

VIABILIDADE DO BAÇO DE RATOS APÓS A LIGADURA DOS VASOS ESPLÊNICOS : EFEITO DO TRATAMENTO COM OXIGÊNIO HIPERBÁRICO

DANILO NAGIB SALOMÃO PAULO*, MITRE KALIL, LUIZ SÉRGIO PEREIRA GRILLO JUNIOR, ERICK BARCELOS BORGES, LUIZ CÁLICE CINTRA, FAUSTO EDMUNDO LIMA PEREIRA, ALCINO LÁZARO DA SILVA

Trabalho realizado no Laboratório de Técnica Operatória e Cirurgia Experimental da Escola Superior de Ciências da Santa Casa de Misericórdia de Vitória, ES

RESUMO - OBJETIVO. Verificar o efeito da ligadura dos vasos esplênicos principais no baço de ratos e a influência do tratamento com o oxigênio hiperbárico após a ligadura.

MÉTODOS. Foram operados 69 ratos Wistar, machos, de 285g a 375 g. Os animais foram divididos aleatoriamente em três grupos: grupo 1: quatro ratos, simulação; grupo 2: 34 ratos, ligadura simultânea da artéria e veia esplênica; grupo 3: 31 ratos, ligadura da artéria e veia esplênica seguida de oxigenioterapia hiperbárica no pós-operatório por 11 dias, sendo mortos no 12º dia. O baço era retirado e incluído em parafina para estudo microscópico.

RESULTADOS. O baço era normal em 8,82% e 45,16%, respectivamente, no grupo que sofreu a ligadura vascular sem ou com oxigenioterapia hiperbárica ($p=0,01$). O percentual de massa viável do tecido esplênico nos baços que infartaram em relação ao

percentual da massa corporal dos animais não diferiu entre os grupos 2 e 3. O aspecto histopatológico mostrou arquitetura preservada na porção não infartada nos dois grupos e neoformação conjuntivo-vascular cicatricial mais acentuada no grupo que recebeu oxigênio hiperbárico.

CONCLUSÕES. O tratamento com oxigênio hiperbárico, a partir do pós-operatório imediato, após a ligadura simultânea da artéria e da veia esplênicas, reduziu significativamente a frequência dos infartos, mas não alterou o percentual de massa viável dos baços, quando o infarto ocorreu, e acelerou o processo de cicatrização, com aumento da proliferação de fibroblastos e da neoformação vascular.

UNITERMOS: Radiobiologia. Baço. Infarto do baço. Ratos de laboratório.

INTRODUÇÃO

A ligadura da artéria esplênica, em ratos normais, reduz a massa funcional do baço¹, combate o hiperesplenismo induzido por ligadura da veia esplênica^{2,3} e a hipertensão porta experimental⁴. A ligadura isolada da veia esplênica no rato induz hiperesplenismo³. Os resultados de ligadura simultânea de artéria e da veia esplênicas não têm sido descritos em modelos experimentais. Há relato da ligadura simultânea da artéria e veia esplênicas em pacientes durante a pancreatemia caudal, mas sem informação sobre as conseqüências para o baço^{5,6,7}.

A oxigenioterapia hiperbárica (OHB) reduziu a lesão de reperfusão após isquemia, quando administrada antes da oclusão coronariana em ratos⁸, na fase de reperfusão em coelhos⁹ e em cães¹⁰. Na isquemia cerebral focal, em ratos, a OHB reduziu a lesão verificada sem reperfusão^{11,12}, com reperfusão imediata^{13,14} ou com seis horas de reperfusão¹⁵. Resultado

semelhante, demonstrado pela redução do tamanho da área do infarto, foi relatado em cérebro de gatos observados nas três primeiras horas após a isquemia¹⁶. Proteção também foi observada no cérebro de ratos^{11,17} e de gerbilos¹⁸, após a ligadura da carótida.

Já nos modelos de isquemia do intestino delgado, o efeito da OHB apresentou resultados limitados, tendo sido observada proteção parcial apenas para segmentos isquemiados com 3 cm de extensão, fato não observado quando o segmento isquemiado era maior¹⁹. Efeito protetor do oxigênio hiperbárico foi demonstrado por meio de estudo morfométrico na enteropatia após irradiação em camundongos²⁰ e na isquemia e reperfusão em ratos²¹.

