

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA: CIRURGIA

MESTRADO INTERINSTITUCIONAL:

FACULDADE DE MEDICINA
UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL

FACULDADE DE MEDICINA
UNIVERSIDADE DE CAXIAS DO SUL

USO INTRAPERITONEAL DE
CARBOXIMETILCELULOSE/HIALURONATO DE SÓDIO
E DA **VITAMINA E** NA PREVENÇÃO DE ADERÊNCIAS

PÓS-OPERATÓRIAS:

ESTUDO EXPERIMENTAL EM RATOS

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

FREDY CORRALES

ORIENTADOR:
PROF. DR. CARLOS CAUDURO SCHIRMER

2006

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA: CIRURGIA

MESTRADO INTERINSTITUCIONAL:

FACULDADE DE MEDICINA
UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL

FACULDADE DE MEDICINA
UNIVERSIDADE DE CAXIAS DO SUL

USO INTRAPERITONEAL DE
CARBOXIMETILCELULOSE/HIALURONATO DE SÓDIO
E DA **VITAMINA E** NA PREVENÇÃO DE ADERÊNCIAS

PÓS-OPERATÓRIAS:

ESTUDO EXPERIMENTAL EM RATOS

FREDY CORRALES

Tese de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Medicina: Cirurgia, Mestrado Interinstitucional UFRGS/UCS, como requisito parcial para obtenção do título de mestre em Cirurgia.

Orientador: Prof. Dr. Carlos Cauduro Schirmer

2006

"Não é por serem difíceis as coisas que não ousamos, é por não ousarmos que elas são difíceis."

Bertrand Russel

***Ao meu pai, meu amigo e também meu professor Dr. Fredi Corrales Marin
(in memoriam), por tudo que representou e representa na minha
formação como pessoa e como cirurgião, minha gratidão eterna.***

Saudades.

À minha mãe, Mariza.

Aos meus irmãos Andrea e Marcelo.

Às minhas filhas Daniela, Nicole e Luiza, meus presentes de Deus.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a todas as pessoas e instituições que contribuíram direta ou indiretamente para que esta dissertação fosse concluída e, de forma especial:

- à Sabrina, pelo apoio, dedicação e importante incentivo durante todos os momentos da realização deste trabalho;

- ao Dr. Carlos Cauduro Schirmer, professor Doutor do programa de Pós-Graduação da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, pela sua orientação e apoio na realização desta pesquisa;

- ao Bioquímico Fernando Jorge Schreiner professor de Microbiologia da UCS e coordenador do Laboratório de Microbiologia Médica da UCS e Dra. Claudia Wollheim professora adjunta de microbiologia da UCS, pela capacidade profissional e boa vontade demonstradas na execução do trabalho;

- ao Farmacêutico Eduardo Palma, coordenador e professor do curso de Farmácia da UCS, pelas valiosas dicas e importante auxílio durante a realização do trabalho;

- ao Dr. Luiz Fernando Kehl, professor de Fisiologia da UCS e coordenador do Laboratório de Fisiologia da UCS e bióloga Andréa Venturini Pavan, pela simpatia e interesse demonstrados na realização do trabalho;

- ao Dr. Marcelo Corrales, pelo auxílio e colaboração durante a realização do experimento;

- aos acadêmicos de medicina da UCS Thiago Luciano Passarin, Samuel Ramos Pante e Mauro Cabral Gonçalves, pela importante participação na realização do trabalho, no controle dos animais e no auxílio da realização do experimento;

- à professora Rosângela Benatti pela revisão final do português;

- à professora Magali Ruwer pela versão do artigo para o inglês.

SUMÁRIO

LISTA DE ABREVIATURAS.....	9
LISTA DE FIGURAS.....	10
LISTA DE TABELAS.....	11
1 INTRODUÇÃO.....	12
2 REVISÃO DA LITERATURA.....	17
2.1 ADERÊNCIAS.....	17
2.2 VITAMINA E.....	19
2.3 MEMBRANA DE CBMC/HA.....	20
3 OBJETIVOS.....	22
4 MATERIAL E MÉTODOS.....	23
4.1 ANIMAIS E AMBIENTE DE EXPERIMENTAÇÃO.....	23
4.2 ALIMENTAÇÃO E SUBSTÂNCIAS EM ESTUDO.....	24
4.3 EXPERIMENTO.....	26
4.4 EUTANÁSIA DOS ANIMAIS.....	28
4.5 ANÁLISE MACROSCÓPICA.....	29
4.6 TAMANHO DA AMOSTRA E ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	29
5 RESULTADOS.....	30
5.1 ANÁLISE MACROSCÓPICA.....	30
6 DISCUSSÃO.....	34
7 CONCLUSÃO.....	42
8 REFERÊNCIAS.....	43

SUMÁRIO

9 ARTIGO – PREVENÇÃO DE ADERÊNCIAS INTRAPERITONEAIS COM VITAMINA E INTRAPERITONEAL E CARBOXIMETILCELULOSE /HIALURONATO DE SÓDIO: ESTUDO EXPERIMENTAL EM RATOS.....	53
RESUMO.....	55
1 INTRODUÇÃO.....	56
2 MÉTODOS.....	58
2.1 TÉCNICA OPERATÓRIA.....	59
3 RESULTADOS.....	62
4 DISCUSSÃO.....	63
5 CONCLUSÃO.....	65
6 REFERÊNCIAS.....	66
10 PAPER - PREVENTION OF INTRAPERITONEAL ADHESIONS BY INTRAPERITONEAL VITAMIN E AND SODIUM HYALURONATE / CARBOXYMETHYLCELLULOSE: AN EXPERIMENTAL STUDY IN RATS...71	
ABSTRACT.....	73
1 INTRODUCTION.....	74
2 METHODS.....	75
2.1 SURGICAL TECHNIQUE.....	76
3 RESULTS.....	78
4 DISCUSSON.....	79
5 CONCLUSION.....	81
6 REFERENCES.....	82
11 ANEXOS.....	87
ANEXO A – PROTOCOLO DE AVALIAÇÃO.....	88

LISTA DE ABREVIATURAS

APO - Aderências pós-operatórias

CBMC/HA - Carboximetilcelulose/Hialuronato de Sódio

UCS - Universidade de Caxias do Sul

UFRGS - Universidade Federal do Rio Grande do Sul

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Ausência de aderências – Grau 0.....	31
Figura 2 – Aderência Grau 1.....	32
Figura 3 – Aderência Grau 3.....	32
Figura 4 – Aderência Grau 4.....	33
Figura 5 – Relação do grau de aderência distribuído entre os grupos.....	33

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Sistema de escore de aderências.....	29
---	----

1 INTRODUÇÃO

Aderências pós-operatórias (APO) representam uma complicação comum após uma variedade de procedimentos cirúrgicos, e em grande parte dos casos são clinicamente assintomáticas. As APO estão relacionadas a sérias complicações, incluindo dor pélvica crônica (SULAMAIN, 2000; HOWARD, 2003), infertilidade (KAVIC, 2002) e obstrução intestinal (MENZIES, 1993). São encontradas em mais de 90% dos pacientes que foram submetidos a uma ou mais intervenções intra-abdominais (MENZIES, 1990). Representam a maior causa de obstrução intestinal (ELLIS, 1982), sendo responsáveis por 40 % de todos os casos de obstruções intestinais (MENZIES, 1992) e aproximadamente 70 % dos casos de obstruções do intestino delgado nos países ocidentais. Em estudo retrospectivo (COX, 1993) foram referidas como patologias mais frequentes que motivaram laparotomias por obstrução intestinal a apendicectomia (23%), ressecção colo-retal (21%), procedimentos ginecológicos (12%), cirurgias gastrointestinais altas – gástricas, biliares, esplênicas – (9%) e cirurgias do intestino delgado (8%).

