ratos do grupo-controle.

TABELA 10 – Profundidade das criptas da mucosa intestinal dos ratos do grupo C em micrômetros (μm).

C1	C2	C3	C4	C5	C6	C7	C8	C9
206,98	201,57	177,26	140,59	125,85	129,38	163,16	189,47	148,54
215,7	217,02	170,29	142,94	121,73	133,74	127,26	169,06	116,63
198,3	202,42	192,42	126,42	132,2	129,38	147,05	166,15	119,55
204,04	201,14	183,23	118,69	142,35	129,38	133,23	160,32	128,29
211,89	228,87	157,84	135,08	122,56	123,01	177,45	169,29	119,65
206,96	212,57	145,68	116,97	128,39	124,63	170,59	172,2	140,67
192,38	220,46	135,95	128,33	147,17	136,53	177,02	169,09	154,96
215,72	235,25	158,94	128,81	114,02	146,79	185,94	169,16	160,56
224,47	260,68	178,63	150,68	126,56	122,56	194,25	153,36	160,35
215,7	261,36	186,28	130,32	123,28	134,59	190,9	175,77	164,09

C1 a C9 – ratos do grupo-controle.

TABELA 11a – Altura das vilosidades da mucosa intestinal dos ratos (1 a 7) do grupo IC em micrômetros (μm).

IC1	IC2	IC3	IC4	IC5	IC6	IC7
541.77	521.21	457,17	452,54	593.29	570.02	495,11
531.92	525.79	478,9	466,31	595.53	522.93	538,27
503.96	521.65	479,6	461,08	594.1	557.63	512,99
518.56	474.4	501,9	461,83	593.95	526.48	517,8
535.65	475.77	488	449,88	595.5	539.33	560,6
531.26	456.12	442,55	440,83	602.37	558.92	556,72
527.03	510.2	460,73	447,29	619.97	526.76	620,11
577.97	556.21	495,15	441,81	565.11	559.99	584,82
502.31	475.04	490,35	446,25	567.97	539.7	584,25
557.39	537.05	460,56	460,32	590.48	517.17	591,73

IC1 a IC7 – ratos do grupo intestino curto.

TABELA 11b – Altura das vilosidades da mucosa intestinal dos ratos (8 a 14) do grupo IC em micrômetros (μm).

IC8	IC9	IC10	IC11	IC12	IC13	IC14
468,27	504,84	633,34	499,78	500,91	544,78	539,9
479,45	525,52	627,27	482,5	509,9	529,1	527,8
467,26	546,34	590,94	471,63	510,12	497,16	589,39
494,64	528,48	581,83	510,42	481,94	509,84	527,63
550,62	467,23	573,87	489,9	498,48	533,32	625,01
544,93	502,36	511,44	484,05	481,94	5118,6	505,09
528,24	502,42	507,45	485,58	524,72	543,12	556,69
579,02	504,18	549,21	556,19	495,57	505,96	541,74
446,77	468,21	553,67	562,49	448,83	502,35	564,27
497,86	547,12	587,88	566,74	488,26	501,6	540,8

IC8 a IC14 – ratos do grupo intestino curto.

TABELA 12a – Profundidade das criptas da mucosa intestinal dos ratos (1 a 7) do grupo IC em micrômetros (μm).

IC1	IC2	IC3	IC4	IC5	IC6	IC7
209.1	228.79	201,57	201,34	216.72	206.2	207,53
215.24	222.75	232,14	207,52	193.94	188.16	215,17
216.69	218.19	209,65	203,79	201.8	200.09	208,71
213.72	244.29	208,17	170,14	201.52	206.74	238,51
222.92	220.89	196,1	221,36	236.36	171.22	236,19
226.18	183.44	195,23	204,47	237.07	215.21	231,04
218.82	175.33	209,54	187,46	215.81	230.46	217,76
239.04	172.73	201,85	211,47	218.61	206.59	212,32
219.38	187.93	234,52	188,71	200.05	208.03	221,24
210.7	216.15	195,45	195,13	219.7	218.18	215,25

IC1 a IC7 – ratos do grupo intestino curto

TABELA 12b – Profundidade das criptas da mucosa intestinal dos ratos (8 a 14) do grupo IC em micrômetros (μm).

IC8	IC9	IC10	IC11	IC12	IC13	IC14
165,4	207,48	200,09	158,1	183,55	205,72	198,23
196,2	174,23	181,82	158,78	187,67	198,23	201,15
152,66	185,26	198,99	159,82	198,21	206,98	182,59
180,78	194,94	191,92	169,68	189,49	209,89	200,2
180,18	187,98	192,79	202,62	209,89	198,75	206,98
161,83	175,69	199,27	185,08	192,38	218,62	214,78
156,39	185,69	200,09	180,18	192,41	209,95	204,13
152,72	205,36	193,37	171,1	189,47	204,23	224,47
179,19	187,25	207,72	165,14	195,65	205,83	221,46
178,68	201,65	203,6	184,41	184,01	212,77	215,57

IC8 a IC14 – ratos do grupo intestino curto.

TABELA 13a – Altura das vilosidades da mucosa intestinal dos ratos (1 a 8) do grupo ICOE em micrômetros (μm).

ICOE1	ICOE2	ICOE3	ICOE4	ICOE5	ICOE6	ICOE7	ICOE8
572,89	578.82	487,01	554.76	557.9	500,79	455,29	404,57
545,46	504.66	472,75	505.21	540.03	555,46	500,11	376,87
652,28	547.29	516,69	560.07	534.85	526,68	554,45	385,16
518,45	532.19	481,82	549.1	568.64	542,36	536,43	363,53
510,75	503.78	544,52	515.7	569.27	542,29	475,4	367,43
515,68	521.25	642	536.44	550.03	517,28	546,84	339,59
502,64	512.13	611,75	514.34	538.37	511,15	541	394,22
518,21	495.85	560,61	499.39	520.34	544,83	492,1	443,07
519,57	513.64	571,24	512.94	526.73	510,75	487,25	394,64
520,36	558.78	590,91	527.28	534.87	549,21	530,6	378,12

ICOE1 a ICOE8 – ratos do grupo intestino curto e omentoenteropexia.

TABELA 13b – Altura das vilosidades da mucosa intestinal dos ratos (9 a 15) do grupo ICOE em micrômetros (μm).

ICOE9	ICOE10	ICOE11	ICOE12	ICOE13	ICOE14	ICOE15
485,82	420,63	689,37	550,62	444,24	461,88	536,52
512,63	418,35	589,41	519,79	432,22	499,67	519,59
493,43	418,27	604,55	475,97	453,9	494,34	504
451,6	484,43	675,87	478,57	521,68	469,01	502,77
483,41	445,31	739,58	444,95	446,4	452,66	505,89
407,14	426,4	789,17	433,33	464,21	452,05	503,24
434,78	408,1	694,85	457,05	434,25	459,53	505,28
406,03	415,28	822,08	460,02	451,21	467,92	511,26
421,42	485,3	820,94	470,65	430,02	481,69	506,32
408,62	425,69	750,15	487,36	475,65	452,03	508

ICOE9 a ICOE15 – ratos do grupo intestino curto e omentoenteropexia.

TABELA 14a – Profundidade das criptas da mucosa intestinal dos ratos (1 a 8) do grupo ICOE em micrômetros (μm).

ICOE1	ICOE2	ICOE3	ICOE4	ICOE5	ICOE6	ICOE7	ICOE8
277,34	215.16	259,85	215.35	263.8	259,12	229,65	204,68
324,68	228.83	263,71	220.46	272.77	244,87	209,23	221,92
233,46	260.61	256,07	224.43	248.49	242,65	219,7	177,75
302,76	224.33	234,85	219.96	245.76	236,76	226,09	171,83
261,61	308.12	237,2	224.26	233.46	254,62	227,27	186,36
252,56	239.41	227,6	213.77	233.34	259,1	259,1	189,78
314,23	224.26	213,9	232.67	219.72	244,17	220,99	189,13
254,36	262.19	268,18	271.38	233.46	268,25	258,11	210,79
280,47	215.81	260,89	271.1	209.36	261,05	226,77	178,54
260,12	250.38	254,71	266.58	262.66	250,04	217,57	182,74

ICOE1 a ICOE8 – ratos do grupo intestino curto e omentoenteropexia.

TABELA 14b – Profundidade das criptas da mucosa intestinal dos ratos (9 a 15) do grupo ICOE em micrômetros (μm).

ICOE9	ICOE10	ICOE11	ICOE12	ICOE13	ICOE14	ICOE15
167,97	186,87	481,82	254,03	201,62	206,98	236,39
162,09	195,42	451,83	247,73	196,26	204,06	239,66
186,65	171,23	409,64	229,46	204,58	204,23	236,11
171,28	197,93	468,95	228,12	224,5	223,08	204,19
147,35	183,36	432,52	230,99	218,15	189,83	216,18
174,15	178,73	545,49	211,24	229,36	213,8	204,06
171,23	180,21	588,52	210,77	171,66	188,85	205,37
174,7	195,3	567,13	208,15	186,66	209,95	204,33
199,35	186,67	500,84	222,98	201,23	192,49	206,55
195,63	189,25	437,15	210,88	200,25	211,45	206,96
186,48	182,36	481,82	236,07	198,96	205,63	205,36

ICOE9 a ICOE15 – ratos do grupo intestino curto e omentoenteropexia.

TABELA 15a - Altura das vilosidades e profundidade das criptas da mucosa jejunal (em micrômetros) - análise estatística.

	Grupo	Média	Desvio-Padrão	Mínimo	Máximo
Altura das vilosidades	C	397,3796	78,37560	224,02	559,78
	IC	525,0220	44,14811	440,83	633,34
	ICOE	495,8862	57,52395	339,59	652,28
Profundidade das criptas	C	164,2411	35,73861	114,02	261,36
	IC	201,4373	19,42270	152,66	250,04
	ICOE	223,2611	31,68974	147,35	324,68

C – grupo-controle;

IC – grupo intestino curto;

ICOE – grupo intestino curto e omentoenteropexia.

TABELA 15b - Comparação dos grupos quanto as variáveis altura das vilosidades e profundidade das criptas: pós-teste de Tukey.

Variáveis	Grupo	Grupo	p
Altura das vilosidades	C	IC	,000
		ICOE	,000
	IC	C	,000
		ICOE	,000
	ICOE	C	,000
		IC	,000
Profundidade das criptas	C	IC	,000
		ICOE	,000
	IC	C	,000
		ICOE	,000
	ICOE	C	,000
		IC	,000

C – grupo-controle;

IC – grupo intestino curto;

ICOE – grupo intestino curto e omentoenteropexia;

Sig. – significância estatística: $p < 0,05$.

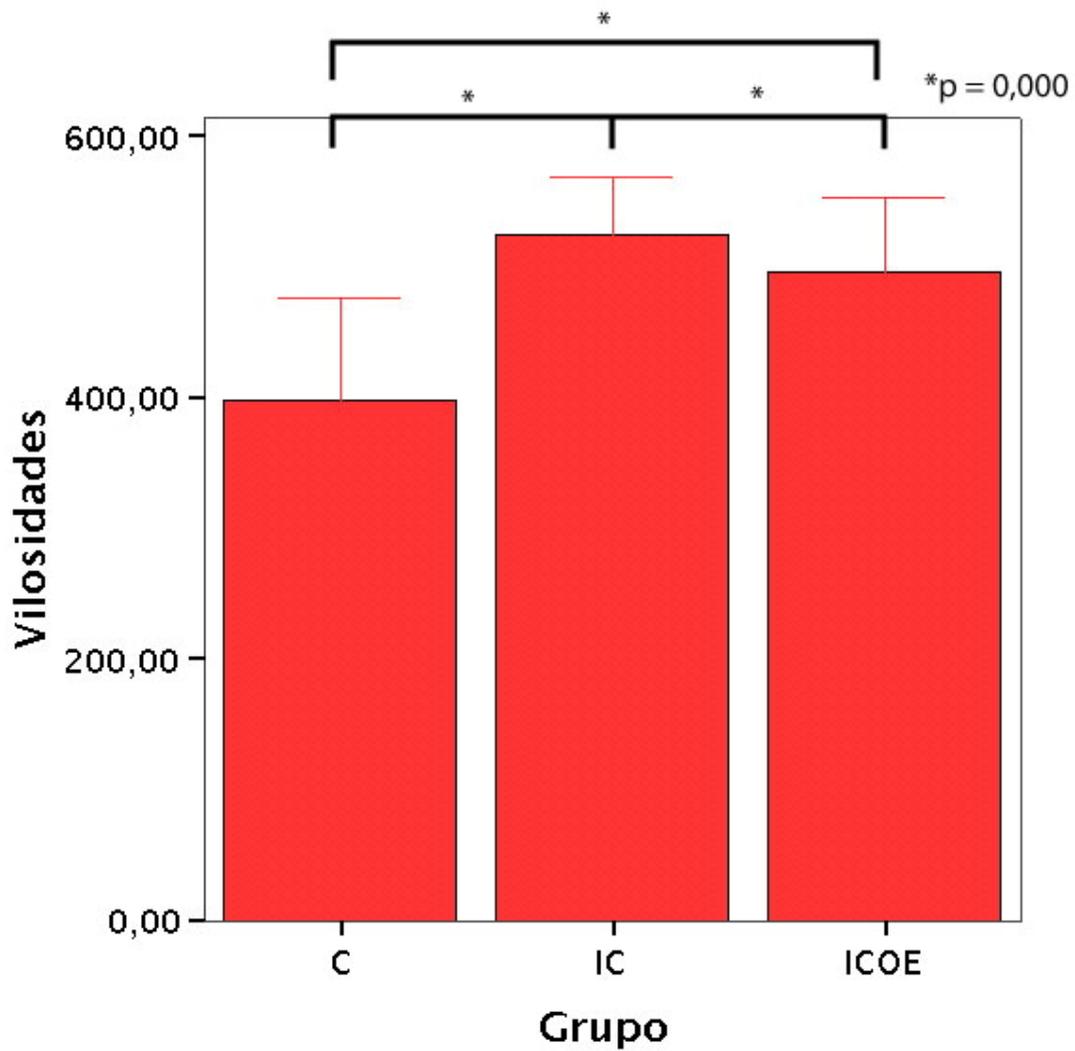


Figura 14 - Gráfico de barras que representam as médias com a variação do desvio padrão das medidas de altura das vilosidades nos grupos C, IC e ICOE.

C – grupo-controle;

IC – grupo intestino curto;

ICOE – grupo intestino curto e omentoenteropexia.