Ausência de proteção da OHB na isquemia cerebral focal permanente (4 horas) foi também relatada por Hjelde et al.²² Efeitos divergentes da OHB dependente do tempo de observação foram relatados em ratos com isquemia cerebral seguida de reperfusão. No grupo tratado com OHB e avaliado 3 e 6 horas após a reperfusão, houve redução significativa da área infartada, mas nos grupos examinados 12 ou 23 horas após houve aumento significativo da área de necrose¹⁵.

Diferenças nos relatos sobre o efeito da OHB após isquemia em diferentes órgãos podem estar relacionadas não só ao momento em que se instituiu o tratamento, mas também à pressão da câmara hiperbárica e ao tempo da oxigenioterapia^{8,23}.

Como a ligadura simultânea da artéria e veia esplênicas produz no baço uma isquemia e como se demonstra que a OHB pode proteger um órgão da lesão isquêmica, decidiu-se investigar se o oxigênio hiperbárico aplicado após a ligadura simultânea da artéria e veia esplênica protege ou não o baço de ratos.

MÉTODOS

Foram utilizados 69 ratos machos, Wistar, provenientes do biotério da Escola Superior de Ciências da Saúde da Santa Casa de Misericórdia de Vitória (EMESCAM), com peso entre 238g a 407g. Os animais foram divididos aleatoriamente em três grupos: grupo 1-simulação: quatro ratos que serviram para controle; grupo 2: 34 ratos, que foram submetidos à ligadura do tronco principal dos vasos esplênicos (artéria e veia); grupo 3: 31 ratos, que foram submetidos à ligadura dos vasos esplênicos e oxigenioterapia hiperbárica no pós-operatório.

*Correspondência:

Rua Santa Rita de Cássia, 777

Telefone: (27) 3222-1545 - Fax: (27) 3323-4827

Bairro de Lourdes - 29042-753 - Vitória-ES

A manipulação dos animais atendeu às normas de pesquisa em animais preconizadas pelo Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA).

A anestesia dos animais foi inalatória com éter etílico. Após, realizou-se a depilação das paredes abdominal e torácica ventral. Fez-se a antisepsia com solução de álcool iodado e colocação de um campo operatório fenestrado para delimitar o local da laparotomia.

Nos animais do grupo 1, fez-se incisão longitudinal, mediana, da pele e do subcutâneo, com cerca de 2,5 cm de comprimento, iniciada 0,5 cm abaixo do processo xifóide em direção ao púbis. Após, abriu-se a linha alba e o peritônio. Realizou-se o inventário da cavidade abdominal e a manipulação do baço. A seguir suturou-se a parede abdominal em dois planos: aponeurose com "mononylon" 4-0, chuleio simples e a pele com 4-0, chuleio simples. Nos animais dos grupos 2 e 3, fez-se laparotomia mediana longitudinal, na mesma extensão do grupo 1, e exploração da cavidade abdominal. A seguir, dissecou-se o tronco principal dos vasos esplênicos. A cerca de 1,4 cm da borda hilar do baço, fez-se a ligadura simultânea da artéria e veia esplênicas em dois locais (Figura 1). A seguir, suturou-se a parede abdominal de maneira idêntica à do grupo 1. Os animais do grupo 3 foram submetidos ao oxigênio hiperbárico no pós-operatório, com o seguinte protocolo: imediatamente após a operação, os animais eram colocados na câmara hiperbárica com capacidade para seis animais instalados confortavelmente. A câmara hiperbárica utilizada tem formato cilíndrico-capsular construída com aço carbono, com medidas externas de 51 cm de comprimento e 27 cm de diâmetro e espessura de 1,5 cm. Apresenta dois visores de 6 cm de diâmetro em acrílico localizados nas paredes laterais, uma porta de entrada e saída em uma de suas extremidades. Adaptados à câmara, há um quadro de apoio em aço carbono e na parte superior encontram-se um manômetro, uma válvula de segurança, um silencioso e um termômetro. Possui ainda uma entrada para mangueira de alta pressão conectada a um outro manômetro e a um cilindro de oxigênio. Neste equipamento foi realizado teste hidrostático a uma pressão de 10 atm, dando ampla margem de segurança para o estudo, cuja pressão não ultrapassou 2,5 atm. A descrição pormenorizada está na legenda da