1 INTRODUÇÃO

Os restantes 24% dos pacientes haviam sido submetidos à múltiplas cirurgias anteriores, sendo a combinação mais comum a apendicectomia e um ou mais procedimentos ginecológicos (10%). Destes, 80% haviam tido procedimentos sobre a pelve. A simples lise das aderências é em geral empregada para tratamento destes pacientes, tanto através de laparotomia ou laparoscopia, porém a recorrência da obstrução pode ocorrer em 11 a 21% dos casos (MENZIES, 1993). Nos pacientes em que a obstrução é recorrente, a cirurgia pode se tornar tecnicamente mais difícil, com conseqüente aumento da morbi-mortalidade. O risco de uma enterotomia inadvertida é maior que 19% nas cirurgias em que os pacientes já foram submetidos a procedimentos prévios (VAN DER KRABBEN, 2000), já havendo, inclusive, relatos envolvendo processos médico-legais devido à complicações pós-operatórias relacionadas à aderências (ELLIS, 2004). As APO geralmente são formadas entre o sétimo e décimo dia de pós-operatório, determinando que este período seja crucial na prevenção de sua formação (GOMEL, 1996).

Procedimentos cirúrgicos que se baseiam na fixação intestinal foram descritos com o intuito de fixar as alças intestinais com uma configuração que evite a ocorrência de obstrução. Existem duas categorias de fixação intestinal: interna e externa. A plicatura externa inclui a técnica de Noble (NOBLE, 1937) e a técnica de Childs-Phillips (CHILDS-PHILLIPS, 1960) e outras variações destas técnicas. Devido ao risco de sérias complicações, como desenvolvimento de fístulas entero-entéricas, enterocólicas, enterocutâneas e

1. INTRODUÇÃO

peritonite, e ao seu baixo índice de sucesso, estas técnicas vêm caindo em desuso. Os procedimentos de fixação interna utilizam longos tubos intestinais introduzidos através do nariz, gastrostomia ou jejunostomia para moldar o intestino delgado.

Há inúmeros trabalhos envolvendo a prevenção da formação das APO. Ellis (ELLIS, 1982) recomendou algumas medidas em relação à técnica operatória e a prevenção das aderências: 1. evitar introduzir material estranho ao organismo (talco das luvas, fragmentos de gaze, fios não-absorvíveis); 2. não deixar superfícies serosas cruentas descobertas; 3. cobrir áreas que certamente formarão aderências com remendo pediculado, como omento, ligamento falciforme ou “flap” peritoneal; 4. posicionar o omento entre o peritônio parietal e as alças intestinais. Também foi relatado como medidas benéficas o manuseio mínimo dos tecidos, irrigação adequada e remoção de material isquêmico e infectado, evitar disseções desnecessárias, principalmente aderências que não estejam relacionadas ao intestino delgado e outras modificações na técnica cirúrgica que possam aumentar o trauma tecidual (LIAKAKOS, 2001).

Além das medidas técnicas, Ellis também classificou os métodos para prevenção das aderências em: 1. instilação de lubrificantes; 2. estímulo dos movimentos peristálticos; 3. cobertura das superfícies peritoneais cruentas; 4. digestão enzimática; 5. inibição da deposição de fibrina.

1. INTRODUÇÃO

Diversas substâncias foram estudadas com o objetivo de reduzir a formação de aderências intraperitoneais, como: dextrano 70 a 32% (GRAEBE, 1989) , carboximetilcelulose (YOLDEMIR, 2002) , corticóides (WATSON, 2000) , adenosina (JACKSON, 2004) , antiinflamatórios (GUVENAL, 2001; KAPPAS, 1992) e fibrinolíticos (BELLUCO, 2001) . Sabe-se que a isquemia, um conhecido estímulo para a formação de aderências, ocasiona uma acentuada redução na atividade do fator ativador do plasminogênio, enquanto aumenta a liberação do fator inibidor do ativador do plasminogênio, o que justificaria o uso de fibrinolíticos na inibição de APO. Assim, a estreptoquinase e a uroquinase já foram testados com resultados diversos em modelos animais (GERVIN, 1973; JAMES, 1965). O uso destas substâncias em humanos não foi tentado devido ao receio de complicações hemorrágicas, especialmente em pacientes submetidos à grandes dissecções, justamente os com maior risco de desenvolver APO, porque estes agentes são rapidamente absorvidos através do peritônio.

Mais recentemente, alguns autores têm avaliado o uso de membranas artificiais bioreabsorvíveis com melhores resultados, porém apresentando custo elevado em nosso meio ,tais como: polilactida (SurgiWrap[®]) (AVITAL, 2005) , carboximetilcelulose/hialuronato de sódio (Seprafilm[®]) (BECKER, 1996 ; ONCEL, 2004; KUSUNOKI, 2005) ,celulose (Interceed[®]) (WISEMAN, 1999). Estas barreiras reduzem a formação de aderências limitando o contato dos tecidos após a cirurgia, durante o período em que são formadas

1. INTRODUÇÃO

(HELLEBREKERS, 2000), que é entre o sétimo e décimo dia de pós-operatório, determinando que este período seja crucial na prevenção de sua formação (GOMEL, 1996). Entre estes, o filme de carboximetilcelulose/hialuronato de sódio (Seprafilm[®]) tem apresentado bons resultados na inibição da formação de aderências e é aprovado para uso clínico pelo FDA.

A Vitamina E apresenta, teoricamente, interessantes propriedades biológicas e ações para a prevenção de aderências intraperitoneais. Ela apresenta in vitro efeitos antioxidantes, antiinflamatórios, anticoagulantes e antifibroblásticos, ainda diminuindo a produção de colágeno. Embora tenha sido estudada sua eficácia após administração por via oral e intramuscular (HEMADEH, 1993), seu uso intraperitoneal ainda carece de estudos que comprovem sua efetividade na inibição de APO.

2 REVISÃO DA LITERATURA

2.1 ADERÊNCIAS INTRAPERITONEAIS

O peritônio é uma membrana de origem mesodérmica que reveste as cavidades abdominal, pélvica e os órgãos nelas contidos, dividindo-se em peritônio parietal e visceral. À microscopia apresenta-se como camada de tecido conjuntivo frouxo, coberta por única camada de células, o mesotélio (CROWE, 1993).

As aderências intraperitoneais podem ser congênicas ou adquiridas. As congênicas se apresentam desde o nascimento e representam anomalia embriológica no desenvolvimento da cavidade peritoneal, como por exemplo a banda de Ladd (MENZIES, 1992). As aderências adquiridas podem ser pós-operatórias ou também inflamatórias, quando se originam após o curso de uma patologia intra-abdominal como: colecistite aguda, diverticulite aguda ou doença inflamatória pélvica. A proporção de cada tipo não é conhecida com exatidão, mas foram avaliadas série de casos de obstrução intestinal e

2 REVISÃO DA LITERATURA

verificados 79 a 92% de APO, 4 a 15% de aderências inflamatórias e 2 a 6% de aderências congênitas. Estes casos se referem a pacientes submetidos à cirurgia e não refletem a ocorrência de aderências na população geral (MENZIES, 1992).