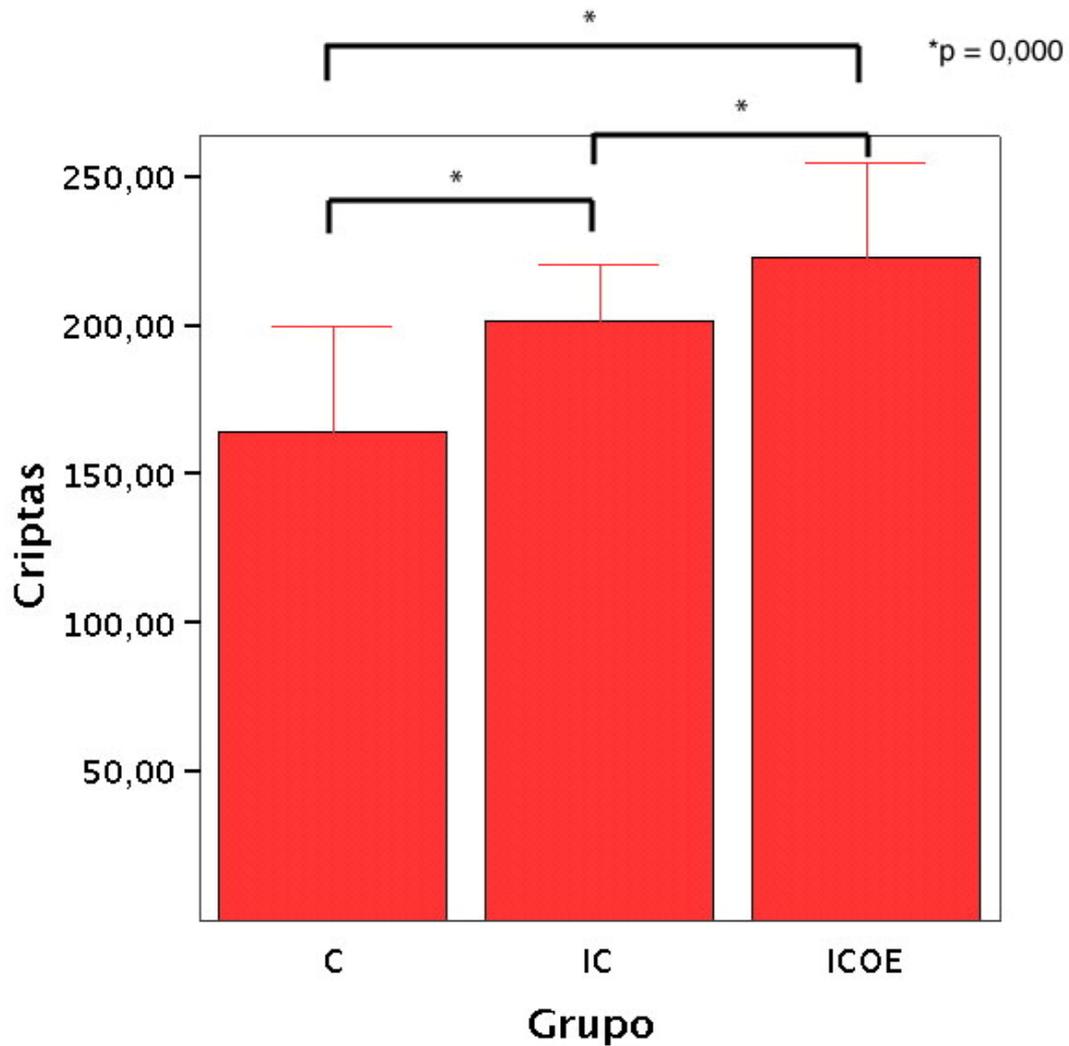


Figura 15 - Gráfico de barras que representam as médias com a variação do desvio padrão das medidas de profundidade das criptas nos grupos C, IC e ICOE.

C – grupo-controle;

IC – grupo intestino curto;

ICOE – grupo intestino curto e omentoenteropexia.

5.5 – AVALIAÇÃO IMUNO-HISTOQUÍMICA DA MUCOSA JEJUNAL

A percentagem média de células marcadas pelo PCNA nas criptas jejunais do grupo C foi de 54,14% (DP=12,37%). O grupo IC apresentou valor de 57,59% (DP=9,2%). No grupo ICOE o valor foi de 52,72% (DP=9,6%).

Os valores de percentagens de células marcadas pelo PCNA encontradas nas criptas jejunais de cada animal dos grupos C, IC e ICOE são apresentados nas tabelas 16, 17 e 18, respectivamente.

5.5.1 – Análise estatística do resultado da marcação imuno-histoquímica

A distribuição das percentagens de células marcadas pelo PCNA nas criptas jejunais foi normal. Não houve diferença estatística desta variável entre os grupos estudados ($p=0,401$).

O gráfico de barras que representa as médias com a variação do desvio-padrão das percentagens em cada grupo é apresentado na figura 16.

TABELA 16 – Contagem das células em fase proliferativa nas criptas jejunais dos ratos do grupo C.

Rato	Células marcadas	Células não marcadas	Total de células contadas	Porcentagem de células marcadas
C1	257	246	503	51
C2	321	320	640	50
C3	419	93	512	82
C4	269	260	529	50,8
C5	308	195	503	61
C6	236	308	544	43
C7	323	207	530	60,9
C8	228	280	508	44,8
C9	237	304	541	43,8

C1 a C9 – ratos do grupo-controle.

TABELA 17 – Contagem das células em fase proliferativa nas criptas jejunais dos ratos do grupo IC.

Rato	Células marcadas	Células não marcadas	Total de células contadas	Porcentagem de células marcadas
IC1	361	154	515	70
IC2	320	241	561	57
IC3	323	190	513	62
IC4	245	259	504	48,6
IC5	374	146	520	71,9
IC6	269	264	533	50,4
IC7	251	262	513	49
IC8	218	302	500	43
IC9	254	281	535	47
IC10	321	188	509	63
IC11	344	178	519	66,8
IC13	330	181	511	64,5
IC14	267	238	505	52,9

IC1 a IC14 – ratos do grupo intestino curto.

TABELA 18 – Contagem das células em fase proliferativa nas criptas jejunais dos ratos do grupo I COE.

Rato	Células marcadas	Células não marcadas	Total de células contadas	Porcentagem de células marcadas
ICOE1	316	202	518	61
ICOE2	290	275	565	51,3
ICOE3	208	322	530	39,2
ICOE4	346	173	519	66,7
ICOE5	309	223	532	58
ICOE6	312	233	545	57
ICOE7	166	354	520	31,9
ICOE8	293	230	523	56
ICOE9	315	270	585	53
ICOE10	233	295	528	44
ICOE11	381	187	568	67
ICOE13	286	240	526	54,3
ICOE14	236	289	525	44,9
ICOE15	275	251	526	52,3

ICOE1 a ICOE15 – ratos do grupo intestino curto e omentoenteropexia.

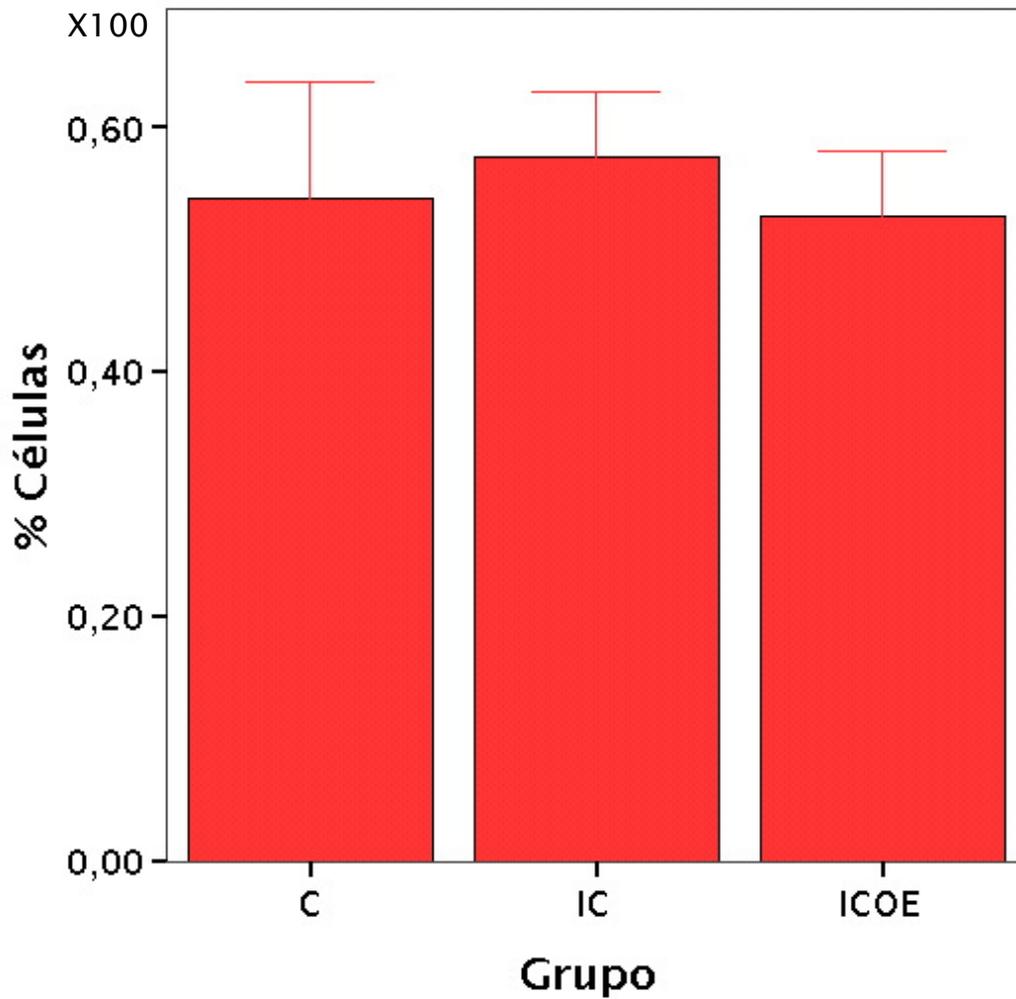


Figura 16 - Gráfico de barras que representam as médias mais ou menos o desvio padrão das percentagens de células marcadas pelo PCNA nas criptas jejunais dos ratos dos grupos C, IC e ICOE.

C – grupo-controle;

IC – grupo intestino curto;

ICOE – grupo intestino curto e omentoenteropexia.

6. DISCUSSÃO

Do método.

A escolha de ratos machos com idade e peso aproximados obedeceu aos critérios de obtenção de uma amostra homogênea de animais nos quais os procedimentos pudessem ser realizados com segurança, proporcionando resultados confiáveis.

O tamanho da amostra e a distribuição dos grupos foram definidos de forma a permitir a padronização de resultados do teste da d-xilose para cada grupo, possibilitando a comparação entre eles. Além disso, procurou-se manter a neovascularização por omentoenteropexia (OE) como única variável no modelo, com o intuito de avaliar seu impacto na capacidade absorptiva intestinal assim como nas alterações histológicas adaptativas que ocorrem na condição de intestino curto.

A técnica anestésica utilizada foi escolhida com base na experiência com o mesmo protocolo utilizado por ROCHA e col. (2002-a, 2002-b e 2003). A via intramuscular é bastante conveniente para anestesia em dose única nos ratos. Quanto às drogas utilizadas, procurou-se aliar os efeitos de rápida perda de consciência proporcionada pela cetamina ao relaxamento muscular e analgesia obtidos com a xilasina.

Para o protocolo cirúrgico, no presente estudo, foi considerada a avaliação do intestino neovascularizado em continuidade com o trato digestivo. Em 1995, SHOSHANY e col. avaliaram funcionalmente um segmento intestinal neovascularizado por omentoenteropexia utilizando o modelo de segmento intestinal isolado. O isolamento de um segmento intestinal por estomas pode levar a hipotrofia da mucosa e da muscular, segundo esses autores. O protocolo pretendeu atender a dois critérios ao se manter o intestino neovascularizado em continuidade com o trânsito digestivo: o primeiro foi o de se obter uma situação mais fisiológica, evitando os inconvenientes acima citados; o segundo foi de poder, concomitantemente, utilizar um modelo de intestino curto, estando o segmento em estudo sujeito às adaptações próprias dessa condição. O modelo de intestino curto foi utilizado tanto para os ratos submetidos à técnica de neovascularização, quanto para os que permaneceram com a vascularização anatômica do intestino e foi controlado pela comparação com grupo não submetido à ressecção intestinal.

Para a confecção do intestino curto, foi realizada ressecção de 90% do intestino delgado. Modelos com ressecções intestinais extensas vêm sendo empregados por diversos autores no estudo das adaptações intestinais na síndrome do intestino curto (EIZAGUIRRE e col., 1999 e SUKHOTNIK, SHILONI, MOGILNER, LURIE, HIRSH, CORAN E KRAUSZ, 2005-b). A extensão da ressecção realizada, além de criar uma situação extrema de intestino curto, permitiu que todo o jejuno remanescente pudesse ser submetido à neovascularização. Portanto, os ratos dos grupos IC e ICOE permaneceram com o duodeno e oito centímetros de jejuno (não neovascularizado e neovascularizado, respectivamente) até a anastomose com o último centímetro de íleo terminal, proximal ao piloro ileocecal, além do intestino grosso. Como a absorção da d-xilose ocorre no duodeno e no jejuno proximal, a neovascularização realizada neste nível é adequada para comparação da capacidade absorptiva entre os grupos.

A escolha do grande omento como fonte vascular para neovascularização intestinal foi feita levando-se em consideração as vantagens técnicas da sua utilização, já apontadas na literatura. As principais são os fatos de ser o grande omento facilmente acessível, de apresentar grande mobilidade, de ser um tecido muito vascularizado e propenso à adesão a superfícies cruentas, de permitir relativa facilidade técnica no tempo de fixação ao intestino e, sobretudo, de não se tratar de tecido vital com risco de lesão mais grave. (SHOSHANY e col. 1994-b e 1995-a; ROCHA e col., 2003).

A técnica de omentoenteropexia seguiu o protocolo já utilizado anteriormente por ROCHA e col. (2002 e 2003), que se mostrou eficaz na manutenção da viabilidade intestinal. Os autores citados acima empregaram um segmento de jejuno neovascularizado de seis centímetros e, para garantir sua completa desconexão vascular, realizaram anastomoses proximal e distal ao segmento em estudo. A neovascularização por omentoenteropexia, nesse caso, forneceu o suprimento sanguíneo que manteve o intestino viável. No presente estudo, preferiu-se um segmento intestinal neovascularizado mais longo, com oito centímetros. Este acréscimo foi realizado com o intuito de eliminar a anastomose proximal ao segmento estudado e tornar o procedimento cirúrgico mais rápido e melhor tolerado. Embora não tenha sido realizada desconexão vascular completa, uma vez que não houve secção da parede intestinal proximal ao segmento estudado, a viabilidade do intestino neovascularizado permaneceu dependente da omentoenteropexia. Considerando que a vascularização mesentérica foi ligada, o fluxo sanguíneo proveniente da própria parede intestinal é

insuficiente para a preservação do jejuno neovascularizado. A perda de um animal por necrose intestinal, no qual houve falha da fixação da omentoenteropexia, corrobora esse fato.

O intervalo entre a primeira operação (confecção do modelo de intestino curto e neovascularização) e a segunda operação (ligadura do mesentério nos ratos do grupo neovascularizado), foi fixado como quatro semanas. Neste período espera-se a neoformação vascular para o estabelecimento da neovascularização. Em modelos de neovascularização intestinal comparáveis, são relatados intervalos variáveis até a ligadura dos vasos mesentéricos. GÜNEL, TAVII, ÇAĞLAYAN, e GÜNDOĞAN (1997) utilizaram intervalo de quatro semanas. Outros autores estabeleceram este intervalo em até oito semanas (JAUME e col. 1987; KIMURA e SOPER, 1990; SHOSHANY e col. 1994-a, 1994-b e 1995-a).

No presente estudo houve perda de um único animal por necrose intestinal. A necrose intestinal foi considerada como falha técnica por má fixação da omentoenteropexia e não como intervalo insuficiente para o estabelecimento da neovascularização. Nos demais animais o intestino encontrava-se viável e a fixação da omentoenteropexia estava adequada. Portanto, o período de quatro semanas para que ocorresse a neovascularização foi considerado suficiente.