Figura 1 - Esquema mostrando os locais onde foram realizadas as ligaduras da artéria e da veia esplênicas do baço de ratos

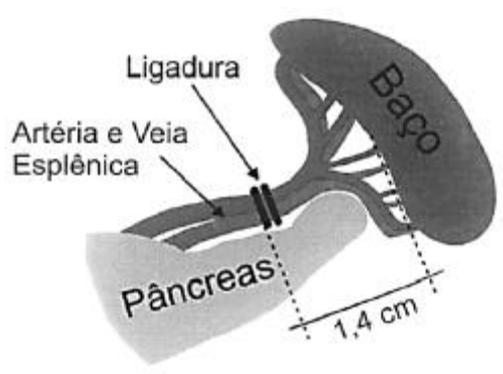


Figura 2 - Modelo de câmara hiperbárica utilizado adaptado ao sistema para infusão de oxigênio. A- Porta de acesso; B- Tubo de oxigênio que vem do cilindro adaptado à válvula de admissão de oxigênio para compressão.; C- Válvula de descompressão; D- Manômetro para controle de pressão; E- Visor; F-Termômetro; G- Manômetro para 3,5 Kg



Figura 2. Essa câmara difere de outras fabricadas com acrílico²⁴ por não ser transparente, não permitindo a observação dos animais durante o experimento. Os animais do grupo 3 eram colocados dentro da câmara, onde a pressão era elevada gradativamente, num período de 15 minutos, até 2,5 atmosferas. Assim permaneciam por 90 minutos, com discreto vazamento na câmara para eliminar especialmente o gás carbônico, mas com manutenção constante da pressão no interior da câmara. A seguir, a câmara era despressurizada gradativamente, num período de 15 minutos, e os animais eram devolvidos às suas caixas, mantidos em temperatura e luminosidade naturais, com água e ração comercial à vontade. Esse procedimento foi repetido diariamente por 11 dias.

Os animais operados foram mortos no 12º dia de pós-operatório com dose letal de éter etílico. Foi feita uma incisão em U na parede abdominal e, após exploração da cavidade, foram anotados os aspectos das vísceras abdominais, a presença de aderências e o aspecto do baço. O baço foi retirado, pesado e fixado em formol a 4%. Após a fixação, cada baço era seccionado no limite entre a área infartada e a área preservada, e os dois fragmentos pesados separadamente, com precisão de 0,001g. Obteve-se a relação entre a massa de tecido esplênico preservado e a massa corporal para cada animal com infarto branco evidente. Os dois fragmentos de cada baço com infarto e fragmentos dos baços totalmente preservados eram incluídos em parafina, e os cortes, corados

pela hematoxilina e eosina. Para comparar as freqüências de infarto branco nos grupos 2 e 3 foi utilizado o teste exato de Fisher. Para comparar o percentual da massa viável dos baços foi utilizado o teste t de Student não pareado. Todos os testes foram bicaudais, e fixou-se em 0,05 o nível de rejeição da hipótese de nulidade.

RESULTADOS

Houve um óbito durante a anestesia. O tempo operatório variou de 6 a 20 minutos. Não houve complicações transoperatórias que resultassem em mortalidade. Houve sangramento próximo ao apêndice xifóide em um animal, que foi imediatamente controlado. Em outro animal, houve pequeno sangramento no baço por trauma cirúrgico, que parou espontaneamente. Em um rato houve uma pequena lesão no cólon que foi suturada.

No pós-operatório, observamos deiscência parcial da sutura da pele com secreção na parede abdominal em 21 (61,7%) dos 34 animais do grupo 2, e em 11 (35,4%) dos 31 animais do grupo 3, diferença não significativa ($p=0,061$). Houve um óbito por evisceração pós-operatória.

Foram observadas aderências em todos os ratos. Eram mais freqüentes, intensas e firmes nos animais dos grupos 2 e 3. Em alguns casos foi observado granuloma de tipo corpo estranho em torno do fio utilizado para ligadura dos vasos esplênicos.

O baço tinha aspecto macroscópico normal, exceto por algumas aderências frouxas, em todos os casos do grupo simulação.