No momento da cirurgia, a lesão do mesotélio expõe uma superfície desnuda e acelular, cujo processo de cicatrização dá início e de onde se obtém a completa reparação da lesão ou a formação de aderências. Este processo ocorre inicialmente através da ativação da cascata da coagulação. No sítio da lesão aparecem fatores inflamatórios e pró-coagulantes provenientes de várias fontes, incluindo vasos locais, agentes circulantes no fluido peritoneal e migração de tecidos mesoteliais adjacentes. Rapidamente ocorre a invasão de células inflamatórias provenientes da vascularização peritoneal ou do próprio fluido peritoneal. Este exsudato inflamatório inicialmente se compõe de neutrófilos, mas a partir das primeiras 24 horas se observa como células predominantes os macrófagos, tendo como papel o desbridamento tecidual e a fagocitose de patógenos. Com a liberação local de citocinas e fatores bioativos e subsequente migração de células ao local da lesão, se inicia o processo da coagulação pela deposição de fibrina. Em condições normais, este exsudato de fibrina serve como plataforma para a adequada cicatrização se concretizar, porém, devido a certas circunstâncias patológicas, este depósito de fibrina se torna matriz para várias células, servindo como ponte para formação de aderências entre tecidos adjacentes. Após, a reperitonialização

2 REVISÃO DA LITERATURA

vai ocorrendo e em torno de 7 a 10 dias as superfícies já estão cobertas por lâmina de mesotélio. Este processo de cicatrização peritoneal ocorre no mesmo período de tempo, independente do tamanho da área a ser cicatrizada. O processo dinâmico da cicatrização tecidual conta com várias enzimas que remodelam a matriz de fibrina. O plasminogênio é uma proteína que desempenha um papel fundamental no processo de fibrinólise. Também existem várias proteínas que envolvem a ativação e a inibição do fibrinogênio e a manutenção da cascata fibrinolítica, como o fator ativador do plasminogênio e o fator inibidor do ativador do plasmingênio. Atualmente se sabe que a atividade fibrinolítica se encontra reduzida nas primeiras 6 horas de pós-operatório e praticamente é inexistente até 24 a 48 horas do início da cirurgia. Esta diminuição na fibrinólise é um fator primordial na transformação das pontes temporárias de fibrina, contribuindo para a formação de bandas permanentes entre as superfícies mesoteliais e conseqüente formação das APO.

2.2 VITAMINA E

A existência da vitamina E foi inicialmente demonstrada por Evans e Bishop em 1922. Foi, porém, isolada do óleo do germe do trigo, por Evans em 1936. São conhecidos atualmente 8 tocoferóis com atividade de vitamina E, porém o alfa-tocoferol (5, 7, 8-trimetil tocol) é considerado o mais importante

2 REVISÃO DA LITERATURA

tocoferol e compreende cerca de 90% dos tocoferóis em tecidos animais e mostra a maior atividade biológica na maioria dos sistemas de ensaio biológico. O alfa-tocoferol foi identificado quimicamente por Fernholtz em 1938 e sintetizado por Karrer em 1938. Um dos mais importantes aspectos químicos dos tocoferóis é sua ação antioxidante. A propriedade antioxidante da vitamina E atenua o dano à membranas biológicas causado pelos radicais livres. Também possui ação anticoagulante, inibindo a ativação das plaquetas e a adesão dos leucócitos. A ingestão diária de 10 a 30 mg de vitamina E é suficiente para a manutenção dos níveis plasmáticos.

2.3 MEMBRANA DE CMBC/HA

A membrana antiaderência bioreabsorvível (Seprafilm[®], Genzyme Co., Cambridge, MA, USA) é composta por dois polissacarídeos aniônicos: hilonato de sódio (HA) e carboximetilcelulose (CBMC), sendo aprovada pelo FDA para uso clínico e atua como barreira bioreabsorvível temporária, separando duas superfícies apostas. A membrana separa os tecidos enquanto o processo de cicatrização ocorre, inibindo a formação de aderências. Em torno de 24 a 48 horas após sua aplicação, a membrana transforma-se gradativamente em gel hidratado que é lentamente absorvido em 7 dias,

2 REVISÃO DA LITERATURA

período crucial para o desenvolvimento das aderências, sendo que em 28 dias já não se observa qualquer resquício de seus componentes na cavidade abdominal. Apresenta-se para uso comercial em forma de película transparente em dois tamanhos: 12,7 cm x 15,2 cm e 7 cm x 13 cm.

3 OBJETIVO

O objetivo deste estudo é observar o efeito da administração intraperitoneal de vitamina E e da membrana de carboximetilcelulose e hialuronato de sódio (Seprafilm[®]) na prevenção de aderências pós-operatórias em ratos.

4 MATERIAL E MÉTODOS

Este estudo foi avaliado e aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade de Caxias do Sul em reunião realizada em 27 de setembro de 2005.

4.1 ANIMAIS E AMBIENTE DE EXPERIMENTAÇÃO

Foram utilizados 60 ratos machos da espécie *Rattus norvegicus* da cepa *Wistar*, fornecidos pelo Biotério da Universidade Federal de Pelotas, com idade entre três e quatro meses e peso variando entre 450 e 550 gramas no início do experimento.

O experimento foi realizado no Laboratório de Fisiologia da UCS.

Todos os animais foram mantidos em estande própria (Alesco[®]), sob fluxo contínuo de ar, com exaustão e filtro para amônia, mediante temperatura variando entre 20 °C a 22 °C, e ciclo claro/escuro alternando a cada 12 horas.

4 MATERIAL E MÉTODOS

Foram divididos em grupos de quatro animais e mantidos dentro de gaiolas plásticas com grade metálica e fundo forrado com serragem. As gaiolas foram higienizadas em dias alternados.

4.2 ALIMENTAÇÃO E SUBSTÂNCIAS EM ESTUDO

Todos os animais foram alimentados desde o nascimento até os 21 dias de vida com aleitamento materno. Após esse período, receberam ração para roedores *ad libitum* (Nuvilab[®]), que foi reposta a cada dois dias e trocada uma vez por semana. A água para beber veio da rede pública de abastecimento.

A Vitamina E utilizada foi proveniente da Sigma Chemicals CO (St. Louis, USA) com as seguintes características: vitamina E oleosa 97%, apresentada em frasco estéril contendo 100g, Lote: S20796-065, validade até julho de 2010.

O óleo de oliva utilizado foi adquirido na rede comercial, da marca Carbonell, tipo extra-virgem, produzido na Espanha, com acidez de 0,5%, comercializado em frasco com 750 ml.. Antes da realização do experimento, o

4 MATERIAL E MÉTODOS

óleo de oliva foi acondicionado em frascos de vidro com tampa de borracha e esterilizado em autoclave à temperatura de 121° C durante 15 minutos.

A solução estoque de vitamina E utilizada para aplicação na cavidade abdominal dos animais foi preparada na concentração de 2 mg/ml, utilizando o óleo de oliva estéril como veículo. Após o processo de esterilização, adicionou-se com o auxílio de uma seringa e de forma asséptica a 200 ml de óleo de oliva, o equivalente a 400 mg de vitamina E. A seguir o frasco foi agitado manualmente para completa homogeneização da solução. As soluções foram armazenadas em geladeira até o momento de uso. Para administração nos animais, foram utilizados 5 ml desta solução por via intraperitoneal.

A membrana bioreabsorvível de CBMC/HA é fabricada pela Genzyme Biosurgery, uma divisão da Genzyme Corporation, localizada em Cambridge, Massachusetts, Estados Unidos. É comercializada em embalagens estéreis para uso único. Foi utilizada a membrana comercializada no tamanho de 7 cm x 13 cm e recortada para uso intraperitoneal nos animais no tamanho de 3 cm x 3 cm.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.3 EXPERIMENTO

Os 60 animais foram divididos de maneira aleatória em 4 grupos de 15 animais, a saber:

Grupo 1: controle (**indução de aderências**, porém sem administração de nenhuma substância intraperitoneal).

