
APENDICITE AGUDA.

Modelo experimental em coelhos

João EBRAM-NETO, Rosa Maria Gaudioso CELANO, Valéria Ferreira LANZONI, Yara JULIANO, Neil Ferreira NOVO, Antonio Baptista CAUDURO e Manlio Basilio SPERANZINI

RESUMO - Com objetivo de estudar experimentalmente as diversas fases evolutivas da apendicite aguda, foram utilizados 60 coelhos (*Oryctogalus cuniculus*), fêmeas, da linhagem Nova Zelândia, com peso variando de 2510 a 3040 gramas. Os animais foram divididos em dois grupos denominados controle e experimento, e estes subdivididos em três subgrupos com períodos de observação de 12, 24 e 48 horas. No grupo experimento foi realizada a oclusão do lume apendicular por meio de sutura seromuscular circular a 8 cm da extremidade distal do apêndice cecal, com fio de polipropileno 4-0. No controle foi feita somente a simulação da cirurgia. Os aspectos macroscópicos (aumento do tamanho, necrose, perfuração, aderência e secreção na cavidade abdominal) bem como os microscópicos do grupo experimento, evidenciaram uma progressão das alterações anatomopatológicas mostrando haver uma relação entre a intensidade dos achados histopatológicos e o tempo de observação. Conclui-se que o método utilizado causa apendicite aguda com alterações anatomopatológicas distintas, de acordo com a fase evolutiva da doença.

DESCRITORES - Apendicite. Coelhos. *In vitro*.

INTRODUÇÃO

A apendicite aguda ainda é a doença inflamatória abdominal de maior frequência que acomete, principalmente, indivíduos jovens em fase produtiva da vida⁽¹⁵⁾. Esta doença, geralmente, apresenta evolução satisfatória, desde que seja feito o tratamento cirúrgico; entretanto, em casos onde há dificuldade ou retardo no diagnóstico, pode ser encontrada numa fase tardia de sua evolução, possibilitando o aparecimento de complicações graves como a peritonite generalizada, a pileflebite e o abscesso hepático⁽⁵⁾.

Duas teorias etiopatogênicas da apendicite aguda são as mais aceitas: a da disseminação bacteriana, levando ao processo inflamatório do apêndice cecal⁽¹⁾ e a da obstrução do lume apendicular, desencadeando a estase, hipersecreção e proliferação das bactérias já existentes no mesmo^(21, 23).

O estudo da apendicite aguda experimental foi inicialmente realizado em porcos, por ROUX⁽¹⁸⁾, em 1895. Posteriormente, outros pesquisadores utilizando diversas espécies animais^(2, 3, 4, 7, 10, 11, 12, 14, 16, 20, 21, 23, 24, 25), criaram modelos para desenvolver apendicite aguda com base, principalmente, na obstrução do apêndice cecal sem haver, porém, preocupação com o acompanhamento anatomopatológico de sua evolução.

Esta informação, no entanto, é de particular interesse pois sabe-se que as complicações na evolução da apendicite aguda correm paralelamente à gravidade da lesão apendicular. Desta forma, para melhor compreensão de seus mecanismos etiopatogênicos, o estudo deve ser feito nas fases mais avançadas da doença quando ocorrem gangrena e perfuração. Por este motivo, idealizou-se um modelo experimental que produzisse apendicite aguda em coelhos para verificar o período em que as alterações inflamatórias são mais graves e frequentes.

MATERIAL

Foram utilizados 60 coelhos (*Oryctogalus cuniculus*), adultos, fêmeas, brancos, da linhagem Nova Zelândia e com peso corporal variando de 2510 a 3040 gramas.

Os animais foram provenientes do Biotério Central da Universidade de Taubaté, onde foram mantidos em gaiolas individuais, recebendo alimentação apropriada, permanecendo em adaptação e observação por 20 dias. Todos os procedimentos foram feitos nas dependências do Laboratório de Cirurgia Experimental do Departamento de Medicina, obedecendo às normas técnicas de assepsia e anti-sepsia.