Houve infarto branco parcial do baço em 31 (91,18%) dos 34 animais no grupo com ligadura, sem oxigenoterapia, e em 17 (54,84%) dos 31 animais do grupo com ligadura e submetido ao oxigênio hiperbárico, diferença estatisticamente significativa ($p=0,001$). A comparação da relação entre massa de tecido esplênico preservado e o peso corporal (percentual de massa viável) nos grupos submetidos à ligadura vascular, com ou sem oxigênio hiperbárico, que apresentaram infartos brancos, não mostrou diferença estatisticamente significativa ($0,112 \pm 0,031$ nos sem oxigênio hiperbárico e $0,119 \pm 0,034$ nos submetidos ao oxigênio hiperbárico ($p=0,49$)) (Tabela 1).

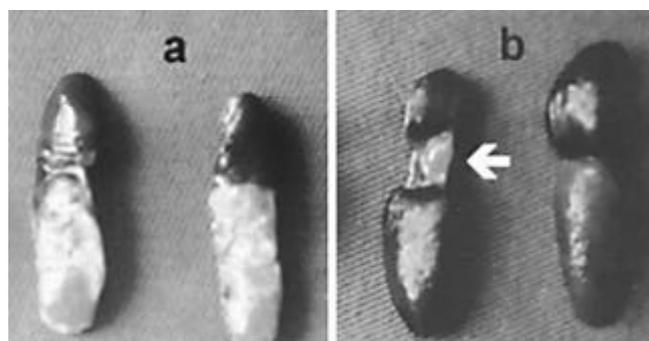
Os infartos eram localizados, em todos os

Tabela 1 - Efeitos da ligadura simultânea dos vasos esplênicos no baço de ratos

Variáveis	Tratamento com oxigênio hiperbárico		p
	Não (34 ratos)	Sim (31 ratos)	
Presença de infarto: N (%)			
Sim	31 (91,18)	17 (54,84)	0,001*
Não	3 (8,82)	14 (45,16)	
% massa do baço/massa corporal (média \pm DP)	$0,112 \pm 0,031$	$0,119 \pm 0,034$	0,490**
Localização do infarto: N (%)			
Porção inferior	27(87,09)	14 (82,40)	0,680*
Porção média	4 (12,90)	3 (17,60)	
Deiscência de sutura da pele: N (%)	21 (61,70)	11 (35,40)	0,060*

* Teste exato de Fisher ** Teste t de Student, não pareado

Figura 3 - Aspecto macroscópico do baço após a ligadura simultânea da artéria e veia esplênicas: a) Infartos brancos localizados no polo inferior; b) Infarto branco localizado na porção média do órgão (seta)

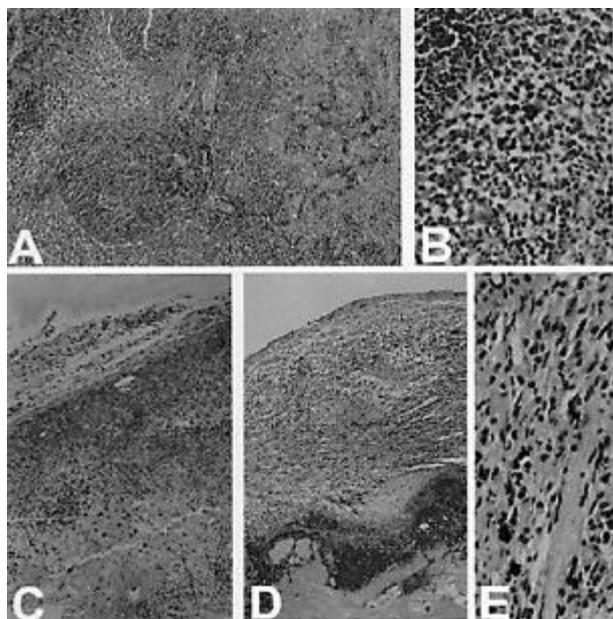


animais, com maior freqüência na porção inferior do órgão (84,7% de todos os baços, 87,09% no grupo sem oxigênio hiperbárico e 82,4% no grupo que recebeu oxigênio hiperbárico ($p=0,68$)) (Tabela 1). Em 14,3% dos baços o infarto era localizado na porção média do órgão (Figura 3).