Grupo 2: **indução de aderências** e administração intraperitoneal de 10 mg (5 ml da solução) de **vitamina E**.

Grupo 3: **indução de aderências** e colocação de membrana reabsorvível de **CBMC/HA**.

Grupo 4: **indução de aderências** e administração intraperitoneal de 10 mg (5 ml da solução) de **vitamina E** e colocação de membrana reabsorvível de **CBMC/HA**.

O modelo de indução de aderências descrito por Hemadeh et al. foi utilizado neste experimento. Este modelo produz aderências em 100 % dos animais (HEMADEH , 1993). O tratamento cirúrgico foi realizado sob anestesia geral inalatória com halotano e tiletamina-zolazepam (Zoletil[®] – 0,15 ml/Kg) por via intramuscular. Todos os animais receberam dose profilática de

4 MATERIAL E MÉTODOS

ampicilina (50 mg/kg) SC imediatamente antes do início do procedimento. Analgesia pós-operatória foi obtida com o uso IM de tartarato de butorfanol (turbogestic[®] – 10 mg/Kg). O cirurgião utilizou luvas sem talco para o procedimento. Após anestesiados e realizada a depilação e antissepsia com iodo-povidine, uma incisão abdominal mediana de 4 cm foi realizada nos animais, expondo-se a parede anterior do ceco, que foi friccionada com uma gaze até a perda do brilho da serosa e o aparecimento de pontos hemorrágicos. Uma gota de álcool absoluto foi aplicada sobre a parede anterior do ceco no local do ferimento provocado, após, o ceco foi colocado novamente em sua posição anatômica. O peritônio parietal foi apreendido com uma pinça hemostática e aplicado um ponto de sutura com fio de seda 3-0 no local. Nos grupos 2 e 4, antes do fechamento, foram aplicados com seringa 5 ml de vitamina E diluída em óleo de oliva. Nos grupos 3 e 4 foi aplicada por entre o ceco e a parede abdominal uma lâmina de CBMC/HA, medindo 3 x 3 cm. Após, a cavidade abdominal foi fechada com dois planos de seda 3-0 em sutura contínua.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.4 EUTANÁSIA DOS ANIMAIS

Os animais foram submetidos à eutanásia por inalação de Halotano em campânula plástica fechada no 30^o dia de pós-operatório. Após a morte, foram pesados em balança eletrônica de precisão.

4.5 ANÁLISE MACROSCÓPICA DAS ADERÊNCIAS

O procedimento cirúrgico e verificação das aderências formadas foi realizado por um cirurgião independente, que não participou da primeira etapa cirúrgica. Durante este processo, o cirurgião não sabia a que grupo pertencia o animal que estava sendo analisado. Os animais foram fixados pelos quatro membros com fio de barbante em uma pequena mesa cirúrgica. A abertura da parede abdominal foi feita por uma incisão na linha média que se estendeu da região suprapúbica até o apêndice xifóide, de forma a expor amplamente a cavidade abdominal. Foi realizada a inspeção da cavidade e anotadas as aderências formadas, baseando-se numa escala descrita por Nair et. al. (NAIR , 1974).

4 MATERIAL E MÉTODOS

Tabela 1 - Sistema de Escore de Aderências

Grau Observação		Descrição das aderências
0	Completa ausência de aderências	Aderências insubstanciais
1	Única banda de aderência entre vísceras ou entre uma víscera e a parede abdominal	
2	Duas bandas: entre vísceras ou de víscera para a parede abdominal	Aderências substanciais
3	Mais de duas bandas: entre vísceras ou víscera para a parede abdominal ou todo intestino formando uma massa sem aderência à parede abdominal	
4	Víscera diretamente aderida à parede abdominal, independente do número e extensão de bandas de aderência.	

4.6 TAMANHO DA AMOSTRA E ANÁLISE ESTATÍSTICA

Foi calculado que um tamanho da amostra de 12 animais por grupo forneceria ao estudo um poder estatístico maior que 95% na detecção de diferenças de médias de pelo menos duas unidades do escore, considerando-se que o desvio padrão da variável de desfecho (escore) não fosse maior que 1,3 unidades.

A comparação dos grupos foi realizada pelo teste não-paramétrico H de Kruskal-Wallis seguido de procedimento de post-hoc sobre ranks para a detecção de diferenças estatisticamente significativas entre os grupos. O nível de significância foi estabelecido em 5%. A análise foi conduzida com o programa SPSS versão 12.0.

5 RESULTADOS

5.1 ANÁLISE MACROSCÓPICA

Três animais morreram durante o experimento, sendo um no grupo 3 (indução anestésica) e dois no grupo 4 (4^o PO). No grupo 1 (controle), cinco desenvolveram aderências grau 2, sete desenvolveram aderências grau 3 e três desenvolveram aderências grau 4, todos classificados como aderências substanciais. Diferença estatisticamente significativa se observou nos demais grupos em relação ao grupo controle, sendo que no grupo 2 (Vitamina E) oito não desenvolveram aderências (grau 0), três desenvolveram aderências grau 1, dois desenvolveram aderências grau 2, e um animal desenvolveu respectivamente aderências grau 3 e grau 4 ($p < 0,001$); no grupo 3 (CBMC/HA), cinco animais não desenvolveram aderências (grau 0), seis desenvolveram aderências grau 1, e um animal desenvolveu respectivamente

5 RESULTADOS

aderências grau 2, 3 e 4 ($p = 0,001$) e, no grupo 4 (vitamina E + CBMC/HA), seis animais não desenvolveram aderências (grau 0), quatro desenvolveram aderências grau 1 e um animal respectivamente desenvolveu aderências graus 2, 3 e 4 ($p < 0,001$). (tabela 1). A comparação entre os grupos 2, 3 e 4 não demonstrou diferença estatisticamente significativa na formação de aderências.



Figura 1 - Ausência de aderências (Grau 0)