O intervalo entre a segunda operação e o teste da d-xilose variou de 17 a 22 dias, de forma a permitir a completa recuperação dos animais após a segunda operação. A realização do teste da d-xilose em datas dentro de um período para cada grupo foi necessária por razões técnicas. A eutanásia foi realizada seis dias depois do teste da d-xilose, sendo feita a última anotação dos pesos após a retirada dos animais das gaiolas metabólicas e completando o período de estudo que variou de sete semanas e dois dias a oito semanas.

O emprego do teste de absorção da d-xilose para a avaliação da capacidade absorptiva intestinal foi definido com base na revisão da literatura disponível. O objetivo foi usar uma prova para avaliação funcional da alça neovascularizada, uma vez que, do ponto de vista morfológico, estudos anteriores já haviam demonstrado a viabilidade desse modelo. O teste de absorção da d-xilose, além de ser empregado na prática clínica, vem sendo amplamente utilizado em estudos que avaliam terapêutica para a SIC em humanos (BONNARD, STAUB, SEGURA, MALBEZIN, DORGERET, AIGRAIN e LAGAUSIE, 2005), e em protocolos animais (CHANG, JAVID, OH, ANDREOLI, KIM, FAUZA e JAKSIC, 2006). Também em ratos, diversos são os estudos que empregam o teste, tanto em protocolos de avaliação de malabsorção (SINGH e col., 1991; HAYASHI e col., 2000; WAYHS e col., 2004), quanto na

SIC (SAWCHUK, GOTO, YOUNT, LOHMULLER, GROSFELD e GROSFELD, 1987). Do ponto de vista técnico, sua execução em experimentos com ratos pode ser considerada relativamente simples e precisa, seguindo os mesmos princípios do teste em humanos.

Além da avaliação funcional comparativa do intestino, este estudo se propôs a verificar as alterações histológicas adaptativas presentes no jejuno neovascularizado ou não, na condição de intestino curto. A avaliação foi focada na mucosa. Conforme apresentado previamente, dentre as técnicas disponíveis para avaliação da adaptação intestinal após grandes ressecções, a aferição da altura das vilosidades intestinais e da profundidade das criptas é considerada um método simples e satisfatório de fazer esta estimativa, embora apresente a limitação de avaliar a mucosa apenas de forma bidimensional. Outros estudos com objetivos semelhantes empregaram este método (WAYHS e col., 2004; RIBEIRO e col., 2004 e SUKHOTNIK e col., 2005-a e 2005-b).

A marcação imuno-histoquímica específica teve por objetivo quantificar a atividade proliferativa na mucosa, o que é também um índice da adaptação intestinal. O emprego do PCNA como marcador de atividade proliferativa foi definido, para este estudo, por ser um método bem estabelecido para avaliação da mucosa intestinal de roedores (WAITZBERG e col., 1999). O protocolo de marcação por imuno-histoquímica foi padronizado após estudo piloto, no qual o PCNA apresentou impregnação adequada das células das criptas da mucosa no modelo animal utilizado.

Do resultado.

A mortalidade observada no presente estudo foi considerada dentro de um limite aceitável. As operações realizadas nos animais dos grupos IC e ICOE foram de grande porte, provocando grande estresse pós-operatório, apesar de todos os cuidados tomados para a redução da manipulação e do tempo cirúrgico. Somado a isso, a própria SIC determina a desnutrição e uma situação clínica de grande vulnerabilidade, o que por si pode justificar a ocorrência de mortalidade.

Dentre os 46 animais que participaram do estudo, oito morreram (17,4%). Dois animais morreram no pós-operatório imediato da primeira operação em decorrência de depressão respiratória pós-anestésica. O terceiro animal morreu após a ligadura dos vasos do mesentério (era do grupo ICOE). Neste, foi detectada falha de fixação da omentoenteropexia

com necrose do intestino delgado. A detecção de necrose intestinal e falha de fixação da omentoenteropexia é um dado a favor de que a viabilidade intestinal dependeu da neovascularização no grupo ICOE. Com exceção do animal no qual houve falha técnica da omentoenteropexia, esta não esteve diretamente relacionada com os outros óbitos.

Nos demais cinco animais, que eram dos grupos IC e ICOE, o óbito foi associado à desnutrição, relacionada à síndrome do intestino curto. Nesses ratos, foi observada grande dificuldade de ganho ponderal e presença de diarreia, mesmo após o período de adaptação intestinal, estimado em duas semanas após a ressecção intestinal, o que corroborou o diagnóstico. Os óbitos foram igualmente distribuídos nos grupos IC (três) e ICOE (dois), o que os relaciona à síndrome do intestino curto, e não à neovascularização. Às necropsias desses animais, o intestino delgado era de aspecto normal, isto é, viável, sendo descartadas complicações cirúrgicas. Nos três animais do grupo ICOE, a região da omentoenteropexia apresentava-se bem fixada.

No modelo utilizado, o intestino residual correspondeu a oito centímetros de jejuno e a um centímetro de íleo, além do intestino grosso. Sabe-se que a adaptação jejunal em situações de intestino curto é menos favorável do que a adaptação ileal. (THOMPSON e col., 2000-a e 2000-b; NAKASHIMA, MASUMOTO, TAKADA, TAGUCHI e SUITA, 2004 e RIBEIRO e col., 2004). É provável que o jejuno remanescente, menos adaptado do que o relatado em estudos semelhantes nos quais permanece o íleo após a ressecção intestinal, tenha favorecido a ocorrência de diarreia e desnutrição, contribuindo para a mortalidade observada nos grupos com intestino curto.

Nos 38 animais que sobreviveram não foram observadas falhas na omentoenteropexia ou complicações relativas à anastomose intestinal. Desta forma pode-se excluir a possibilidade de interferência destes fatores nos resultados obtidos. A exclusão de estenoses da anastomose foi importante uma vez que, anteriormente, evidenciou-se a ocorrência de hipertrofia e hiperplasia da musculatura intestinal proximal a estenose (GABELLA, 1975; BARBOSA e TAFURI, 1983; JOHANSSON, 1984).

Os três grupos apresentaram distribuição homogênea e similar dos ratos quanto ao peso inicial. Os animais do grupo controle apresentaram curva ponderal ascendente, com pequenas variações após a quarta e sexta semanas de estudo. Os animais dos grupos IC e ICOE apresentaram curvas ponderais muito diferentes da do grupo controle e semelhantes entre si, o que foi confirmado após a análise estatística dos dados. Em ambos os grupos a

curva demonstrou tendência à perda ponderal nos dias que se sucederam à primeira operação, seguida por recuperação e ganho ponderal em relação ao peso inicial. Uma menor perda ponderal foi observada depois da segunda operação, ocorrendo nova recuperação subsequente. Esse perfil sugere a influência do trauma cirúrgico e da enterectomia na homeostase dos animais, nos primeiros dias após a primeira operação. A ocorrência de adaptação intestinal pode ser uma justificativa para a recuperação ponderal parcial que se seguiu. Depois da segunda operação, novo trauma cirúrgico nos ratos já debilitados pela SIC, determinou novo período de perda ponderal (de menor amplitude), seguido por recuperação parcial.

Durante o período de permanência nas gaiolas metabólicas, para realização do teste de absorção da d-xilose, o comportamento dos animais do grupo IC foi de desaceleração do ganho ponderal. Já os animais dos grupos C e ICOE apresentaram perda ponderal. A permanência nas gaiolas metabólicas é um fator de estresse para os animais, o que pode justificar a modificação da curva ponderal nos três grupos.

O perfil de variação ponderal dos três grupos denota consistência dos dados. Enquanto os ratos do grupo C apresentaram significativo ganho ponderal, quando comparados os pontos inicial e final da curva (figura 11), os animais dos grupos com intestino curto apresentaram mínimo ganho ponderal (grupo IC) e perda ponderal (grupo ICOE), sem diferença estatística entre esses dois grupos. Esse resultado global é explicado pelos fatores acima expostos e sobretudo pela SIC, nos grupos IC e ICOE.

Do ponto de vista clínico, os ratos dos grupos IC e ICOE apresentaram diarreia nas duas primeiras semanas que se seguiram à realização da enterectomia. Depois desse período, houve, aparentemente, melhora da capacidade absorptiva, já que as evacuações dos ratos dos grupos de intestino curto foram de aspecto normal e ocorreu recuperação ponderal. Os ratos do grupo controle apresentaram evacuações normais durante todo o estudo.

A semelhança clínica e estatística da evolução ponderal dos ratos dos grupos IC e ICOE sugere que a neovascularização intestinal por omentoenteropexia não tenha influenciado negativamente a capacidade absorptiva nos animais do grupo ICOE em relação aos do grupo IC. Ou seja, os ratos cujos intestinos foram submetidos a neovascularização por omentoenteropexia e ligadura do mesentério tiveram comportamento clínico e ponderal semelhante aos que foram mantidos com a vascularização mesentérica intestinal.

Os resultados do teste da d-xilose demonstraram que os animais com intestino curto (grupo IC e ICOE) apresentaram capacidade absorptiva significativamente diminuída em relação aos animais não submetidos à enterectomia (grupo C), o que é esperado e bem estabelecido para a SIC. Os resultados foram semelhantes tanto para os valores de concentração de d-xilose na urina, quanto para os de massa de d-xilose absorvida, que é calculada corrigindo-se o primeiro valor de acordo com o peso do animal e o volume de urina produzido durante o teste.

O comportamento semelhante dos grupos IC e ICOE quanto à absorção da d-xilose sugere que a neovascularização por omentoenteropexia não tenha influenciado a capacidade absorptiva. Ou seja, ratos cujos intestinos foram neovascularizados pelo grande omento e cujos mesentérios foram ligados, tiveram capacidade absorptiva semelhante àqueles que mantiveram a vascularização intestinal anatômica. Este achado é consistente com o relatado por SHOSHANY e col. (1995-a), que observaram absorção de glicose e glicina em segmentos intestinais isolados e neovascularizados por omentoenteropexia comparável ao intestino com vascularização anatômica.

Quando avaliados paralelamente às curvas de evolução ponderal, os resultados dos testes de absorção de d-xilose também apresentam consistência. Os animais com intestino curto apresentaram menor ganho ponderal ao longo do estudo e valores significativamente inferiores de capacidade absorptiva, não havendo diferença entre os grupos IC e ICOE.

Os estudos morfométrico e imuno-histoquímico da mucosa jejunal foram realizados para avaliação da adaptação intestinal em ratos com SIC e vascularização intestinal anatômica ou submetidos à omentoenteropexia. As condições particulares deste estudo, que foram consideradas nessa avaliação, são: a realização de enterectomia subtotal nos grupos de estudo (90% do intestino delgado), a permanência apenas do jejuno proximal como intestino remanescente e o longo período de tempo do estudo até a eutanásia.

Quanto à avaliação morfométrica, o aumento significativo da altura das vilosidades e profundidade das criptas jejunais nos grupos IC e ICOE em relação ao grupo C, foi compatível com a ocorrência de adaptação intestinal nos animais desses grupos. Dados da literatura demonstram que a hiperplasia compensatória que ocorre depois da ressecção intestinal está estabelecida a partir de duas semanas (CHAVES e col., 1987; SUKHOTNIK, YAKIREVICH, CORAN, SIPLOVICH, KRAUSZ, HIRSH, SABO e SHILONI, 2002; SUKHOTNIK e col., 2005-a e 2005-b). No presente estudo, a avaliação morfométrica foi

feita tardiamente, mas os resultados foram semelhantes, o que condiz com a persistência das alterações adaptativas.

O aumento médio das vilosidades e criptas nos grupos submetidos à enterectomia (IC e ICOE) variou de um - quarto a um - terço de sua extensão, sendo estas variações estatisticamente significantes. Avaliações da adaptação intestinal em remanescentes jejunais e ileais após grandes enterectomias demonstraram que a capacidade adaptativa é maior para o íleo, que pode aumentar sua superfície de absorção em até três vezes (CHAVES e col., 1987). No jejuno, a mucosa é mais espessa e as alterações morfométricas são mais discretas. A proporção do aumento da espessura da mucosa jejunal observada nesse estudo é comparável ao que é relatado na literatura, em estudos nos quais a avaliação foi feita precocemente, duas a três semanas após a enterectomia (CHAVES e col., 1987; SUKHOTNIK e col., 2005-a e 2005-b).

A resposta adaptativa após um estímulo potente como a enterectomia, depende em grande parte da extensão do intestino residual. IGLESIAS e ZUCOLOTO (1994) apontaram mecanismos de controle da adaptação intestinal: fatores luminais (nutrientes e secreções digestivas), fatores humorais como mediadores endócrinos e parácrinos, moléculas da matriz extracelular e mecanismos celulares. WILMORE (1999) analisando a resposta adaptativa, sugeriu que a SIC possa determinar uma insuficiência na produção de hormônios produzidos pelo próprio intestino, na medida da perda intestinal, o que comprometeria a capacidade de adaptação. É possível que após uma enterectomia de 90% do intestino delgado, como a realizada neste estudo, a resposta adaptativa observada tenha sido limitada também pela pequena extensão do intestino remanescente.

No grupo IC foi observado aumento significativo da altura das vilosidades em relação ao grupo ICOE, enquanto que no grupo ICOE houve aumento significativo na profundidade das criptas da mucosa jejunal em relação ao grupo IC. Atribui-se esse achado provavelmente ao tamanho da amostra empregada, já que, na adaptação intestinal, o aumento das vilosidades e da profundidade das criptas intestinais são concomitantes.

ROCHA e col. (2003) observaram aumento da altura das vilosidades e da profundidade das criptas da mucosa jejunal de segmentos neovascularizados por omentoenteropexia em ratos não submetidos à condição de intestino curto. Retenção linfática e alterações da inervação e vascularização local foram hipóteses levantadas pelos autores para explicar este achado. No presente estudo, o aumento de vilosidades e criptas do grupo ICOE

foi interpretado como provável mecanismo de adaptação intestinal, a semelhança do que ocorreu com o grupo IC. Entretanto a influência de fatores decorrentes da neovascularização não pode ser descartada.

O estudo imuno-histoquímico da mucosa jejunal não revelou diferença estatística significativa entre os ratos do grupo C, IC e ICOE quanto à percentagem de células da cripta encontradas na fase proliferativa. Considerando o perfil de adaptação intestinal de ratos depois da realização de grandes enterectomias, o processo se inicia tão precocemente quanto em 24 horas e ocorre nas primeiras duas semanas de pós-operatório, de forma que após este período as alterações adaptativas fundamentais já se completaram (WELTERS, DEJONG, DEUTZ e HEINEMAN, 2001; SUKHOTNIK e col., 2005-a e 2005-b). No presente estudo, o intervalo total entre a primeira operação e a eutanásia variou entre sete semanas e dois dias e oito semanas. No momento da retirada das peças, os animais dos grupos submetidos à enterectomia já haviam passado do período mais crítico de adaptação intestinal. Este fato pode justificar que a atividade proliferativa da mucosa jejunal encontrada nos grupos IC e ICOE não tenha sido significativamente maior do que a encontrada no grupo C.

7. CONCLUSÃO

Nas condições em que foi realizado o presente estudo, o segmento jejunal neovascularizado por omentoenteropexia apresentou:

1. capacidade absorptiva semelhante a do segmento jejunal com vascularização anatômica, em ratos com intestino curto;
2. parâmetros morfométricos da mucosa compatível com a ocorrência de adaptação intestinal;
3. padrão de atividade proliferativa nas criptas da mucosa semelhante a do jejuno do grupo-controle e do segmento jejunal não neovascularizado em ratos com intestino curto.