A análise microscópica mostrou arquitetura normal nos baços do grupo simulação. Nos baços dos animais submetidos à ligadura simultânea da artéria e veia esplênicas, submetidos ou não à oxigenoterapia, o aspecto era semelhante no segmento preservado. Havia acentuada hiperemia passiva da polpa vermelha, com sinusóides muito distendidos, deixando bem delimitada a polpa branca, que tinha arquitetura normal; e a quantidade de tecido linfático nos folículos e na bainha periarterial era aparentemente normal. Na zona marginal observou-se depósito de hemossiderina, menos intenso no grupo que recebeu oxigênio hiperbárico. Nas áreas infartadas, o aspecto foi diferente entre os animais que receberam ou não o oxigênio

hiperbárico, especialmente em relação à neoformação conjuntiva e vascular do processo cicatricial da área infartada. Nos dois grupos observaram-se restos de tecido necrótico, com extensa cariólise, e áreas focais com picnose nuclear e cariorrexe. No grupo que recebeu oxigênio hiperbárico havia restos de tecido linfático aparentemente viável no meio do tecido necrosado. A neoformação conjuntiva e vascular era evidente no limite entre o tecido preservado e o necrótico e a partir da cápsula externa, dirigindo-se para o interior da massa necrosada. Essa proliferação fibroblástica e endotelial, com neoformação vascular, era mais proeminente nos animais que receberam o oxigênio hiperbárico. Em um animal que recebeu oxigênio hiperbárico e que tinha o baço totalmente preservado, havia fibrose e neoformação vascular acentuada na cápsula, em um dos pólos dos órgãos. Em todos os animais havia nas zonas de cicatrização quantidade variável de macrófagos carregados de hemossiderina (Figura 4).

Figura 4 - Aspectos microscópicos do baço de ratos submetidos à ligadura simultânea da artéria e veia esplênicas, tratados ou não com oxigênio hiperbárico no pós-operatório. A. Arquitetura conservada, com folículos linfáticos e bainha periarterial preservados. Intensa dilatação dos sinusoides (ligadura da artéria e veia, sem tratamento com oxigênio hiperbárico). B Detalhe da figura A, mostrando zona marginal de um folículo com macrófagos cheios de hemossiderina. C . Área infartada do baço mostrando a neoformação conjuntiva reparadora a partir da cápsula em rato com a ligadura vascular, sem tratamento com oxigênio hiperbárico. D. Área infartada do baço de animal com ligadura do pedículo vascular e tratado com oxigênio hiperbárico: observar a intensa neoformação conjuntiva e vascular a partir da cápsula, maior do que na figura C. E. Detalhe da figura D mostrando macrófagos com hemossiderina no tecido conjuntivo cicatricial formado a partir da cápsula



DISCUSSÃO

A ligadura simultânea dos vasos esplênicos produziu infarto branco parcial, mais freqüente na metade inferior do órgão, em 84,7% dos animais. Isso demonstra que a circulação colateral do baço foi eficaz para manter viável todo o órgão em alguns animais. Segundo Petroianu²⁵, o pólo superior pode ser perfeitamente suprido por vasos esplenogástricos. No entanto, uma porção maior que o pólo superior esteve viável, demonstrando que, além dos vasos esplenogástricos, há outros que, no rato, suprem a referida porção. De fato, durante o procedimento de ligadura vascular e no grupo simulação, observamos a presença de vasos que saíam da artéria esplênica, em pontos anteriores ao da ligadura, e se dirigiam à porção superior do baço (dados não mostrados). A ocorrência de infarto na porção média do órgão, com preservação das áreas polares superior e inferior, mostra que a distribuição e a eficácia da circula-

ção colateral não são uniformes. Nesses casos, ramos colaterais que irrigam a área polar inferior e polar superior supriram a circulação, impedindo a necrose nessa área.