5 RESULTADOS



Figura 2 - Aderência Grau 1

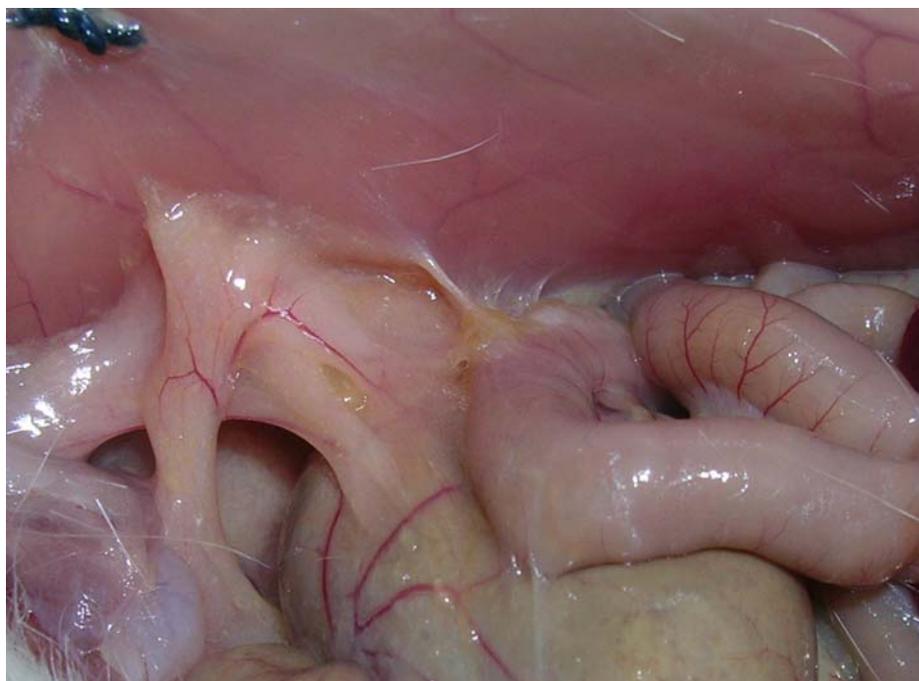


Figura 3 - Aderência Grau 3

5 RESULTADOS

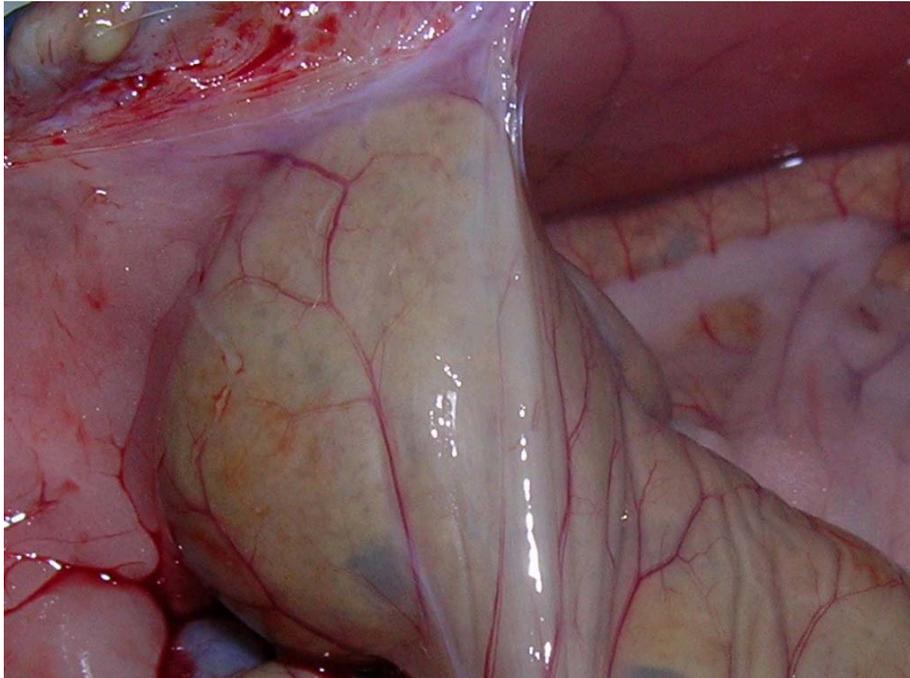


Figura 4 - Aderência Grau 4

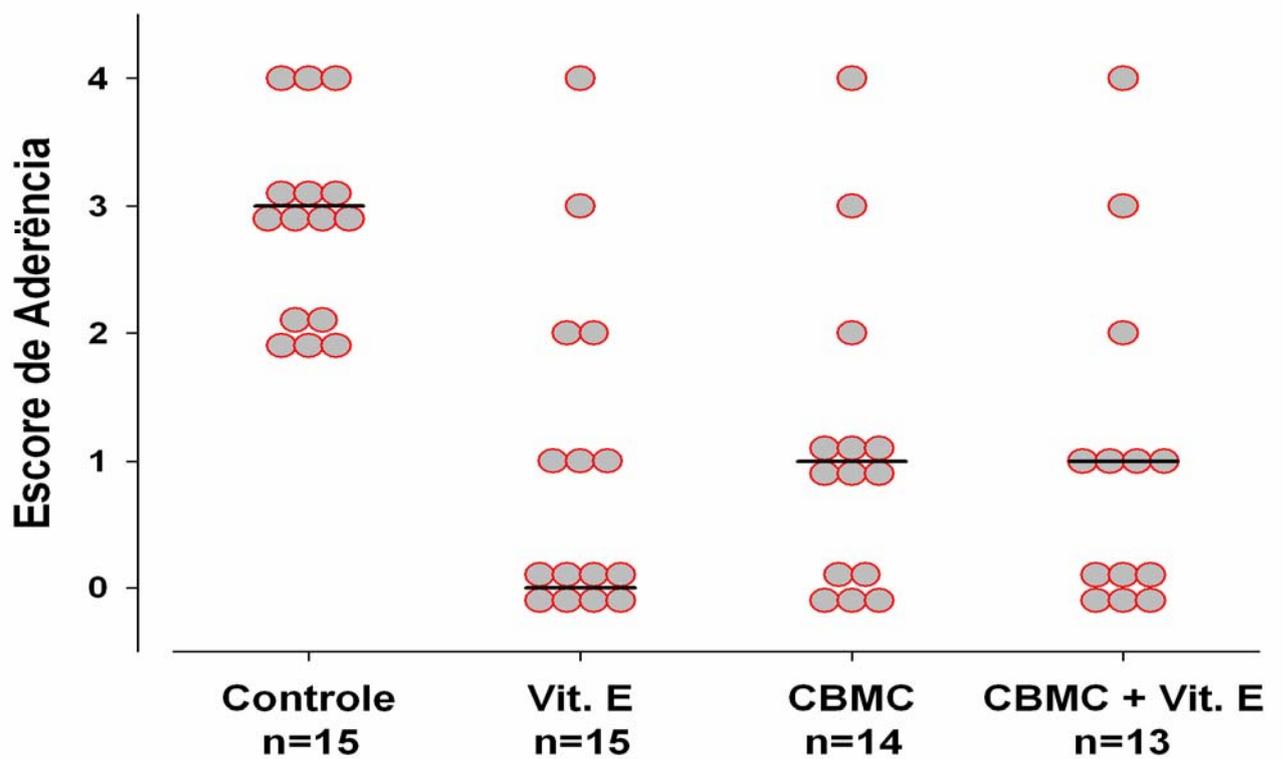


Figura 5 – Relação do grau de aderência distribuído entre os grupos

6 DISCUSSÃO

APO foram primeiramente documentadas em 1872, quando Thomas Bryant relatou um caso de evolução fatal devido à obstrução intestinal por aderências após uma cirurgia ginecológica (BRYANT, 1872). Durante a reoperação, a dissecação entre adesões de tecidos moles pode provocar complicações intra-operatórias, prolongamento do tempo cirúrgico (VAN DER KRABBEN, 2000), determinando, muitas vezes, várias hospitalizações, tratamento em unidade intensiva e custos maiores associados ao procedimento. O custo do tratamento devido às APO foi estimado em mais de 1,3 bilhões de dólares por ano nos Estados Unidos (RAY, 1998).

A inflamação peritoneal (peritonite) ocorre em resposta a uma variedade de estímulos infecciosos (bactérias, vírus, fungos e parasitas) e não infecciosos (traumas, cirurgias, agentes químicos e neoplasias) (SANTSCHLI, 1988; ELLIS, 1997). No peritônio inflamado há permeabilidade exacerbada do tecido, o que resulta em aumento do volume do fluido peritoneal e na

6 DISCUSSÃO

concentração de proteínas, com liberação de substâncias quimiotáticas e migração de leucócitos para o local.

A regeneração peritoneal é rápida e caracteriza-se por três fases: na primeira, ocorre reação inflamatória com infiltrado leucocitário e edema (semelhante aos outros tecidos); na segunda, a lesão é recoberta por exsudato de fibrina contendo hemácias e leucócitos, completando o processo cicatricial. Seguem-se os fenômenos de desbridamento, reparação e maturação de forma simultânea e não centrípeta. As células mesoteliais que recobrirão a lesão peritoneal originam-se de células mesenquimais indiferenciadas, de fibroblastos do tecido conjuntivo subjacente, das células descamadas de outras vísceras e do peritônio parietal (PEACOCK, 1984).