8. REFERÊNCIAS

- ALBO, R. J.; ANGOTTI, D.; SORENSEN, D.; MICHAELS, T. A. – Value of selective and truncal vagotomy in massive bowel resection. *Am J Surg*, 128(2):234-42, 1974.
- BALLINGER, W. F.; CHRISTY, M. G.; ASHBY, W. B. – Autotransplantation of the small intestine: the effect of denervation. *Surgery*, 52(1):151-64, 1962.
- BARBOSA, A. J. A. & TAFURI, W. L. – Ganglion cell number in the hypertrophic colon above experimental stenosis. *Brazilian J Med Bio. Res*, 16:165-9, 1983.
- BARKSDALE, E.M.; STANFORD, A. – The surgical management of short bowel syndrome. *Curr Gastroenterol Rep*, 4(3):229-37, 2002.
- BENSON, J.A. Jr.; CULVER, P.J.; RAGLAND, S.; JONES, C.M.; DRUMMEY, G.D.; BOUGAS, E. – The d-xylose absorption test in malabsorption syndromes. *N Engl J Med*, 256(8):335-9, 1957.
- BIANCHI, A. – Intestinal loop lengthening – a technique for increasing small intestinal length. *J Pediatr Surg*, 15(2):145-55, 1980.
- BIANCHI, A. – Longitudinal intestinal lengthening and tailoring: results in 20 children. *J R Soc Med*, 90(8):429-32, 1997.
- BIANCHI, A. – From the cradle to enteral autonomy: the role of autologous gastrointestinal reconstruction. *Gastroenterology*, 130 (Supl.1):138-46, 2006.
- BOND, G.J.; MAZARIEGOS, G.V.; SINDHI, R.; ABU-ELMAGD, K.M.; REYES, J. – Evolutionary experience with immunosuppression in pediatric intestinal transplantation. *J Pediatr Surg*, 40(1):274-9, 2005.
- BONNARD, A.; STAUB, G.; SEGURA, J-F.; MALBEZIN, S.; DORGERET, S.; AIGRAIN, Y.; LAGOUSIE, P. - Evaluation of intestinal absorption after longitudinal lengthening for short bowel syndrome. *J Pediatr Surg*, 40:1587-91, 2005.
- CARTER, D. C.; JENKINS, H. R.; WHITFIELD, H. N. – *Br J Surg*, 59(2):129-33, 1972.
- CARTIER, R.; BRUNETTE, I.; HASHIMOTO, K.; BOURNE, W. M.; SCHAFF, H. V. – Angiogenic factor: a possible mechanism for neovascularization produced by omental pedicles. *J Thorac Cardiovasc Surg*, 99:264-8, 1990.
- CHANG, R.W.; JAVID, P.J.; OH, J.T.; ANDREOLI, S.; KIM, H.B.; FAUZA, D.; JAKSIC, T. - Serial transverse enteroplasty enhances intestinal function in a model of short bowel syndrome. *Ann Surg*, 243(2):223-8, 2006.

- CHAVES, M.; SMITH, M.W.; WILLIAMSON, C.N. – Increased activity of digestive enzymes in ileal enterocytes adapting to proximal small bowel resection. *Gut*, 28:981-7, 1987.
- CHEN, Y.; ZHANG, J; OU, R.; WANG, J.; XIE, Y. – An animal experiment on short gut lengthening. *Chin Med J (Engl.)*, 110(5):354-7, 1997.
- CISLER, J.J. & BUCHMAN, A.L. – Intestinal adaptation in short bowel syndrome. *J Investig Med*, 53(8):402-13, 2005. e NGUYEN
- COLLINS, J.III.; VICENTE, Y.; GEORGESON, K.; KELLY, D. – Partial intestinal obstruction induces substantial mucosa proliferation in pig. *J Pediatr Surg*, 31(3):415-9, 1996.
- CONOVER, W. J. – *Practical nonparametric statistics*. 2ed. New York, John Wiley & Sons, 1980. p. 216-356.
- CUKIER, C.; WAITZBERG, D. L.; BORGES, V. C.; SILVA, M. L. T., GAMA-RODRIGUES, J.; PINOTTI H, W. – Clinical use of growth hormone and glutamine in short bowel syndrome. *Rev Hosp Clín Fac Med S Paulo*, 54(1):29-34, 1999.
- EIZAGUIRRE, I.; ALDAZABAL, P.; BARRENA, M. J.; GARCIA-ARENZANA, J. M.; ARIZ, C.; CANDELAS, S.; TOVAR, J.A. – Effect of growth hormone on bacterial translocation in experimental short-bowel syndrome. *Pediatr Surg Int* 15:160-3, 1999.
- EIZAGUIRRE, I.; ALDAZABAL, P.; BARRENA, M. J.; GARCIA-ARENZANA, J. M.; ARIZ, C.; CANDELAS, S.; TOVAR, J.A. – Effect of growth hormone, epidermal growth factor and insulin on bacterial translocation in experimental short-bowel syndrome. *J Pediatr Surg*, 35:692-5, 2000.
- FAGUNDES, D. J.; PLAPLER, H.; GOLDENBERG, S.; NOVO, N. F.; JULIANO, Y. – Método para a medida da absorção da glicose por segmentos isolados de jejuno, íleo e colo distal in vivo. Estudo experimental em ratas. *Acta Cir Bras*, 4(4):130-8, 1989.
- FIGUEROA-COLON, R.; HARRIS, P. R., BIRDSONG, E.; FRANKLIN, F. A.; GEORGESON, K. – Impact of intestinal lengthening on the nutritional outcome for children with short bowel syndrome. *J Pediatr Surg*, 31(7):912-6, 1996.
- FISHBERG, E.H. & FRIEDFELD, L. – The excretion of xilose as an index of damaged renal function. *J Clin Invest*, 11(3):501-12, 1932.
- FINK, W. J. & OLSON, J. D. – The massive bowel resection syndrome. *Arch Surg*, 94:700-6, 1967.
- FIGURE, N.F.; LEDNICZKY, G.; LU, Q.; ORAZI, A.; DU, X.; WILLIAMS, P.A.; GROSFELD, J.L. – Comparison of interleukin-11 and epidermal growth factor on residual small intestine after massive small bowel resection. *J Pediatr Surg*, 33(1):24-9, 1998.

- FISHBEIN, T.M. & MATSUMOTO, C.S. – Intestinal replacement therapy: timing and indications for referral of patients to an intestinal rehabilitation and transplant program. *Gastroenterology*, 130(2 Suppl1):S147-51, 2006.
- FOLKMAN, J. & KLAGSBRUN, M. – Angiogenic factors. *Science*, 235:442-7, 1987.
- FREEMAN, L. – The use of free omental grafts in abdominal surgery. *Ann Surg*, 63:83-7, 1916.
- GABELLA, G. – Hypertrophy of intestinal smooth muscle. *Cell Tissue Res*, 163:199-214, 1975.
- GATON, E.; CZERNOBILSK, B.; KRAUS, L.; MOTOVIC, A.; GLAS, I.; TAUB, Y.; MAN, B. – The neomucosa and its surroundings after jejunoserosal patching in dogs. *J Surg Res*, 29(5):451-65, 1980.
- GEORGESON, K.; HALPIN, D.; FIGUEROA, R.; VICENTE, Y.; HARDIN, W.JR. – Sequential intestinal lengthening procedures for refractory short bowel syndrome. *J Pediatr Surg*, 29(2):316-21, 1994.
- GOODHART, J.M. & KINGSTON, G.R. – Technical methods: Modification of the method for the estimation of xylose in urine. *J Clin Path*, 22:621-2, 1969.
- GOLDSMITH, H. S.; CHEN, W.; DUCKETT, S. W. – Brain vascularization by intact omentum. *Arch Surg*, 106:695-8, 1973.
- GOLDSMITH, H. S. – Protection of low rectal anastomosis with intact omentum. *Surg Gynecol Obstetr*, 144:585-6, 1977.
- GOLDSMITH, H. S. – Salvage of end stage ischemic extremities by intact omentum. *Surgery*, 88(5):732-6, 1980.
- GÜNEL, E.; TAVII, L.; ÇAĞLAYAN, F.; GÜNDOĞAN, A.H. – Isolated bowel segment created by omentopexy: histologic findings. *Pediatr Surg Int*, 12:364-6, 1997.
- HAYASHI, M.; HIROSE, H.; SENGA, S; ONITSUKA, A.; FUWA, S.; MORI, Y.; YAMADA, T. – Effect of portal hypertension caused by chronic high venous pressure on small-intestinal sugar absorption. *Nutrition*, 16(1):30-3, 2000.
- HELMER, O.M. & FOUTS, P.J. – Gastro-intestinal studies.VII. The excretion of xylose in pernicious anemia. *J Clin Invest*, 16(3):343-9, 1937.
- IENAGA, T.; KIMURA, K.; HASHIMOTO, K.; LEE, S.C.; BRASKSTAD, M.; SOPER, R. – Isolated bowel segment (Iowa model 1). *J Pediatr Surg*, 25(8):902-4, 1990.

- IGLESIAS, A.C.R.G. ; SILVA Jr., O.C. ; ZUCOLOTO, S. – Modelos experimentais para estudo da adaptação intestinal: métodos de avaliação da adaptação intestinal. In: SILVA Jr., O.C.; ZUCOLOTO, S.; BEER Jr., A. – *Modelos experimentais de pesquisa em cirurgia*. São Paulo, Robe Editora, 1998. p. 389-404
- IGLESIAS, A.C.R.G. & ZUCOLOTO, S. – Proliferação celular do epitélio intestinal: mecanismos de adaptação e controle após ressecção extensa do intestino delgado. *Medicina, Ribeirão Preto* 27(3/4):303-9, 1994.
- IMAIZUMI, T.; HASHI, K.; KANO, H. – Non-heparin-binding endothelial cell growth factor from bovine omentum. *Exp Cell Res*, 187:292-8, 1990.
- JAUME, J.; KIMURA, K.; RATNER, L.; WILKINS, S.; DIETZEK, A.; STEIN, T.A. – Functional studies in an isolated bowel segment. *Clin Res*, 35(5): 797A, 1987.
- JOHANNSON, B. – Different types of smooth muscle hypertrophy. *Hypertension Dallas*, 6(Suppl.3): 64-8, 1984.
- KATSIKAS, D.; SECHAS, M.; ANTYPAS, G.; FLOUDAS, P.; MOSHOVOS, K.; GOGAS, J.; RIGAS, A.; PAPACHARALAMBOUS, N.; SKALKEAS, G. – Beneficial effect of omental wrapping of unsafe intestinal anastomoses. *Int Surg*, 62(8): 435-7, 1977.
- KERSTELL, J. – A simplified method for the determination of xylose in urine. *Scandinav. J Clin Lab Invest*, 13:637-41, 1961.
- KIM, H.B.; FAUZA, D.; GARZA, J.; OH, J.; NURKO, S.; JAKSIC, T. - Serial transverse enteroplasty (STEP): a novel bowel lengthening procedure. *J Pediatr Surg*, 38(3):425-9, 2003.
- KIM, H.B.; LEE, P.W.; GARZA, J.; DUGGAN, C.; FAUZA, D.; JAKSIC, T. – Serial transverse enteroplasty for short-bowel syndrome: a case report. *J Pediatr Surg*, 38(6):881-5, 2003.
- KIMURA, K. & SOPER, R. T. – Isolated bowel segment (model 1): creation by myoenteropexy. *J Pediatr Surg*, 25(5):512-3, 1990.
- KIMURA, K. & SOPER, R. T. – A new bowel elongation technique for the short-bowel syndrome using the isolated bowel segment Iowa models. *J Pediatr Surg*, 28(6):792-4, 1993.
- KVIETYS, P.R. – Intestinal Physiology relevant to short-bowel syndrome. *Eur J Pediatr Surg*, 9:196-9, 1999.
- LIEBERMANN-MEFFERT, D. – The greater omentum. Anatomy, embryology, and surgical applications. *Surg Clin North Am* 80(1):275-93, 2000.

- LILLEHEI, R. C.; GOOTT, B.; MILLER, A. V. – The physiologic response of small bowel of the dog to ischemia including prolonged in vitro preservation of the small bowel with successful replacement and survival. *Ann Surg*, 150:543-60, 1959.
- LONGMIRE, W. P. & RAVITCH, M. M. – A new method for constructing an artificial esophagus. *Ann Surg*, 123(5):819-35, 1946.
- LOPEZ-PEREZ, G. A.; MARTINEZ, A. J.; MACHUCA, J.; LOPEZ, S.; UNDA A.; RODRIGUEZ, M.; MIGUELEZ, C. – Experimental antireflux intestinal valve. *Am J Surg*, 141(5):597-600, 1981.
- MIYACHI, K.; FRITZLER, M. J.; TAN, E. M. -Autoantibody to a nuclear antigen in proliferating cells. *J Immunol*, 121 (6):2228-34, 1978.
- NGUYEN, B.L.; THOMPSON, J.S.; QUIGLEY, E.M. – Effect of extent of resection on intestinal muscle adaptation. *J Surg Res*, 61(1): 147-51, 1996.
- NAKASHIMA, Y.; MASUMOTO, K.; TAKADA, N.; TAGUCHI, T.; SUITA, S. - A study of the difference in intestinal adaptation between the residual jejunum and the ileum in rats with short bowel syndrome. *Fukuoka Igaku Zasshi*, 95(7):167-72, 2004.
- PARK, J.; PUAPONG, D.P.; WU, B.M.; ATKINSON, J.B.; DUNN, C.Y.- Enterogenesis by mechanical lengthening: morphology and function of the lengthened small intestine. *J Pediatr Surg*, 39(12):1823-7, 2004.
- PIGOT, F.; MESSING, B.; CHAUSSADE, S.; PFEIFFER, A.; POULIQUEN, X.; JIAN, R. – Severe short bowel syndrome with surgically reversed small bowel segment. *Dig Dis Sci*, 35(1):137-44, 1990.
- PLAPLER, H.; FAGUNDES, D. J.; GOLDENBERG, S.; NOVO, N. F.; JULIANO, Y.; BEKHOR, D. – Absorção de glicose por um segmento de colo distal interposto entre cotos de intestino delgado após ressecção de 80% do jejuno-íleo. Estudo experimental em ratas. *Acta Cir Bras*, 5(4): 154-9, 1990-b.
- REYES, J.; BUENO, J.; KOCOSHIS, S.; GREEN, M.; ABU-ELMAGD, K.; FURUKAWA, H.; BARKSDALE, E. M.; STROM, S.; FUNG, J. J.; TODO, S.; IRISH, W.; STARZL, T. E. – Current status of intestinal transplantation in children. *J Pediatr Surg*, 33(2):243-54, 1998.
- REYES, J.; MAZARIEGOS, G.V.; BOND, G.M.; GREEN, M.; DVORCHIK, I.; KOSMACH-PARK, B.; ABU-ELMAGD, K. – Pediatric intestinal transplantation: historical notes, principles and controversies. *Pediatr Transplant*, 6(3):193-207, 2002.
- RIBEIRO, S. R.; PINTO Jr., P.E.; MIRANDA, A.C.; BROMBERG, S.H.; LOPASSO, F.P.; IRYA, K. – Weight loss and morphometric study of intestinal mucosa in rats after massive intestinal resection. Influence of a glutamine-enriched diet. *Rev Hosp Clin Fac Med S Paulo*, 59(6):349-56, 2004.