É interessante observar que, apesar de não ter havido diferença estatisticamente significativa entre o percentual médio de massa viável/peso do baço do grupo 2 em relação ao grupo 3 ($p=0,49$; Tabela 1), houve um número significativamente maior de baços normais no grupo 3 em relação ao grupo 2 ($p=0,001$). A ocorrência de um número menor de baços infartados nos animais submetidos à ligadura vascular seguida de oxigenoterapia nos leva a admitir que o oxigênio hiperbárico contribuiu para aumentar a viabilidade do tecido esplênico após a isquemia induzida pela ligadura da artéria e veia esplênicas. Essa observação confirma o observado na isquemia cerebral, com ou sem reperfusão em ratos, na isquemia e reperfusão intestinal em ratos e na isquemia

miocárdica, com ou sem reperfusão em ratos, coelhos e cães^{8-15,17,18,21}.

Quanto ao tempo de exposição (90 minutos) e à pressão do oxigênio (2,5 atm) utilizado, ambos nos pareceram adequados. De fato, observações experimentais em coelhos e ratos, nas quais houve variação da pressão do oxigênio e do tempo de exposição, demonstraram que os melhores resultados foram obtidos com a pressão de até 3 atm e duração máxima de duas horas^{8,23}.

Quanto aos possíveis mecanismos dessa proteção, o nosso experimento é limitado para levantar hipóteses, pois a observação final foi feita 11 dias após a isquemia, não nos permitindo observar fenômenos mais precoces e possivelmente mais importantes para a manutenção da viabilidade do tecido isquêmico. Os autores que têm estudado o efeito da oxigenoterapia hiperbárica na proteção de tecidos isquêmicos têm admitido que a proteção pode ser exercida pelo menor afluxo de neutrófilos para a área necrosada¹², pelas modificações de mediadores locais como redução da dopamina no tecido nervoso¹³ e pelo favorecimento da instalação de circulação colateral¹⁸ desencadeado pela presença de maior taxa de oxigênio. Além, é claro, do aumento da taxa de oxigênio disponível no tecido isquêmico que pode aumentar a preservação de moléculas importantes na sobrevivência das células. Em modelo experimental de isquemia-reperfusão de músculo em ratos, demonstrou-se preservação dos níveis de creatinafosfato, ATP, glicogênio e glicose, além de redução do edema da parede vascular, nos animais submetidos ao oxigênio hiperbárico²⁶. O aumento da angiogênese seria outro mecanismo facilitador da revascularização²⁷.

Embora haja evidência de que o oxigênio hiperbárico possa interferir com a reologia dos eritrócitos²⁸, o impacto real dessa alteração na microcirculação de órgãos isquêmicos não é conhecido.

O processo de cicatrização esteve acelerado no grupo com ligadura vascular que recebeu oxigênio hiperbárico. O aumento do tecido de granulação, com angiogênese mais evidente na área de infarto branco, e a menor freqüência de deiscência de ferida em ratos tratados com oxigênio hiperbárico (35,4% - grupo 3 versus 61,7% - grupo 2, $p=0,06$) são evidências indiretas do aumento da capacidade de cicatrização induzida pelo OHB, conforme admitido por alguns pesquisadores^{29,30,31}.

O aumento da angiogênese, no entanto, provavelmente não influenciou na sobrevivência do tecido esplênico, porque a massa de tecido esplênico preservada foi similar entre os grupos tratados ou não tratados com OHB.

Em conclusão, os resultados aqui apresentados demonstraram que, após a ligadura simultânea da artéria e da veia esplênicas, o tratamento com oxigênio hiperbárico reduziu significativamente a frequência dos infartos, mas não alterou o percentual de massa viável dos baços, quando o infarto ocorreu, e acelerou o processo de cicatrização, com aumento da proliferação de fibroblastos e da neoformação vascular.

Embasados nesse estudo, novas pesquisas estão planejadas no sentido de estudar o efeito da OHB na viabilidade e função dos implantes e remanescentes esplênicos após esplenectomias subtotais e a sua aplicação no pré-operatório das operações conservadoras sobre o baço.

Conflito de interesse: não há.

SUMMARY

VIABILITY OF THE SPLEEN IN RATS AFTER LIGATION OF THE SPLENIC VESSELS: EFFECTS OF HYPERBARIC OXYGEN THERAPY

OBJECTIVE. To investigate the effects of splenic artery and vein ligation and the influence of hyperbaric oxygen after the double vascular ligation on the viability of spleen tissue. **Methods:** Sixty nine adult male Wistar rats (285-375g) were randomly separated in three groups: group 1, four rats, sham operated, group 2, 34 rats, submitted to simultaneous splenic artery and vein ligation and group 3, 31 rats, submitted to hyperbaric oxygen during 11 days, after double vascular ligation. All animals were killed on day 12 after surgery. The spleen was removed and paraffin embedded for microscopic examination.