Uma série de fatores influencia o processo de cicatrização, tais como: espécie, porte do animal, sexo, traumas peritoneais, peritonite séptica, cirurgia prévia, suturas, aderências prévias, idade, má-nutrição, estresse crônico, uso de corticoesteróides, entre outros (PEACOCK, 1984). Acredita-se, atualmente, que a ocorrência de atividade fibrinolítica reduzida na cavidade peritoneal, alterando o balanço entre a coagulação e a fibrinólise, seja o mecanismo-chave para a formação de aderências peritoneais (BAXTER , 1991) .

Na verificação da formação das aderências, encontramos, na literatura, várias escalas para sua mensuração (HULKA, 1978; COHEN, 1983; GRANAT,

6 DISCUSSÃO

1983; LISKY, 1987; EVANS, 1993; KENNEDY, 1996; MORENO-EGEA, 1993; ROMAN, 2005). Foi utilizada a escala proposta por Nair (NAIR, 1974) com o objetivo de se assemelhar com estudo experimental (DE LA PORTILLA, 2005), em que foi utilizada vitamina E com aplicação intraperitoneal.

Existem na literatura trabalhos utilizando a vitamina E com o intuito de observar sua eficácia na inibição de aderências intraperitoneais pós-operatórias, através da administração via oral, intramuscular e intraperitoneal, com resultados diversos.

Hemadeh (1993) realizou estudo experimental, utilizando vitamina E via oral e verificando se havia efeito sinérgico na redução de aderências com uso combinado com CBMC/HA. Verificou diminuição na formação de aderências nos grupos, utilizando ambas substâncias, concluindo que ambos afetariam a atividade de elementos celulares e formação de fibroblastos através de diferentes vias.

Sanfilippo (1995) investigou o efeito da vitamina E na formação de aderências através da administração, por via oral, da substância no pré-operatório em estudo experimental com os animais sacrificados após 3 semanas da cirurgia e verificou não haver benefício na redução de adesões e na presença de fibrose entre os grupos.

6 DISCUSSÃO

Kagoma (1985) investigou o efeito da administração por via oral de vitamina E no pré-operatório em camundongos na redução de aderências e, após o sacrifício no décimo dia de pós-operatório, observou diferença estatisticamente significativa na incidência e grau de aderências nos animais tratados com vitamina E.

De La Portilla (2005) através de estudo experimental comparou o efeito da administração intramuscular e intraperitoneal em ratos, sendo este o único estudo na literatura a utilizar a via intraperitoneal, e concluiu que o uso da vitamina E intraperitoneal antes do fechamento da parede abdominal se mostrou efetivo na redução das APO, o mesmo não se observando com o uso da vitamina E por via intramuscular.

A vitamina E tem importante papel em manter a estabilidade de elementos celulares (plaquetas) e membranas de organelas, principalmente membranas lisossomiais (LUCY, 1964). A vitamina E também afeta a formação de aderências devido às suas propriedades antioxidantes, atuando na eliminação dos radicais livres gerados localmente e inibindo a peroxidação enzimática e não-enzimática dos lipídios, garantindo a integridade das membranas biológicas (LUCY, 1964). Além disso, a vitamina E mostrou ser capaz de inibir a liberação de serotonina pelas plaquetas, agregação das plaquetas e, conseqüentemente, a formação do trombo (DERESKA, 2006; MACHLIN, 1975; STEINER, 1979). Estes eventos provavelmente levam a uma redução na formação de fibrina e tromboplastina e, considerando o papel da

6 DISCUSSÃO

fibrina na formação das aderências, este é um dos mecanismos em que a vitamina E atua na redução da gênese de APO (HEMADEH, 1993).

A membrana de CBMC/HA mostrou ser efetiva na diminuição de APO em estudos experimentais e ensaios clínicos, sendo aprovada pelo FDA para uso clínico em dezembro de 1996.

Fazio (2006) em estudo clínico randomizado, prospectivo, multicêntrico, controlado e multinacional visando estabelecer se o uso da membrana CBMC/HA antes do fechamento reduziria o número de pacientes que desenvolveriam obstrução de intestino delgado. Para tanto estudou 1701 pacientes que foram submetidos à ressecção intestinal e randomizados para receber ou não a membrana CBMC/HA antes do fechamento da cavidade. Verificou, ao final de três anos e meio, que os pacientes controle desenvolveram mais casos de obstrução de intestino delgado comparados com o grupo CBMC/HA (3,4 x 1,8%), concluindo ainda que o uso da membrana CBMC/HA foi o único fator preditivo para reduzir o número de pacientes com obstrução do intestino delgado que necessitaram reoperação.

Ghellai (2000) em estudo experimental em ratos avaliou a eficácia do uso da membrana de CBMC/HA em presença de peritonite generalizada e verificou que seu uso não reduz a formação de aderências em vigência de peritonite, verificando, inclusive, uma tendência para a formação de abscessos no grupo que utilizou o material.

6 DISCUSSÃO

Tarhan (2005) avaliou a eficácia da membrana CBMC/HA na prevenção de aderências e o efeito na atividade fibrinolítica peritoneal. Para isso, utilizou a membrana em animais, através de modelo para formação de hérnias incisionais e mensurou, em biópsias peritoneais, a presença do ativador de plasminogênio tecidual (tPA), ativador da uroquinase plasminogênio (uPA) e o inibidor do ativador do plasminogênio (PAI) tipo 1 e 2. Verificou redução significativa das aderências com o uso da membrana, sem observar diferença nos níveis de tPA, PAI-1 e PAI-2 entre os grupos, porém os níveis de uPA estavam diminuídos no grupo da membrana, concluindo que os efeitos na prevenção de aderências da membrana não estão diretamente relacionados com a atividade fibrinolítica peritoneal e sim com as propriedades físicas como membrana (barreira, hidroflotação e efeito siliconizante).

Dinsmore (1999) estudou em coelhos a formação de aderências com o uso concomitante da membrana CBMC/HA e tela de polipropileno e verificou a efetividade na diminuição de aderências entre vísceras e a malha de polipropileno com o uso da membrana.

Em estudo pré-clínico em ratos e coelhos, (BURNS, 1997) foi verificada a eficácia e a segurança da membrana CBMC/HA em prevenir a formação de aderências, na presença de sangue, soluções de irrigação, em condições de isquemia e efeitos tóxicos no organismo. Verificou a redução na formação de aderências, mesmo na presença de sangue na cavidade, na presença de soluções de irrigação e em condições isquêmicas, além de ter se

6 DISCUSSÃO

mostrado não-tóxico, não-mutagênico, não-imunogênico, não-pirogênico, não-irritante peritoneal e biocompatível, concluindo que o uso da membrana CBMC/HA é eficaz e seguro.

Diamond (1996) realizou estudo clínico prospectivo, randomizado e multicêntrico com objetivo de verificar a efetividade e segurança do uso da membrana CBMC/HA em diminuir a formação de aderências uterinas após miomectomia. Utilizando 127 pacientes submetidas à miomectomia e mesnstrando as aderências por laparoscopia, verificou que o número de aderências na superfície uterina foi significativamente menor em pacientes tratados com a membrana.