- ROBINSON, M.K.; ZIEGLER, T.R.; WILMORE, D.W. – Overview of intestinal adaptation and its stimulation. *Eur J Pediatr Surg*, 9:200-6, 1999
- ROCHA, M.M.B.; MARTINS, J.L.; PATRÍCIO, F. - Histological and immunohistochemical study of a jejunal segment undergoing neovascularization by omentopexy. *Transplant Proc*, 34:990-2, 2002-a.
- ROCHA, M.M.B.; MARTINS, J.L.; TUBINO, P.; BISCHOFF, A. - Viability of a jejunal segment after neovascularization by omentoenteropexy. *Acta Cir Bras*, 17(6):377-80, 2002-b.
- ROCHA, M.M.B.; MARTINS, J.L.; PATRÍCIO, F.; TUBINO, P.- Are there any structural alterations in a neovascularized jejunal segment by omentoenteropexy ? A histologic and immunohistochemistry study. *J Pediatr Surg*, 38(8):1141-6, 2003.
- ROE, J. H. & RICE, E.W. – A photometric method for the determination of free pentoses in animal tissue. *J Biol Chem*, 173:507, 1948.
- ROLSTON, D.D. & MATHAN, V.I. – Xylose transport in the human jejunum. *Dig Dis Sci*, 34(4):553-8, 1989.
- RUBIN, I. C. – The functions of great omentum. *Surg Gynecol Obstet*, 12:117-31, 1911.
- SAWCHUK, A.; GOTO, S.; YOUNT, J.; LOHMULLER, J.; GROSFELD, J.A.; GROSFELD, J.L. - Chemically induced bowel denervation improves survival in short bowel syndrome. *J Pediatr Surg*, 22(6):492-6, 1987.
- SHOSHANY, G.; HAR-SHAI, Y.; RAMON, I.; BAR-MAOR, J.; KIMURA, K. – The isolated bowel segment: angiographic visualization of the developing vascularity. *Pediatr Surg Int*, 9:261-3, 1994-a.
- SHOSHANY, G.; COHEN, E.; MORDOHOVICH, D.; HAYARI, L.; HAR-SHAI, Y.; BAR-MAOR, J. – Creation of the isolated bowel segment in animals by omentoenteropexy. *J Pediatr Surg*, 29(10):1344-7, 1994-b.
- SHOSHANY, G.; DIAMOND, E.; MORDOHOVICH, D.; BAR-MAOR, J. A. – Jejunal mucosal function of the isolated bowel segment created by omentoenteropexy in dogs: a study by in situ luminal perfusion. *J Pediatr Surg*, 30(3):402-5, 1995-a.
- SHOSHANY, G.; MORDOHOVICH, D.; LICHTIG, H.; BAR-MAOR, J. A. – Preserved viability of the isolated bowel segment created by omentopexy: a histological observation. *J Pediatr Surg*, 30(9):1291-3, 1995-b.
- SINGH, G.; CHAUDRY, K.I.; CHUDLER, L.C.; O'NEILL, P.J.; CHAUDRY, I.H. – Measurement of d-xylose gut absorptive capacity in conscious rats. *Am J Physiol*, 261:R1313-20, 1991.

- SIMÕES, J. C.; ANDRADE, D. A. S.; LOUREIRO, A. L. R. S.; CECCATO, V. P.; CARDOSO, M. B.; SANTIS, P. M. B. – Uso de retalho axial de parede abdominal para crescimento de neomucosa do intestino delgado. Estudo experimental em ratos. *Ver Méd Paraná*, 52(3/4):12-4, 1995.
- SÖNMEZ, K.; BAŞAKLAR, Z.; TÜRKYILMAZ, Z.; DEMIROĞULLARI, B.; NUMANOĞLU, V.; KONUS, Ö.; DURSUN, A.; ALTIN, M. A.; KALE, N. – Neovascularization of the testicle through spermatic vessels by omental pedicle flap: a new experimental model. *J Pediatr Surg*, 30(12): 1654-7, 1995.
- SUKHOTNIK, I.; YAKIREVICH, E.; CORAN, A.G.; SIPLOVICH, L.; KRAUSZ, M.; HIRSH, M.; SABO, D.; SHILONI, E. – Effect of transforming growth factor- α on intestinal adaptation in a rat model of short bowel syndrome. *J Surg Res*, 108:235-42, 2002.
- SUKHOTNIK, I.; MOGILNER, J.; SHAMIR, R.; SHEHADEH, N.; BEJAR, J.; HIRSH, M.; CORAN, A.G. – Effect of subcutaneous insulin on intestinal adaptation in a rat model of short bowel syndrome. *Pediatr Surg Int*, 21:132-7, 2005-a.
- SUKHOTNIK, I.; SHILONI, E.; MOGILNER, J.; LURIE, M.; HIRSH, M.; CORAN, A.G.; KRAUSZ, M.M. – Effect of sex and sex hormones on structural intestinal adaptation after massive small bowel resection in rats. *J Pediatr Surg*, 40:489-95, 2005b.
- TAHA, M. O. – Avaliação da musculatura longitudinal do segmento de colon distal interposto após ressecção extensa de jejuno-íleo de rato. São Paulo, 1996. 82p. (Tese – Doutorado - Universidade Federal de São Paulo).
- THOMPSON, J.S.; QUIGLEY, E.M.; ADRIAN, T.E. – Factors affecting outcome following proximal and distal intestinal resection in the dog. An examination of the relative roles of mucosal adaptation, motility, luminal factors, and enteric peptides. *Dig Dis Sci*, 44(1):63-74, 1996.
- THOMPSON, J.S. & FERGUSON, D.C. – Effect of the distal remnant on ileal adaptation. *J Gastrointest Surg*, 4(4):430-4, 2000-a.
- THOMPSON, J.S.; PINCH, L.W.; YOUNG, R.; VANDERHOOF, J.A. – Long-term outcome of intestinal lengthening. *Transplant Proc*, 32(6):1242-3, 2000-b.
- TILSON, M. D. – Pathophysiology and treatment of short bowel syndrome. *Surg Clin North Am*, 60(5):1273-84, 1980.
- TISINAI, K.; SHEDD, F.; HARRIS, R.; UNTHANK, J.; GROSFELD, J.; ABU-DALU, K. e GROSFELD, J. – Comparison of growth, neovascularization, and enzymatic function of fetal intestinal grafts in the omentum and renal capsule. *J Pediatr Surg*, 25(8):914-6, 1990.
- VANDERHOOF, J.A. & LANGNAS, A.N. – Short-bowel syndrome in children and adults. *Gastroenterology*, 113(5):1767-78, 1997.

- VIEIRA, S. – *Introdução à bioestatística*. 3.ed. Rio de Janeiro, Campus. 1991. 203p.
- WAITZBERG, D.L.; CUKIER, C.; MUCERINO, D.R.; LOGULO, A. F.; TORRINHAS, R.S.M.; CASTRO, I. – Small bowel adaptation with growth hormone and glutamine after massive resection of rat's small bowel. *Nutr Hosp*, 14:81-90, 1999.
- WALKER, S.R.; NUCCI, A.; YAWORSKI, J.A.; BARKSDALE Jr., E.M.- The Bianchi procedure: a 20 year single institution experience. *J Pediatr Surg*, 41:113-9, 2006.
- WARNER, B. W. & CHAET, M. S. – Nontransplant surgical options for management of the short bowel syndrome. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*, 17(1):1-12, 1993.
- WASHIZAWA, N.; GU, L.H.; GU, L.; OPENO, K.P.; JONES, D.P.; ZIEGLER, T.R. - Comparative effects of glucagons-like peptide-2 (GLP-2), growth hormone (GH), and keratinocyte growth factor (KGF) on markers of gut adaptation after massive small bowel resection in rats. *J Parent Ent Nutr*, 28(6):399-409, 2004.
- WAYHS, M.L.C.; PATRÍCIO, F.S.R.; AMÂNCIO, O.M.S.; PEDROSO, M.Z.; FAGUNDES NETO, U.; MORAIS, M.B. – Morphological and functional alterations of the intestine of rats with iron-deficiency anemia. *Braz J Med Biol Res*, 37:1631-5, 2004.
- WEBER, T.R.; & POWELL, M.A. – Early improvement in intestinal function after isoperistaltic bowel lengthening. *J Pediatr Surg*, 31(1):61-3, 1996.
- WELTERS, C.F.M.; DEJONG, C.H.C.; DEUTZ, N. E.P.; HEINEMAN, E. – Intestinal function and metabolism in the early adaptative phase after massive small bowel resection in the rat. *J Pediatr Surg*, 36: 1746-51, 2001.
- WILMORE, D.W. – Growth factors and nutrients in the short bowel syndrome. *J Parent Ent Nutr*, 23(Suppl.):117-20, 1999.
- WONG, W.M. & WRIGHT, N. A. – Epidermal growth factor, epidermal growth factor receptors, intestinal growth, and adaptation. *J Parent Ent Nutr*, 23(Suppl.):83-8, 1999.
- YAMAZATO, M.; KIMURA, K.; YOSHINO, H.; SOPER, R. T. – The isolated bowel segment (Iowa model 2). Created in functioning bowel. *J Pediatr Surg*, 26(7):780-3, 1991.
- YOSHINO, H.; KIMURA, K.; YAMAZATO, M.; SCOTT, D.; SOPER, R.T. –The isolated bowel segment (Iowa Model II): absorption studies for glucose and leucine. *J Pediatr Surg*, 26(12):1372-75, 1991.
- ZEKRI, S.; SRAIRI, R.; BEM AMMAR, A.; JAAFOURA MOHAMED, H.; BEN MANSOUR, A. – Vitamin A effects on morphometric adaptation after extensive small bowel resection in the rat. *Tunis Med*, 82(11):1026-31, 2004.

NORMAS ADOTADAS

DeCS – *Descritores em Ciências da Saúde*. São Paulo, Bireme, 1992. 1111p.

INTERNATIONAL SERIALS DATA SYSTEM & INTERNATIONAL ORGANIZATION FOR STANDARDIZATION - *Liste d'abbreviations de mots des titres de publications en série: conforme à ISO 4 – 1984/List of serial title word abbreviations in accordance with ISSO 4 – 1984*. Paris ISDS/ISSO, 1985. 215p.

COMISSÃO DE NOMENCLATURA DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ANATOMIA – *Nomina Anatomica*. 5ed. Rio de Janeiro, MedSi, 1987. 110p.

INTERNATIONAL COMMITTEE ON VETERINARY GROSS ANATOMICAL NOMENCLATURE. *Nomina anatomica veterinária*. 3.ed. New York, Ithaca, 1983. 216p.

GOLDENBERG, S. – *Manual: orientação normativa para elaboração da tese, instruções, normas para referência bibliográfica*. São Paulo, edição particular, 1996. 38p.

RESUMO

Introdução/ Objetivo: A neovascularização intestinal por omentoenteropexia é método capaz de preservar a viabilidade intestinal, oferecendo uma alternativa técnica para o alongamento intestinal. Entretanto, a avaliação funcional deste modelo é bastante limitada até o momento. O presente estudo visa testar a capacidade absorptiva e adaptativa do segmento jejunal neovascularizado por omentoenteropexia, em ratos com intestino curto.

Método: Em estudo experimental controlado, 15 ratos foram submetidos à neovascularização de um segmento de jejuno de oito centímetros por omentopexia e à ressecção de 90% do intestino delgado com anastomose jejunoileal (grupo ICOE). Quatro semanas depois, o mesentério do jejuno neovascularizado foi ligado, permanecendo apenas o grande omento como fonte vascular. Entre 17 e 22 dias depois da segunda operação, foi realizado o teste de absorção da d-xilose, seguido pela eutanásia e retirada do jejuno, seis dias depois. Esses animais foram comparados com 14 ratos submetidos à enterectomia de 90% do intestino delgado e anastomose jejunoileal (grupo IC) e com nove ratos do grupo-controle (C). Os parâmetros avaliados foram a evolução ponderal ao longo do estudo, os resultados do teste de absorção da d-xilose, a morfometria e a análise imuno-histoquímica, nas preparações histológicas coradas com hematoxilina-eosina e marcadas pelo PCNA respectivamente. Os dados, cuja distribuição foi normal pelo teste de Kolmogorov-Smirnov, foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e ao pós-teste de Tukey. Os dados com distribuição não normal foram submetidos ao teste de Kruskal-Wallis.

Resultados: Os animais dos grupos IC e ICOE obtiveram ganho ponderal significativamente menor do que os controles. Os grupos apresentaram valores de altura das vilosidades e profundidade das criptas jejunais diferentes entre si, sendo maiores nos grupos IC e ICOE. Não houve diferença na percentagem de células das criptas marcadas pelo PCNA entre os três grupos. A avaliação morfométrica do jejuno neovascularizado sugeriu a ocorrência de adaptação intestinal, embora a avaliação imuno-histoquímica não tenha evidenciado aumento da atividade proliferativa em relação aos controles. A absorção de d-xilose foi semelhante para os grupos IC e ICOE e reduzida em relação aos controles C.

Conclusão: O segmento jejunal neovascularizado por omentoenteropexia apresentou capacidade absorptiva semelhante ao segmento jejunal com vascularização anatômica em ratos com intestino curto, assim como manteve sua capacidade adaptativa.

ABSTRACT

Background/ Purpose: Bowel neovascularization by omentoenteropexy seems to be a good technical alternative to bowel lengthening. However, this model has been object of limited functional evaluation so far. The aim of the present study is to assess the absorptive and adaptative capacity of the jejunal segment neovascularized by omentoenteropexy, in short bowel rats.

Method: In a blind controlled experimental study, 15 male Wistar rats have undergone an eight centimeters long jejunal omentopexy for neovascularization and 90% bowel resection and anastomosis (ICOE rats). After four weeks, the mesentery vessels were divided, leaving the jejunal segment supplied only by the omental pedicle. D-xylose absorption test was taken out between day 17 and 22 after the second operation. Jejunal segments were removed for histological assessment six days later. ICOE rats were compared with 14 IC rats in which 90% bowel resection and anastomosis, and sham second operation were performed, and nine twice sham operated controls (C rats). Weight evolution throughout the study, d-xylose absorption test results, morphometric parameters of jejunal mucosa and PCNA marked crypt cells rate were assessed. Statistical analysis with Kolmogorov-Smirnov, ANOVA and Tukey tests was undertaken for normal distributed data. Kruskal-Wallis test was applied for non-normal distributed data.

Results: IC and ICOE rats put on weight at a very reduced rate in comparison with controls. Morphometric essays favored the occurrence of intestinal adaptation in both short bowel groups, although slightly different parameters were encountered for IC and ICOE rats. Villus height and crypt depth parameters were different among all groups, but bigger for IC and ICOE rats. Immuno-histochemistry assessment did not show difference in mucosal proliferative activity among the groups. There was no difference for the percentage of PCNA marked crypt cells among the three groups. IC and ICOE rats presented similar and significantly diminished values of d-xylose absorption test in relation to controls.

Conclusion: These findings suggest that jejunal neovascularization by omentopexy in short bowel rats do not affect absorptive capacity. Adaptive response was preserved as well.

APÊNDICE

A análise estatística dos resultados gerou os histogramas de distribuição dos pesos dos animais estudados, a partir do início do estudo e a cada nova aferição semanal, até a data da eutanásia, assim como os histogramas de distribuição da variável “concentração de d-xilose urinária” e “d-xilose total absorvida”. Esses gráficos são apresentados a seguir, nas figuras 16 a 26.