RESULTS. In the groups submitted to vascular ligation, the spleen was normal in 8.82% of rats not treated with hyperbaric oxygen and in 45.16% of rats that received hyperbaric oxygen after vascular ligation ($p=0.01$). In the spleens with white infarct, the mass of preserved splenic tissue in relation to the total body mass did not differ between the groups treated or not with hyperbaric oxygen. The preserved splenic tissue had normal histology in both groups. The healing process was more accelerated in the group of rats treated with hyperbaric oxygen.

CONCLUSIONS. Results demonstrate that exposure to hyperbaric oxygen increased the frequency of total spleen mass preservation after simultaneous ligation of the splenic artery and vein but did not alter the

percentage of the spleen's viable area, however the healing process in necrotic areas was accelerated.

KEY WORDS: Radiobiology. Spleen. Spleen infarct. Laboratory rats. [Rev Assoc Med Bras 2005; 51(1): 46-50]

REFERÊNCIAS

1. Witte CL, Corrigan JJ, Witte MH, O'Mara RE. Splenic artery ligation in experimental hypersplenism. *Surgery* 1976;80:581-5.
2. Witte CL, Witte MH, Renert WO, Mara RE, Lilien DL. Splenic artery ligation in selected patients with hepatic cirrhosis and in Sprague-Dawley rats. *Surg Gynecol Obstet* 1976; 142:1-12.
3. Sahin M, Tekin S, Aksoy F, Vatansev H, Seker M, Avunduk MC, et al. The effects of splenic artery ligation in an experimental model of secondary hypersplenism. *J R Coll Surg Edinb* 2000;45:148-52.
4. Lin PW, Shan YS. Effects of splenectomy and splenic artery ligation on the portal pressure in portal hypertensive rats. *J Surg Res* 1992; 53:621-24.
5. Gramática L, Lada PE, Gramática L, Dutari CH, Diyorio G. Conservação do baço durante a pancreatectomia cóporo-caudal. *Rev Col Bras Cir* 1995;222:227-9.
6. Warshaw AL. Conservation of the spleen with distal pancreatectomy. *Arch Surg* 1988; 123:550-3.
7. Ueno T, Oka M, Nishihara K, Yamamoto K, Nakamura M, Yahara N, et al. Laparoscopic distal pancreatectomy with preservation of the spleen. *Surg Laparosc Endosc Percutan Tech* 1999;4:290-3.
8. Kim CH, Choi H, Chun YS, Kim GT, Park JW, Kim MS. Hyperbaric oxygenation pretreatment induces catalase and reduces infarct size in ischemic rat myocardium. *Pflügers Arch-Eur J Physiol* 2001;442:519-25.
9. Sterling DL, Thomson JD, Swafford A, Gottlieb SF, Bishop SP, Stanley AW, et al. Hyperbaric oxygen limits infarct size in ischemic rabbit myocardium in vivo. *Circulation* 1993; 88: 1931-6.
10. Kawamura M, Sakakibara B, Kidokoro H, Takahashi H, Kobayashi S, Konishi S, et al. Protective effect of hyperbaric oxygen for the temporary ischaemic myocardium. *Macroscopic and histological data. Cardiovasc Res* 1976;10:599-604.
11. Sunami K, Takeda Y, Hashimoto M, Hirakawa M. Hyperbaric oxygen reduces infarct volume in rats by increasing oxygen supply to the ischemic periphery. *Crit Care Med* 2000; 28:3101-2.
12. Miljkovic-Lolic M, Silbergleit R, Fiskum G, Rosenthal RE. Neuro protective effects of hyperbaric oxygen treatment in experimental focal cerebral ischemia are associated with reduced brain leukocyte myeloperoxidase activity. *Brain Res* 2003;971:90-4.
13. Yang ZJ, Camporesi C, Yang X, Wang J, Bosco G, Lok J, et al. Hyperbaric oxygenation mitigates focal cerebral injury and reduces striatal dopamine release in a rat model of transient middle cerebral artery occlusion. *Eur J Appl Physiol* 2002;87: 101-7.