Kusunoki (2005) em estudo prospectivo e randomizado em 62 pacientes após tratamento cirúrgico para câncer retal, utilizando a membrana CBMC/HA para avaliar sua efetividade em reduzir as APO e também observar a ocorrência de efeitos adversos nos pacientes após o tratamento com quimioterapia e radioterapia, verificou a efetividade da membrana na redução as aderências e não apresentou efeitos adversos nos resultados oncológicos destes pacientes.

Becker (1996) em estudo prospectivo, randomizado, multicêntrico, duplo-cego, utilizando 11 centros e 183 pacientes, que foram submetidos à proctocolectomia total com bolsa ileal e ileostomia protetora em alça por retocolite ulcerativa ou polipose familiar, utilizou membrana de

6 DISCUSSÃO

CBMC/HA na parede abdominal imediatamente antes do fechamento da incisão mediana. No momento do fechamento da ileostomia, 8 a 12 semanas após o procedimento inicial, foi utilizada a laparoscopia para avaliar a incidência, extensão e severidade da formação de aderências na linha média, e, dos 175 pacientes avaliados, 94% dos pacientes controles apresentavam aderências enquanto que 49% dos pacientes que receberam a membrana CBMC/HA apresentaram aderências, com significância estatística na redução da formação das aderências.

O resultado obtido neste estudo demonstra que a vitamina E utilizada de forma intraperitoneal é tão eficaz quanto a membrana CBMC/HA na redução da formação das APO, corroborando o resultado de outro estudo encontrado na literatura médica (De La Portilla , 2005) em que também é utilizada a vitamina E intraperitoneal. Neste estudo experimental, foi demonstrado que a vitamina E utilizando óleo de oliva como veículo diluente reduziu, em 80%, a formação de APO em relação a outros grupos, incluindo o grupo em que se utilizou apenas o óleo de oliva em aplicação intraperitoneal.

As membranas bioreabsorvíveis são atualmente os métodos mais utilizados na prática médica na tentativa de diminuir a formação das APO e, conseqüentemente, de suas complicações. Não podemos deixar de ressaltar que, em nosso meio, temos limitações em seu uso devido principalmente ao alto custo destes materiais, enquanto que com o uso da vitamina E obtemos efeito similar na redução das APO com custo infinitamente menor.

7 CONCLUSÃO

Neste estudo é demonstrado que o uso intraperitoneal de vitamina E é tão eficaz como o uso da membrana de CBMC/HA na prevenção da formação de aderências pós-operatórias em ratos.

8 REFERÊNCIAS

1. Avital S, Bollinger TJ, Wilkinson JD, Marchetti F, Hellinger M, Sands, LR. Preventing intra-abdominal adhesions with polylactic acid film: an animal study. *Dis Colon Rectum* 2005; 48:153-157.
2. Baxter GM. Intraabdominal adhesions in horses. *Compend Contin Edu Pract Vet* 1991; 13:1587-97.
3. Becker JM; Dayton MT; Fazio VW; Beck DE; Stryker SJ; Wexner SD; Wolff BG; Roberts PL; Smith LE; Sweeney SA; Moore M. Prevention of postoperative abdominal adhesions by a sodium hyaluronate-based bioresorbable membrane: a prospective, randomized, double-blind multicenter study. *J Am Coll Surg.* 1996; 184(4):297-306.
4. Belluco C, Meggiolaro F, Pressato D, Pavesio A, Bigon E, Donà M, Forlin M, Nitti D, Lise M. Prevention of postsurgical adhesions with an autocrosslinked hyaluronan derivative gel. *J Surg Res* 2001; 100(2):217-221.

8 REFERÊNCIAS

5. Bryant T. Clinical lectures on intestinal obstruction. *Med Tim Gaz.* 1872; 1:363-5.
6. Burns JW, Colt MG, Burgess LS, Skinner KC. Preclinical evaluation of Seprafilm bioresorbable membrane. *Eur J Surg Suppl* 1997; 577:40-48.
7. Childs WA, Phillips RB. Experience with intestinal placcation and a proposed modification. *Ann Surg* 1960; 152:258-265.
8. Cohen BM, Heyman T, Mast D. Use of intraperitoneal solutions for preventing pelvic adhesions in the rat. *J Reprod Med* 1983; 28:649-53.
9. Cox MR, Gunn IF, Eastman MC, et al. The operative aetiology and types of adhesions causing small bowel obstruction. *Aust N Z J Med* 1993; 63:848-852.
10. Crowe DT, Bjorling DE. Peritoneum and peritoneal cavity. In: Slatter DH, editor. *Textbook of Small Animal Surgery*. 2nd ed. Philadelphia: W. B. Saunders; 1993.p.407-30.
11. De La Portilla F, BScPharm IY, Bejarano D, Conde J, Fernández A, Ortega JM. Prevention of peritoneal adhesions by intraperitoneal administration of vitamin E: na experimental study in rats. *Dis Colon Rectum* 2005; 47:2157-2161.

8 REFERÊNCIAS

12. Diamond MP. Reduction of adhesions after uterine myomectomy by Seprafilm membrane (HAL-F): a blinded, prospective, randomized, multicenter clinical study. Seprafilm Adhesion Study Group. *Fertil Steril*. 1996; 66(6)904-910.
13. Desreska NH, McLemore EC, Tessier DJ, Bash DS, Brophy CM . Short-term, Moderate Dosage Vitamin E Supplementation May Have No Effect on Platelet Aggregation, Coagulation Profile, and Bleeding Time in Healthy Individuals. *Journal of Surgical Research* 2006 Mai; 132: 121-129.
14. Dinsmore RC, Calton WC Jr. Prevention of adhesions to polypropylene mesh in a rabbit model. *Am surg* 1999; 65:383-387.
15. Ellis H. The causes and prevention of intestinal adhesions. *Br J Surg* 1982; 69:241-3.
16. Ellis H. The clinical significance of adhesions: focus on intestinal obstruction. *Eur J Surg Suppl* 1997; (577):5-9.
17. Ellis H. Medicolegal consequences of adhesions. *Hosp Med*, June 2004; 65(6):348-350.
18. Evans DM, McAree K, Guyton DP,, et al. Dose dependency and wound healing aspects of the use of tissue plasminogen activator in the

8 REFERÊNCIAS

- prevention of the intra-abdominal adhesions. *Am J Surg* 1993; 165:229-32.
19. Fazio VW, Cohen Z, Fleshman JW, van Goor H, Bauer JJ, Wolff BG, Corman M, Beart RW, Wexner SD, Becker JM, Monson JR, Kaufman HS, Beck DE, Bailey HR, Ludwig KA, Stamos MJ, Darzi A, Bleday R, Dorazio R, Madoff RD, Smith LE, Gearhart S, Lillemoe K, Göhl J. Reduction in adhesive small-bowel obstruction by Seprafilm adhesion barrier after intestinal resection. *Dis Colon Rectum* 2006; 49(1):1-11.
20. Gervin AS, Puckett CL, Silver D. Serosal hypofibrinolysis: A cause of postoperative adhesions. *Am J Surg* 1973; 125:80-88.
21. Ghellai AM, Stucchi AF, Lynch DF, Skinner KC, Colt MJ, Becker JM. Role of hyaluronate-based membrane in the prevention of peritonitis-induced adhesion. *J Gastrointest Surg* 2000; 4:310-315.
22. Gomel V, Urman B, Gurgan T. Pathophysiology of adhesion formation and strategies for prevention. *J Reprod Med* 1996; 41:35-41.
23. Graebe RA, Oeslsner G, Cornelison TL, Pan SB, Haseltine FP, De Cherney AH. An animal study of different treatments to prevent postoperative pelvic adhesions. *Microsurgery* 1989; 10:53-5.