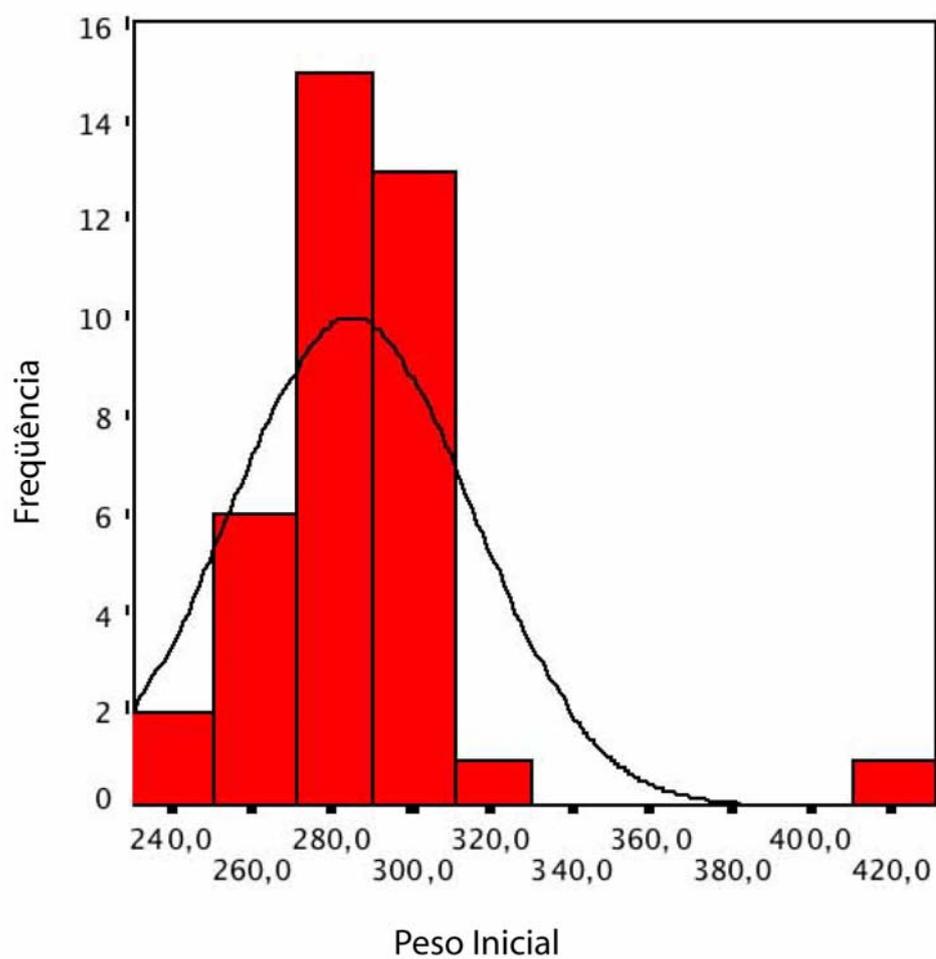


Figura 16 - Histograma da variável peso inicial com curva normal.

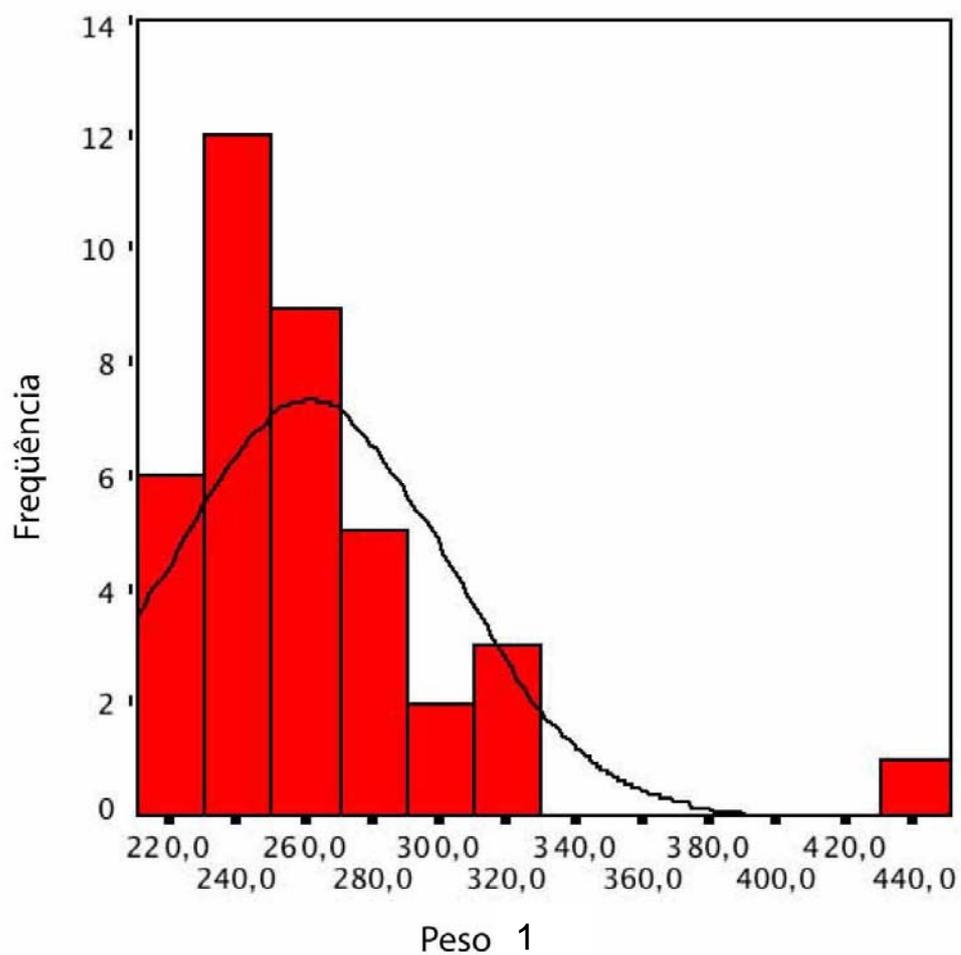


Figura 17 - Histograma da variável peso 1 (peso após uma semana desde o início do estudo) com curva normal.

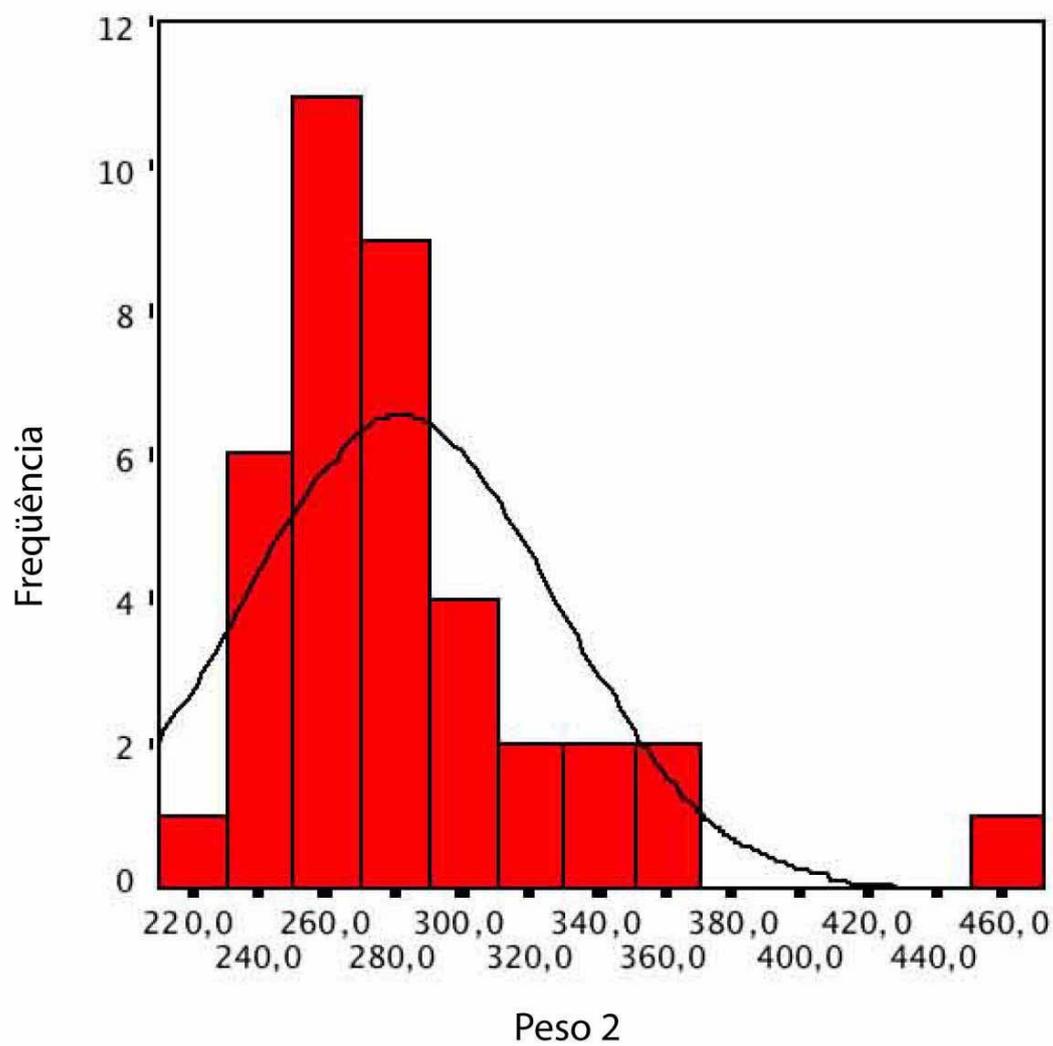


Figura 18 - Histograma da variável peso 2 (peso após duas semanas desde o início do estudo) com curva normal.

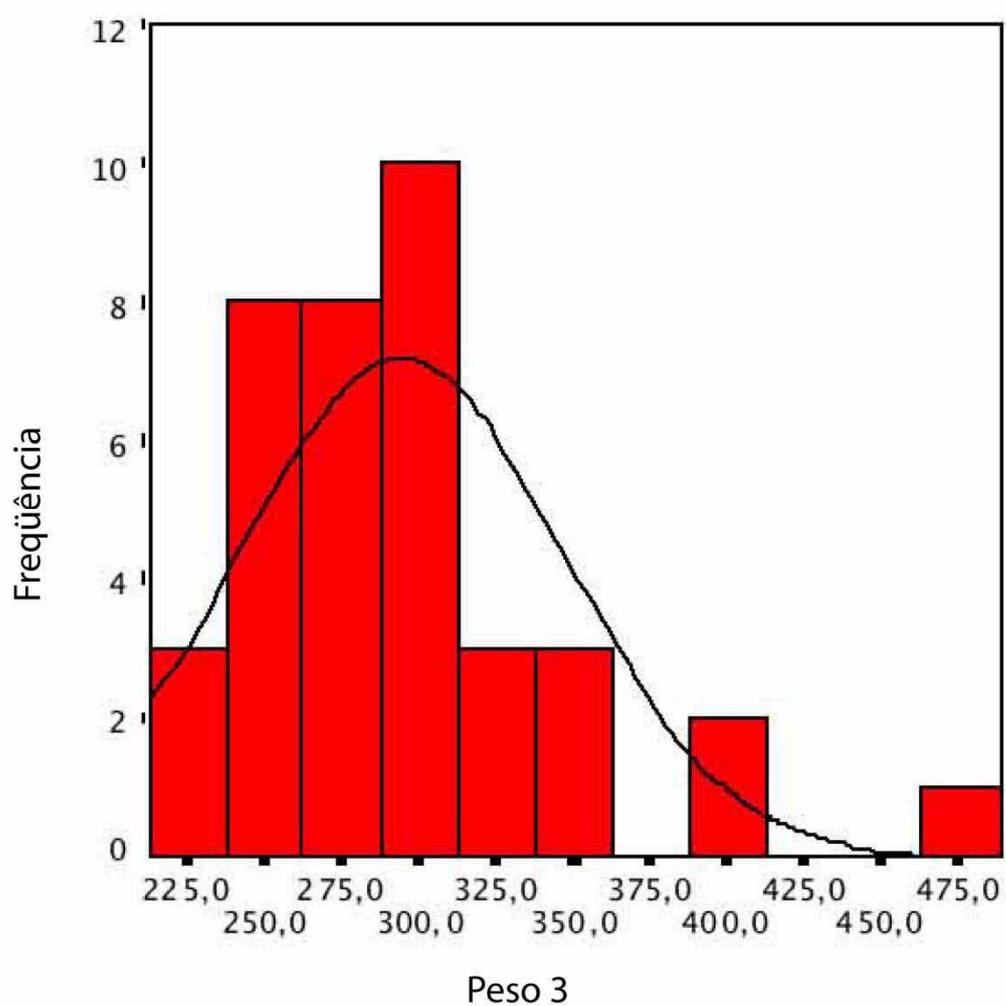


Figura 19 - Histograma da variável peso 3 (peso após três semanas desde o início do estudo) com curva normal.

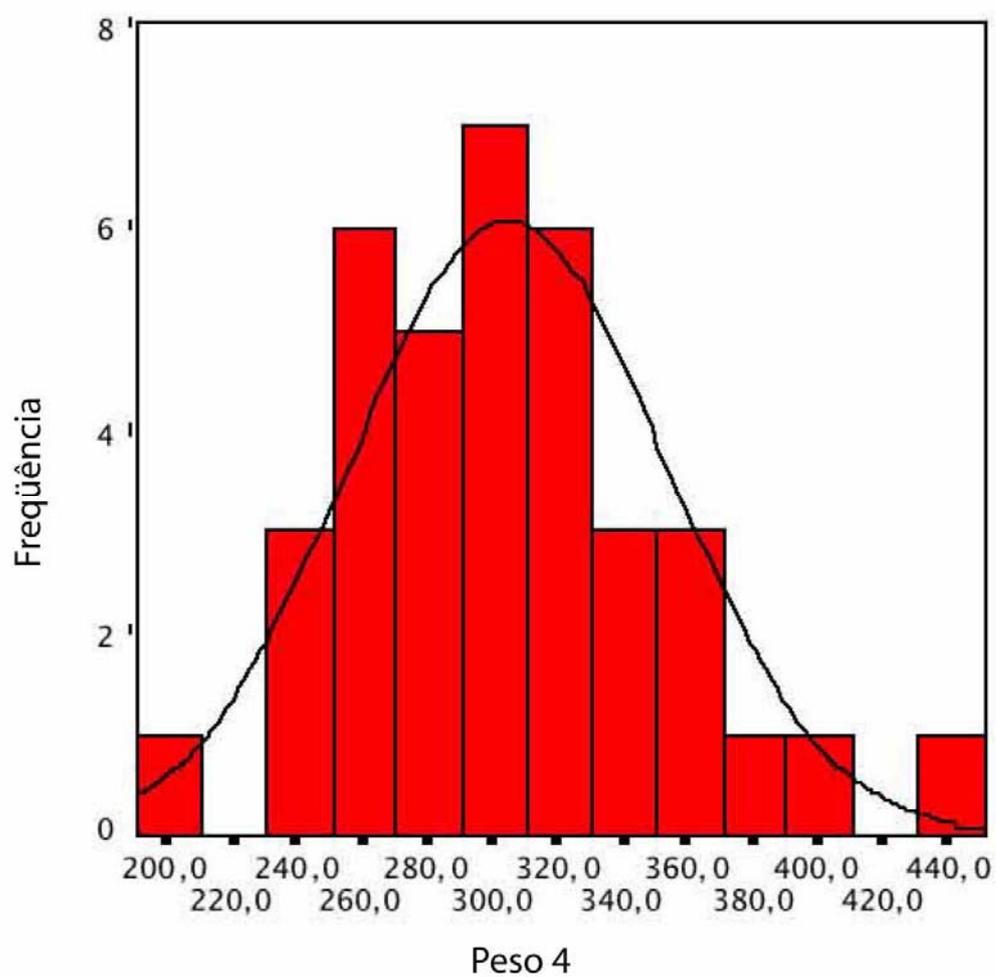


Figura 20 - Histograma da variável peso 4 (peso após quatro semanas desde o início do estudo) com curva normal.