14. Singhal AB, Dijkhuizen RM, Rosen BR, Lo EH. Normobaric hyperoxia reduces MRI diffusion abnormalities and infarct size in experimental stroke. *Neurology* 2002;58: 945-52.
15. Badr AE, Yin W, Mychaskiw, Zhang JH. Dual effect of HBO on cerebral infarction in MCAO rats. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 2001;280:766-70.
16. Weinstein PR, Anderson GG, Telles DA. Results of hyperbaric oxygen therapy during temporary middle cerebral artery occlusion in unanesthetized cats. *Neurosurgery* 1987; 20:518-24.
17. Calvert JW, Yin W, Patel M, Badr A, Mychaskiw G, Parent AD, et al. Hyperbaric oxygenation prevented brain injury induced by hypoxia-ischemia in a neonatal rat model. *Brain Res* 2002;951:1-8.
18. Burt JT, Kapp JP, Smith RR. Hyperbaric oxygen and cerebral infarction in the gerbil. *Surg Neurol*, 1987;28:265-8.
19. Dockendorf BL, Frazee RC, Peterson WG, Myers D. Treatment of acute intestinal ischemia with hyperbaric oxygen. *South Med J* 1993;86:518-20.
20. Feldmeier JJ, Davolt DA, Court WS, Onoda JM, Alecu R. Histologic morphometry confirms a prophylactic effect for hyperbaric oxygen in the prevention of delayed radiation enteropathy. *Undersea Hyperb Med* 1998;25:93-7.
21. Guimarães FA, Taha MO, Simões MJ, Fagundes DJ. Ischemia-reperfusion of the small intestine and hyperbaric oxygen treatment: a morphologic study in rats. *Transplant Proc* 2002; 34: 977-9.
22. Hjelde A, Hjelstuen M, Haraldseth O, Martin D, Thom R, Brubakk O. Hyperbaric oxygen and neutrophil accumulation/tissue damage during permanent focal cerebral ischaemia in rats. *Eur J Appl Physiol* 2002;86:401-5.
23. Makhova NA, Lesnykh MP. Histoautoradiographic and morphometric analysis of myocardial tissue in optimal regimen of hyperbaric oxygenation. *Fiziol Zh* 1993; 39:18-22.
24. Pereira MLL, Teles AP, Pereira Neto J. Câmara hiperbárica de acrílico para animais de pequeno porte. *Acta Cir Bras* 2001; 16:267-70.
25. Petroianu A, Ferreira VLM, Barbosa AJA. Morphology and viability of the spleen after subtotal splenectomy. *Braz J Med Biol Res* 1989;22:491-5.
26. Edwards RJ, Im MI, Hoopes JE. Effects of hyperbaric oxygen preservation on rat limb replantation. A preliminary report. *Am J Plast Surg* 1991;27:31-5.
27. Ramon Y, Abramovich A, Shupak A, Ullmann Y, Moscona RA, Shoshani O, et al. Effect of hyperbaric oxygen on a rat transverse rectus abdominis myocutaneous flap model. *Plast Reconstr Surg* 1998;102:416-22.
28. Amin HM, Kaniewski WS, Cohen D, Camporesi EM, Hakim TS. Effects of acute exposure to hyperbaric oxygen on the rheology and morphology of the red blood cells in the rat. *Microvasc Res* 1995; 50:417-28.
29. Uhl E, Sirsjo A, Haapaniemi T, Nilsson G, Nylander G. Hyperbaric oxygen improves wound healing in normal and ischemic skin tissue. *Plast Reconstr Surg* 1994;93:835-41.
30. Méchine A, Rohr S, Toti F, Aysoy C, Schneider F, Meyer C, et al. Wound healing and hyperbaric oxygen. Experimental study of the angiogenesis phase in the rat. *Ann Chir* 1999;53:307-13.
31. Hamzaoglu I, Karahasanoglu T, Aydin S, Sahin DA, Carkman S, Sariyar M, et al. The effects of hyperbaric oxygen on normal and ischemic colon anastomoses. *Am J Surg* 1998;176:458-61.

Artigo recebido: 25/11/2003

Aceito para publicação: 31/03/2004