8 REFERÊNCIAS

24. Granat M, Tur-Kaspa I, Zylber-Kast E, Schenker JG. Reduction of adhesion formation by colchicines: a comparative study in the rat. *Fertil Steril* 1983; 40:369-72.
25. Guvenal T, Cetin A, Ozdemir H, Yanar O, Kaya T. Prevention of postoperative adhesion formation in a rat uterine horn model by nimesulide: a selective COX-2 inhibitor. *Hum PReprod* 2001; 16:1732-5.
26. Hellebrekers BW, Trimbos-Kemper GC, Van Blitterswijk CA, Bakkum EA, Trimbos JB. Effects of five different barrier materials on postsurgical adhesion formation in the rat. *Hum Reprod*. 2000 Jun 15(6):1358-63.
27. Hemadeh O, Chilokuri S, Bonet V, Hussein S, Chaudry IH. Prevention of peritoneal adhesions by administration of sodium carboxymethyl cellulose and oral vitamin E. *Surgery* 1993; 114:907-10.
28. Howard FM. The role of laparoscopy in the chronic pelvic patient. *Clin Obstet Gynecol*. 2003 Dec;46(4):749-66. Review. No abstract available. PMID: 14595216 [PubMed – indexed for MEDLINE]
29. Hulka JF, Omran K, Berger GS. Classification of adnexal adhesions: A proposal and evaluation of its prognostic value. *Fertil Steril* 1978; 30:661.

8 REFERÊNCIAS

30. Jackson EK. Intraperitoneal administration of adenosine inhibits formation of abdominal adhesions. *Dis Colon Rectum* 2004; 47:1390-1396.
31. James DCO, Ellis H, Hugh TB. The effect of streptokinase on experimental intraperitoneal adhesion formation. *J Pathol Bacteriol* 1965;90:279-287.
32. Kagoma P; Burger SN; Seifter E; Levenson SM; Demetriou AA. The effect of vitamin E on experimentally induced peritoneal adhesions in mice. *Arch Surg* 1985; 120(8):949-51.
33. Kappas AM; Barsoum GH; Ortiz JB; Keighley MR. Prevention of peritoneal adhesions in rats with verapamil, hydrocortisone sodium succinate, and phosphatidylcholine. *Eur J Surg* 1992; 158(1):33-5.
34. Kavic SM, Kavic SM. Adhesions and adhesiolysis: the role of laparoscopy. *J Soc Laparoendosc Surg* 2002; 6:99-109.
35. Kennedy R, Costain DJ, McAlister VC, Lee TDG. Prevention of experimental postoperative peritoneal adhesions by N,O-carboxymethyl chitosan. *Surgery* 1996; 120:866-870.
36. Kusunoki M; Ikeuchi H; Yanagi H; Noda M; Tonouchi H; Mohri Y; Uchida K; Inoue Y; Kobayashi M; Miki C; Yamamura T. Bioresorbable hyaluronate-carboxymethylcellulose membrane (Seprafilm) in surgery for

8 REFERÊNCIAS

- rectal carcinoma: a prospective randomized clinical trial. *Surg Today* 2005; 35(11):940-945.
37. Liakakos T, Thomakos N, Fine PM, et al. peritoneal adhesions: etiology pathophysiology and clinical significance. Recent advances in prevention and management. *Dis Surg* 2001; 18:260.
38. Lisky C, Diamond M, Cunningham T. Adhesion reduction in the rabbit uterine horn model using and absorbable barrier TC-7. *J Reprod Med* 1987; 32:17-20.
39. Lucy JA, Dingle JT. Fat soluble vitamins and biological membranes. *Nature* 1964; 204:156-60.
40. Machlin LJ, Filipiski R, Wilis AL Kuhn DC, Brin M. Influence of vitamin E on platelet aggregation and thrombocythemia in the rat. *Proc Soc Exp Biol Med* 1975; 149:275-7.
41. Menzies D, Elis H. Intestinal obstruction from adhesions – how big is the problem? *Ann R Coll Engl* 1990; 72:60-3.
42. Menzies D. Peritoneal adhesions: incidence, cause, and prevention. *Surg Ann* 1992; 24:27-45.
43. Menzies D. Postoperative adhesions: their treatment and relevance in clinical practice. *Ann Royal Coll Surg Eng* 1993; 75:147-153.

8 REFERÊNCIAS

44. Moreno-Egea A, Aguayo JL, Zambudio G, Parrilla P. Influence of different aetiological agents in the formation of postoperative peritoneal adhesions: experimental study in rats. *Dig Surg* 1993; 10:101-5.
45. Nair SK, Bath IK, Aurora AL. Role of proteolytic enzymes in the prevention of post-operative intraperitoneal adhesions. *Arch Surg* 1974; 11:273-80.
46. Noble TB Jr. Plication of small intestine as prophylaxis against adhesions. *Am J Surg* 1937; 35:41-44.
47. Oncel M, Remzi FH, SEnagore AJ, Connor JT, Fazio VW. Application of Adcon-P or seprafilm in consecutive laparotomies using a murine model. *The Am J Surg* 2004; 187:304-8.
48. Peacock EE Jr. *Wound repair*. 3rd ed. Philadelphia: W. B. Saunders. 1984 .p.526.
49. Ray FN, Denton WG, Thamer M, Henderson SC, Perry S. Abdominal adhesiolysis: inpatient care and expenditure in the United States in 1994. *J Am Coll Surg* 1998; 186:1-9.
50. Roman H, Canis M, M Kamble, Botchorishvili R, Pouly JL, Mage G. Bipolar coagulation and adhesions. *Fertil Steril* 2005; 83:1113-1118.

8 REFERÊNCIAS

51. Sanfilippo JS; Booth RJ; Burns CD. Effect of vitamin E on adhesion formation. *J Reprod Med* 1995 Apr. 40(4):278-82.
52. Santschi EM, Grindem CB, Tate LP Jr, Corbett WT. Peritoneal fluid analysis in ponies after abdominal surgery. *Vet Surg* 1988; 17:6-9.
53. Steiner M. Inhibition of platelet aggregation by alpha-tocopherol. In: de Duve C, Hayaishi O, eds. *Tocopherol, oxygen, and biomembranes proceedings*. Amsterdam: Elsevier, 1979:143-63.
54. Sulamain H, Gabella G, Davis C, Mutsaers SE, Boulos P, Laurent GJ, Herrick SE. Growth of nerve fibres into murine peritoneal adhesions. *J Pathol*. 2000 Nov;192(3):396-403.
55. Tarhan OR. Effects of Seprafilm on peritoneal fibrinolytic system *ANZ J. Surg.* 2005; 75: 690-692
56. Van Der Krabben AA, Dijkstra FR, Nieuwenhuijzen M, ReijnenMM, Schaapveld, e Van Goor H: Morbidity and mortality of inadvertent enterotomy during adhesiostomy. *Br J Surg* 2000 87: 467-71.
57. Watson A, Vandekerckhove P, Lilford R. Liquid and fluid agents for preventing adhesions after surgery for subfertility. *Cochrane Database Syst Rev* 2000; (3):CD001298.

8 REFERÊNCIAS

58. Wiseman DM, Franklin RR, Diamond MP. Metaanalysis of the safety and efficacy of an adhesion barrier (Intercced TC&) in laparotomy. *Journ Reprod Med* 1999; 44(4):325-331.
59. Yoldemir T, Sagol S, Adakan S, Oztekin K, Ozsener S, Karadadas N. Comparasion of the reduction of postoperative adhesions by two barriers, one solution, and two pharmacological agents in the rat uterine model. *Fertil Steril* 2002 Aug 78(2):335-9.