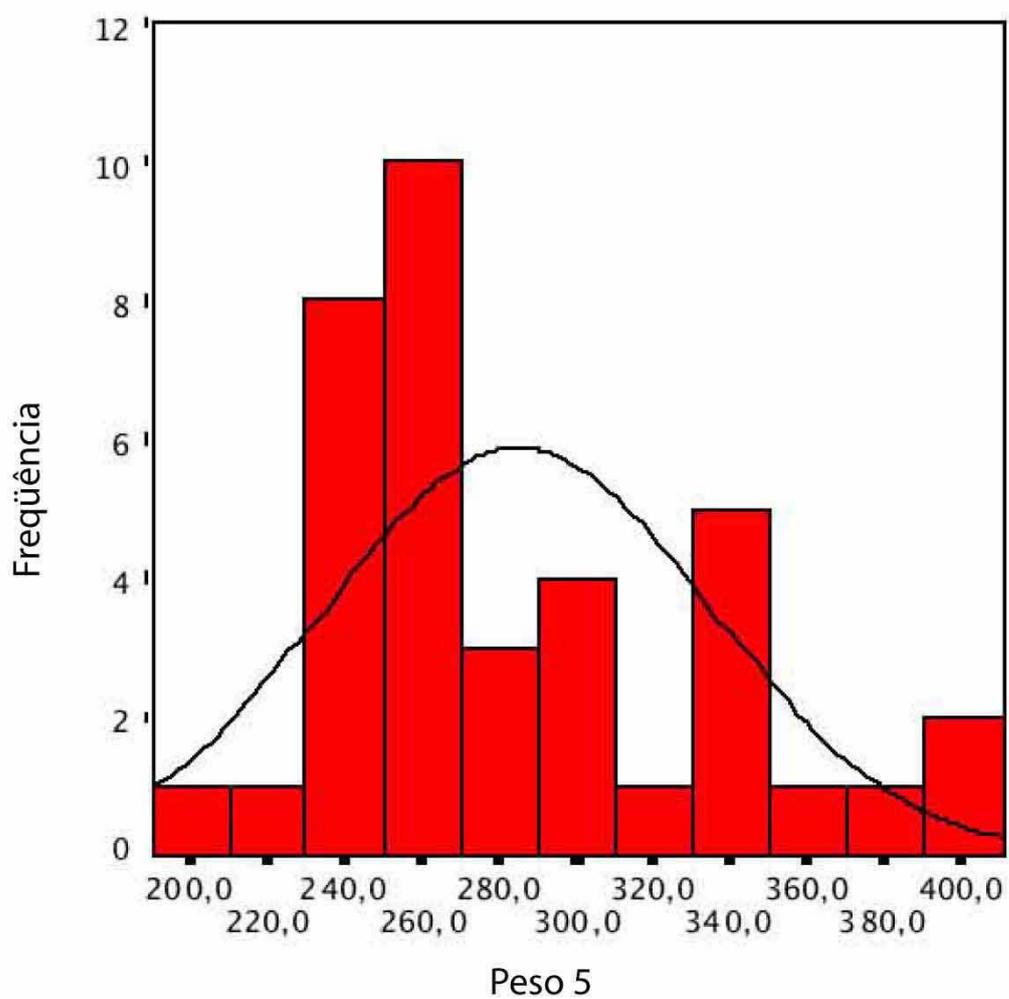


Figura 21 - Histograma da variável peso 5 (peso após cinco semanas desde o início do estudo) com curva normal.

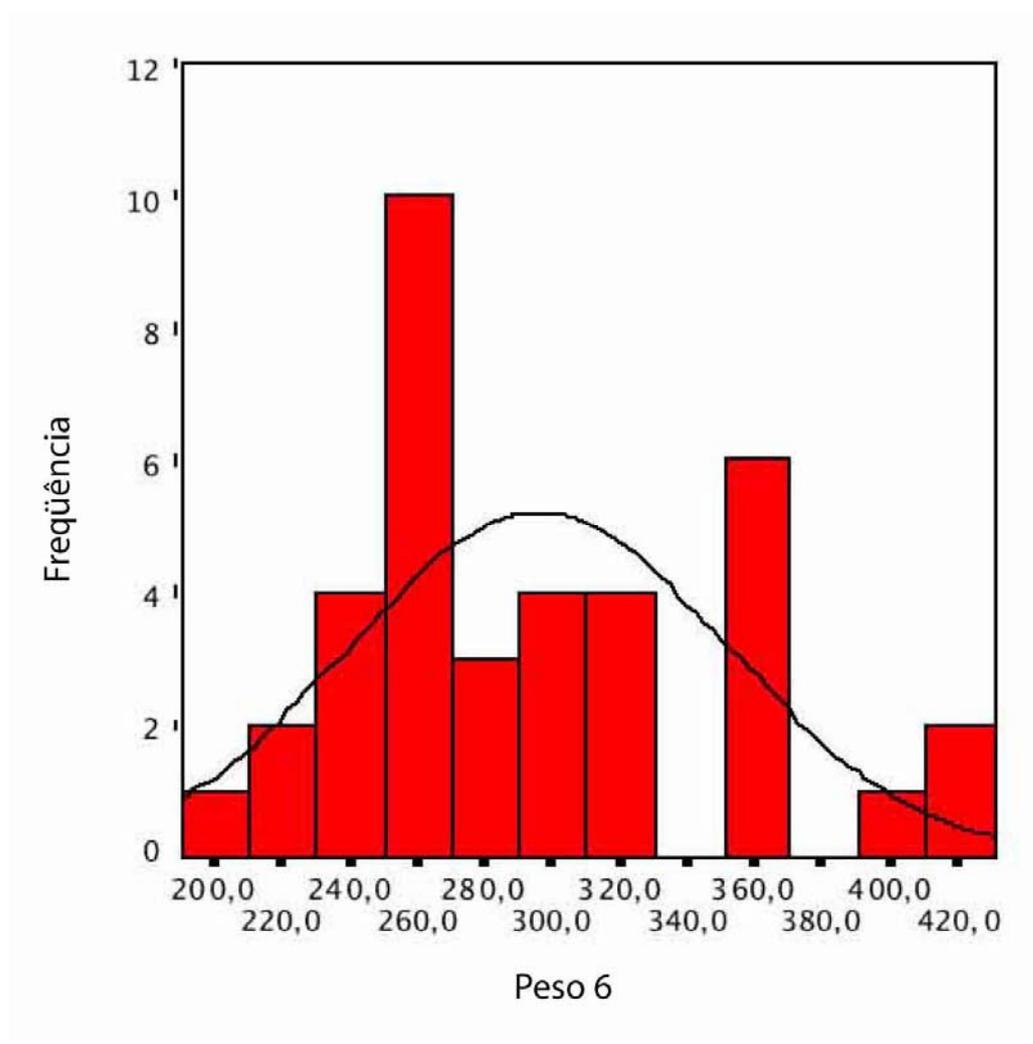


Figura 22 - Histograma da variável peso 6 (peso após seis semanas desde o início do estudo) com curva normal.

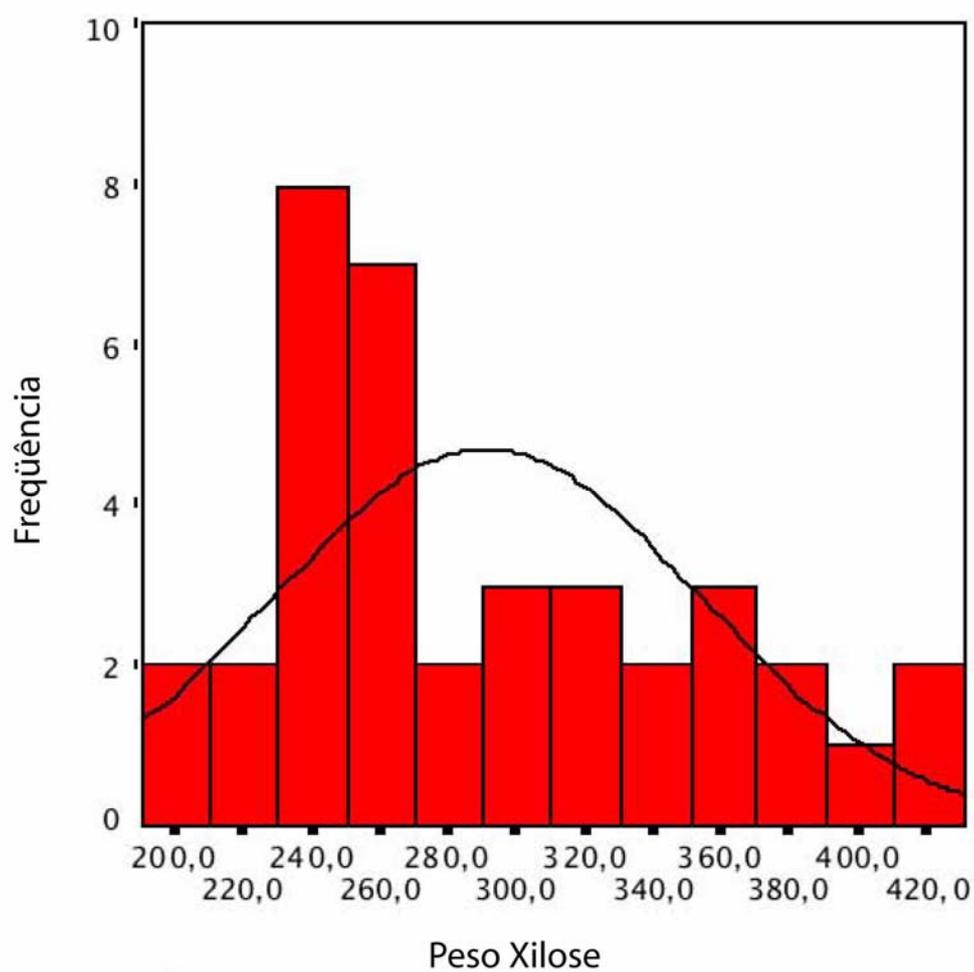


Figura 23 - Histograma da variável peso xilose (peso aferido na data do teste de absorção da d-xilose) com curva normal.

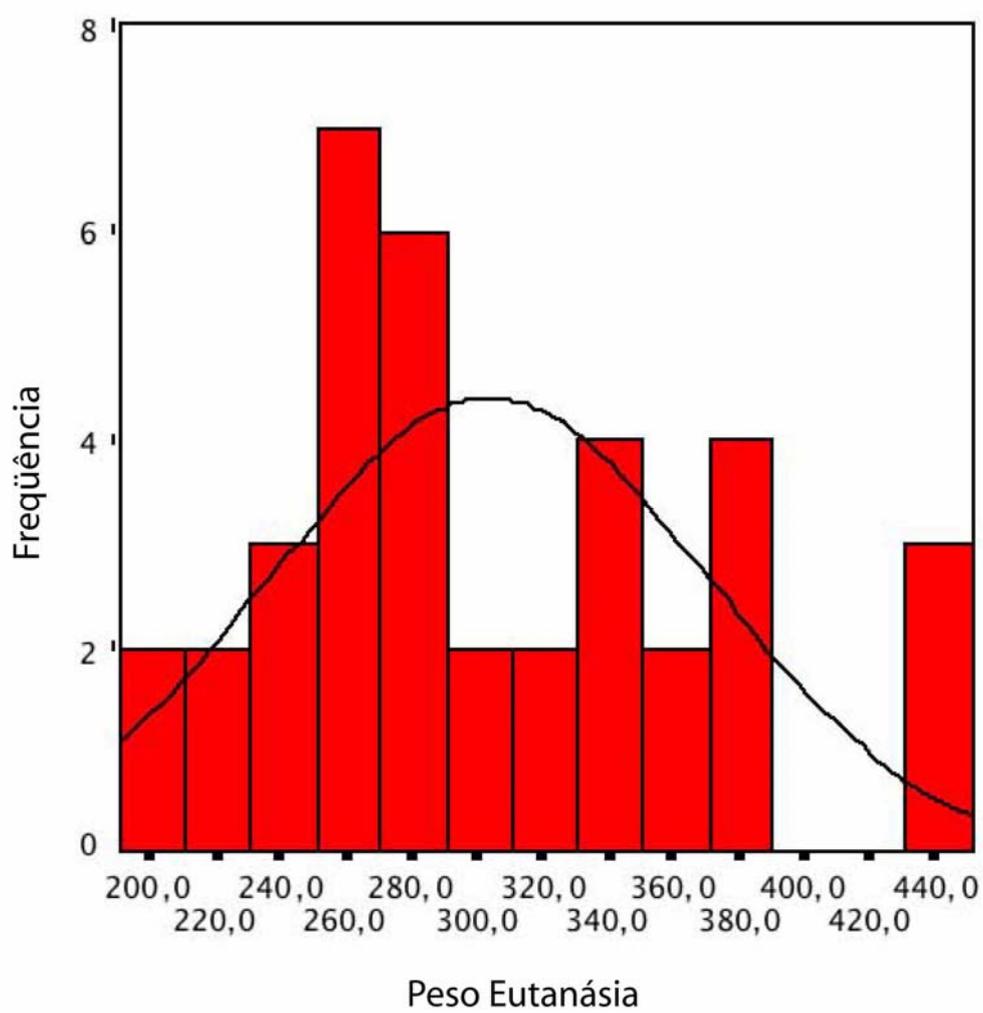


Figura 24 - Histograma da variável peso eutanásia (peso aferido na data da eutanásia) com curva normal.

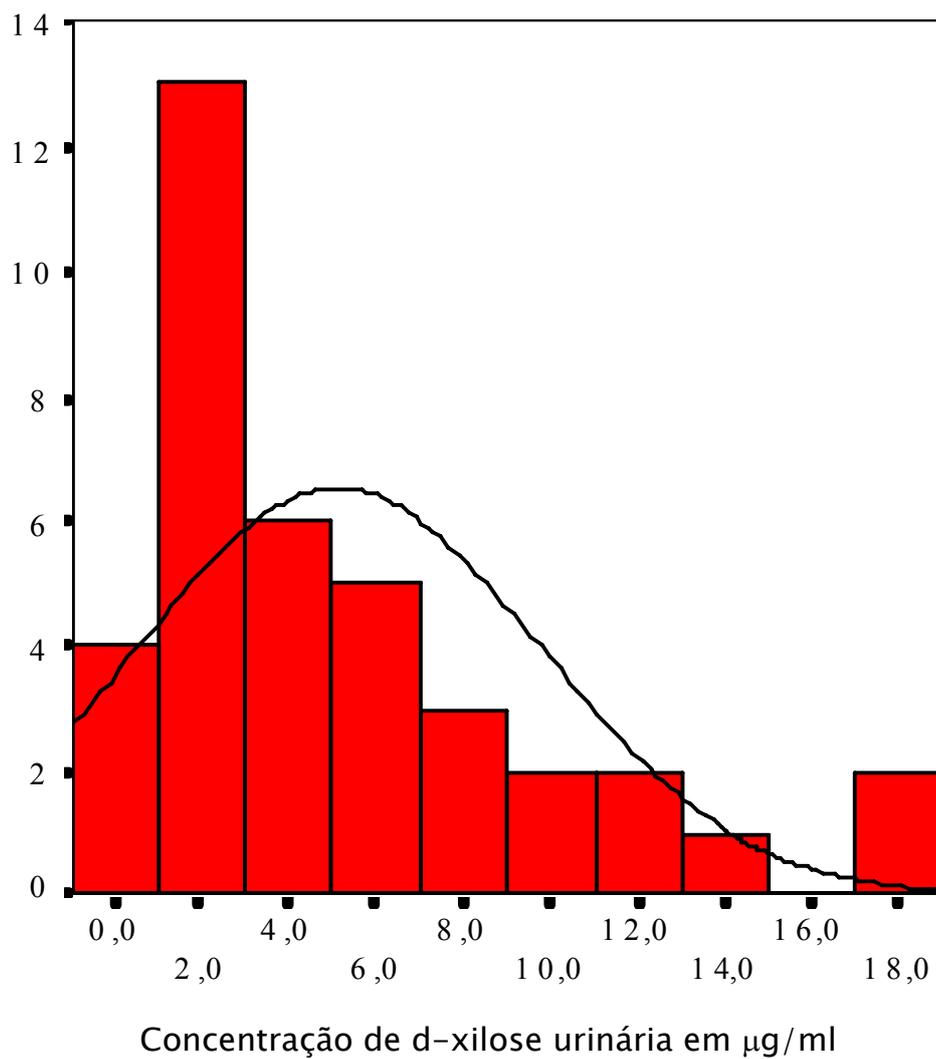


Figura 25 - Histograma da variável concentração de d-xilose urinária com curva normal.

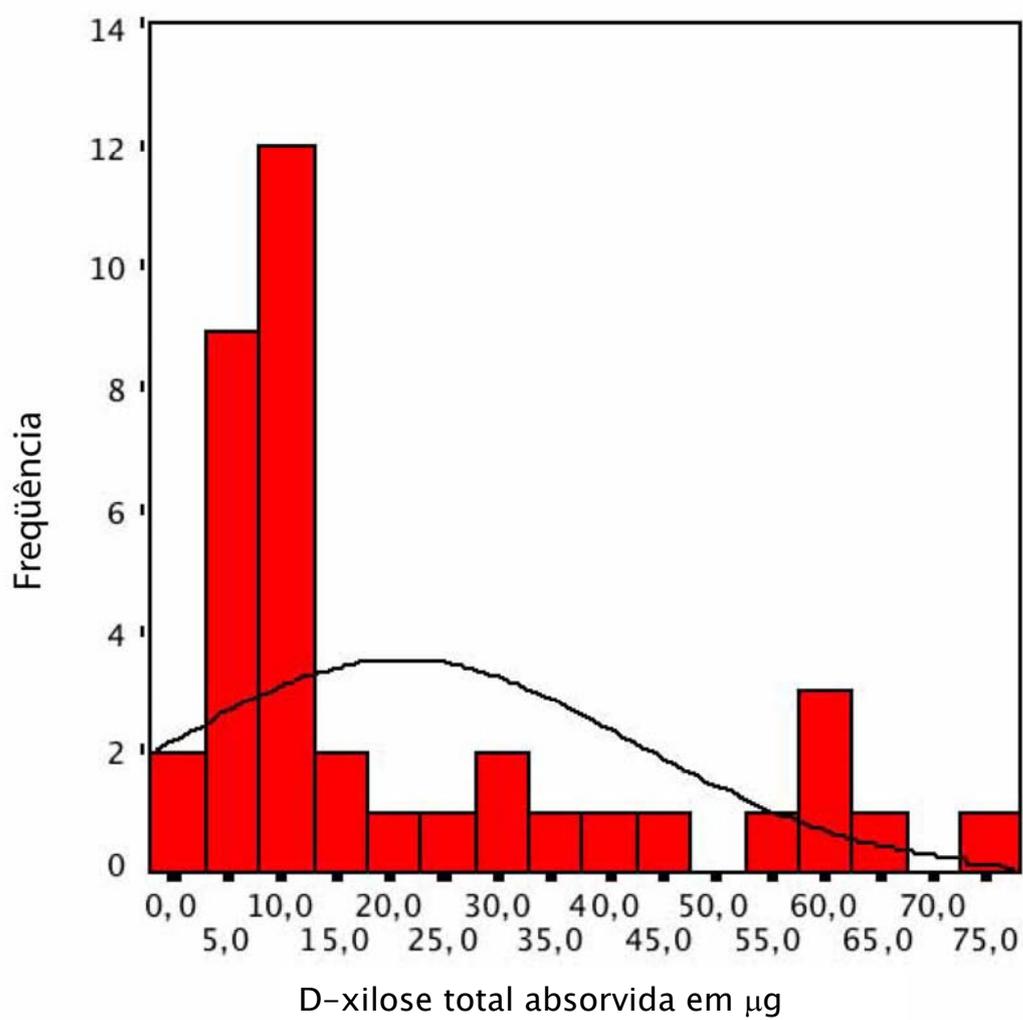


Figura 26 - Histograma da variável xilose total absorvida com curva normal.

ANEXO I

PROTOCOLO PARA CIRURGIA EXPERIMENTAL – INTESTINO CURTO E NEOVASCULARIZAÇÃO JEJUNAL POR OMENTOPEXIA

1. Identificação:.....
2. Marcação:



3. Peso (g)

Rato	PIn	P1	P2	P3	P4	P5	P6	Pxl	Pe

PIn – peso inicial (aferido no início do estudo);

P1 a P6 – pesos aferidos nas semanas 1 a 6, respectivamente, a partir do início do estudo;

Pxl – pesos aferidos na realização do teste de absorção da d-xilose;

Pe – pesos aferidos na data da eutanásia;

4. Primeira operação:

Data:...../...../.....

Acidentes:

() Não

() Sim.....

.....

5. Segunda operação:

Data:...../...../.....

Acidentes:

() Não

() Sim.....

.....

6. Teste da d-xilose:

Data:...../...../.....obs.

7. Eutanásia e retirada da peça:

Data:...../...../.....obs.

ANEXO II

1 – Método utilizado para a dosagem da d-xilose

Na data do teste da d-xilose as amostras de urina dos ratos foram coletadas durante um período de cinco horas e congeladas para análise. Para a análise laboratorial, as amostras foram descongeladas e o volume cuidadosamente aferido; a seguir procedeu-se a filtração das mesmas. Desta urina foi utilizado 1 ml diluído em água destilada em um balão volumétrico até completar 1 litro (ou 0,5 ml diluídos em água destilada em balão volumétrico até completar 0,5 l, se o volume de urina fosse inferior a 1 ml). A mesma diluição foi realizada para a solução original de xilose 200mg/100ml, para a utilização no preparo da solução padrão. Em seguida foram preparadas soluções padrão com diluições progressivas em 100 mL, 200 mL, 500 mL e 1000 mL para confecção da curva padrão.

As seguintes soluções foram preparadas:

B (branco) – 1,5 mL de água destilada, 3 mL de FeCl_3 e 0,2 mL de orcinol.

SP (solução padrão) - 1,5 mL de solução original de xilose 200mg/100ml diluída, 3 mL de FeCl_3 e 0,2 mL de orcinol.

AR (amostra do rato) – 1,5 mL de urina diluída do rato, 3 mL de FeCl_3 e 0,2 mL de orcinol.

Após homogeneização, as soluções foram aquecidas em banho-maria fervente por 20 minutos e os tubos removidos para esfriarem.

Em seguida procedeu-se a leitura das densidades ópticas (absorbância) das soluções padrão e das amostras de cada rato contra o branco, em comprimento de onda de 665 nm. Foi utilizado aparelho espectrofotômetro Shimadzu UV- 1601.

Os valores de absorbância das soluções padrão com concentrações conhecidas de d-xilose foram utilizados para a confecção da curva padrão (figura 27).

Após a determinação da equação da curva, foram determinados os valores de d-xilose nas amostras de urina dos ratos. O volume total de xilose excretada foi determinada

considerando-se o volume de urina produzido pelos animais. Os valores de absorvância aferidos nas diversas diluições da solução padrão são mostrados na tabela 19.

Tabela 19 – Valores da curva padrão de d-xilose.

Volume para diluição da solução de xilose em mL	Concentração de xilose $\mu\text{g/mL}$	Valor de absorvância em $\mu\text{g/mL}$
–	0	0
em 1000	2	0,185
em 500	4	0,216
em 200	10	0,591
em 100	20	0,998
em 50	40	1,642 (*)

(*) valor desprezado

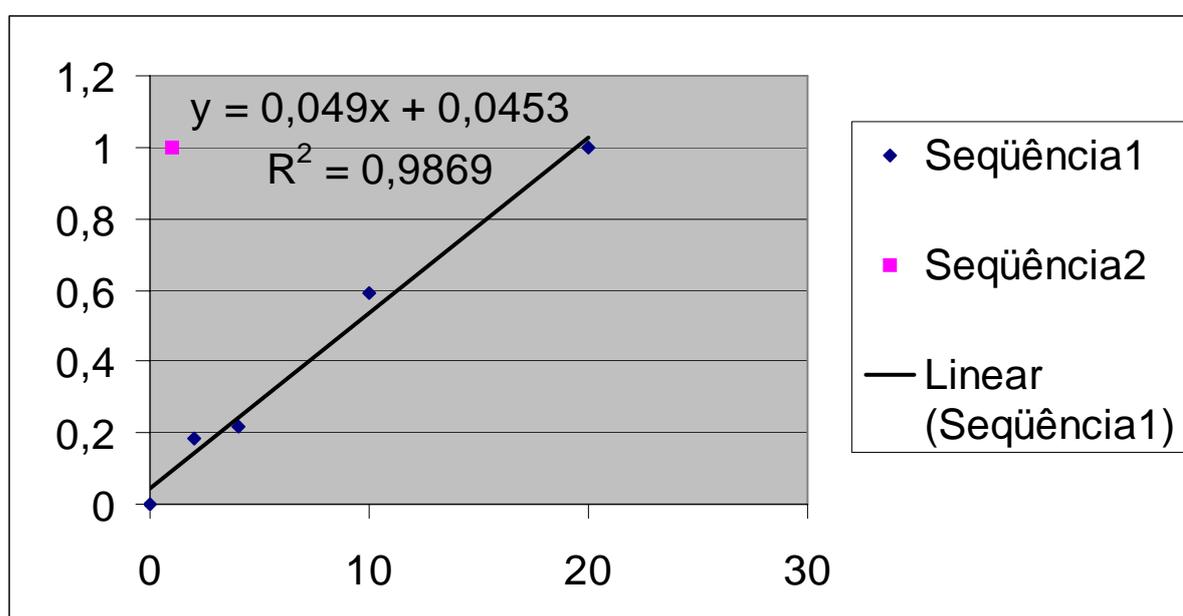


Figura 27. Curva padrão de d-xilose: valores de absorvância em $\mu\text{g/ml}$ (eixo y) por valores de concentração de d-xilose na solução em $\mu\text{g/ml}$ (eixo x). Equação gerada pela curva.

ANEXO III

I. Solução utilizada para a fixação das peças:

II. Formaldeído tamponado 10% (formol neutro)

Formalina 37-40%.....	100,0 mililitros
Água destilada.....	900,0 mililitros
Fosfato de sódio, monobásico.....	4,0 mililitros
Fosfato de sódio, dibásico (anidro).....	6,5 mililitros

III. Preparo das lâminas fixadas em formaldeído para coloração

1. Desidratação pelo álcool etílico;
2. Diafanização com o xilol;
3. Impregnação das lâminas pela parafina fundida a uma temperatura entre 58° e 60°C;
4. Realizados cortes das peças já incluídas sob forma de blocos de parafina, em micrótomo específico. Os cortes foram padronizados em cinco micrômetros;
5. As fitas saídas do micrótomo foram estendidas nas lâminas com e sem silano para colagem e posteriormente para coloração.

IV. Coloração pela hematoxilina-eosina

1. Desparafinação e hidratação com água destilada;
2. Submersas as lâminas em hematoxilina de Mayer* por 15 minutos e lavagem em água corrente após;
3. Realizada a coloração com a eosina de dois minutos e depois as lâminas foram desidratadas em álcool absoluto a 95% por duas vezes. Após a desidratação, as lâminas foram passadas no xilol, por duas vezes, dois minutos cada;
4. Feita a montagem em bálsamo.

Hematoxilina de Mayer*:

- Hematoxilina (cristais).....1,0 grama
- Água destilada.....1.000,0 mililitros
- Iodato de sódio.....0,2 gramas
- Alúmen de amônio.....50,0 gramas
- Ácido cítrico.....1,0 grama
- Hidrato de cloral.....50,0 gramas

V. IMUNO-HISTOQUÍMICA

O processo de coloração pela imuno-histoquímica consistiu em:

1. Lavagem das lâminas:

- mergulhadas as lâminas em solução de detergente neutro Extran (Merck 7553) a 0,5% em água, por 30 minutos e em seguida foram lavadas em água corrente até a completa remoção do detergente;
- O passo seguinte foi a lavagem das lâminas em água quente e secagem na estufa.

2. Preparo das lâminas com silano

- As lâminas foram imersas em acetona por dois minutos e, depois, em APTS (silano) por dois minutos;
- Foram imersas em acetona por quatro vezes e secadas em estufa.

3. Obtenção dos cortes histológicos

Os cortes histológicos de cinco micrômetros foram colocados em banho-maria histológico e, a seguir, depositados em lâminas silanizadas. As lâminas assim preparadas foram levadas para a estufa a 60°C, permanecendo por 24 horas para melhor adesão do tecido.

4. Procedimentos imuno-histoquímicos

Os cortes histológicos foram desparafinizados e hidratados segundo a seqüência a seguir:

- banho de xilol a 60° por 15 minutos;
- banho de xilol à temperatura ambiente por 15 minutos;
- banho de etanol a 100% nas lâminas por três vezes, 30 segundos cada vez;
- banho de etanol a 95% por 30 segundos;
- banho de etanol a 80% por 30 segundos;
- banho de etanol a 70% por 30 segundos;
- lavagem em água corrente e destilada.

5. Para a recuperação antigênica, foi utilizado o processo de digestão enzimática. Para a digestão proteolítica, as lâminas foram incubadas com solução de tripsina, 30mg%, e cloreto de cálcio, 134 mg%, em PBS*, pH 7,8 durante 20 minutos a 37°C, seguindo-se lavagens em água corrente e destilada.

6. Realizado bloqueio da peroxidase endógena com solução de peróxido de hidrogênio (H₂O₂) a 3% em metanol, em dois banhos de 10 minutos cada.

7. Procedeu-se a reação utilizando-se o complexo avidina-biotina-peroxidase (ABC):

- As lâminas foram incubadas com anticorpo específico diluído em tampão PBS**-diluyente, durante 16 ou 18 horas a 4°C, em câmara úmida e depois lavadas com tampão PBS com três trocas de três a cinco minutos cada;
- Incubaram-se as lâminas com o complexo ABC diluído em tampão PBS,* durante 30 minutos a 37°C e foram lavadas com tampão PBS* com três trocas de três a cinco minutos cada uma;

PBS*: solução salina tamponada com fosfatos 0,01M/pH7,4:

- Cloreto de sódio (NaCl)160,00 gramas
- Fosfato sódico dibásico anidro (Na₂HPO₄).....27,31 gramas
- Fosfato sódico monobásico diidratado (NaH₂PO₄.2H₂O).....4,86 gramas
- Água destilada.....1000 mililitros

PBS-diluyente*:

- Soroalbumina bovina (BSA) fração V (Sigma A9647).....1,0 grama
- Azida sódica (NaN_3).....0,1 grama
- Tampão PBS.....100,0 mililitros