Os coelhos foram distribuídos mediante sorteio prévio em dois grupos de 30 animais. O primeiro grupo foi denominado controle e o segundo experimento, os quais foram subdivididos igualmente em três subgrupos correspondentes ao período de observação de 12, 24 e 48 horas para analisar as alterações macroscópicas e microscópicas.

MÉTODO

No pré-operatório, os animais foram mantidos em jejum de 12 h para sólidos e líquidos. A medicação pré-anestésica usada foi a acepromazina, via intramuscular, na dose de 1 a 2 mm/kg, 30 minutos antes do procedimento operatório.

Os animais foram contidos e pesados. A seguir, puncionava-se a veia auricular lateral direita e mantida com gotejamento de soro fisiológico a 0,9%. A anestesia endovenosa foi realizada com tiopental sódico na dose de 30 mg/kg de peso, permanecendo o animal em respiração espontânea com máscara de oxigênio. Em seguida, os animais foram fixados à mesa operatória, sendo a tricotomia e anti-realizadas na região abdominal ventral.

Realizou-se laparotomia mediana infra-umbilical de 5 cm e o apêndice cecal foi identificado. No grupo experimento, fazia-se uma sutura seromuscular circular com fio de polipropileno 4-0, com agulha curva e cilíndrica de 2 cm, a 8 cm da ponta do apêndice cecal, tendo o cuidado de não se lesar a vasculatura do mesoapêndice visando ocluir o lume apendicular (Figura 1).



FIGURA 1 – Sutura seromuscular circular do apêndice cecal.

No grupo controle foi realizada apenas a manipulação do apêndice cecal. Em seguida, procedia-se, em ambos os grupos, a colocação do apêndice cecal em posição lateral direita e o fechamento da parede abdominal foi realizado em dois planos. O peritônio e a aponeurose foram suturados de forma contínua com poliamida 2-0, e a pele com ponto simples de poliamida 3-0.

Com o término da anestesia os coelhos foram colocados nas gaiolas de origem, onde recebiam dieta e água a vontade. Os animais do grupo experimento e do controle foram reoperados usando a mesma metodologia, respeitando o tempo de evolução de 12, 24 e 48 h, respectivamente.

A abertura da cavidade abdominal foi feita retirando-se os pontos da parede. Foram verificados então os aspectos macroscópicos do apêndice cecal (aumento do tamanho, necrose, perfuração, aderência e secreção da cavidade abdominal). A seguir, foi realizada a secção do mesmo a 2 cm distalmente da sutura circular, juntamente com seu mesentério. A obstrução total do lume deste segmento no local da sutura foi comprovada pela impossibilidade da introdução de uma pinça anatômica, cuja ponta media 3 mm.

A peça cirúrgica foi colocada num frasco com solução de formol a 10% e enviada ao Laboratório de Histologia da Universidade de

Taubaté. A eutanásia era feita ainda sob efeito anestésico pela injeção endovenosa da solução de cloreto de potássio a 19,1%.

Estudo Histopatológico

Os apêndices cecais fixados em solução de formol a 10% foram submetidos a cortes transversais e incluídos em parafina, e as lâminas com os cortes coradas pelo método de hematoxilina-eosina. As lâminas foram analisadas no Departamento de Anatomia Patológica da Escola Paulista de Medicina, Universidade Federal de São Paulo - UNIFESP-EPM. A avaliação histopatológica das lesões do apêndice cecal permitiu classificá-las em apendicite inicial, supurativa e gangrenosa^(6,17).

Estudo Estatístico

Para análise dos resultados utilizou-se o teste do Qui-quadrado⁽¹⁹⁾, com a finalidade de comparar as diversas alterações encontradas nos períodos de observação (12, 24 e 48 h). Fixou-se em 0,05 ou 5% (a 0,05) o nível de rejeição da hipótese de nulidade. O estudo estatístico foi realizado na Disciplina de Bioestatística do Departamento de Medicina Preventiva da UNIFESP-EPM.

RESULTADOS

Alterações macroscópicas do grupo experimento

TABELA 1 – Coelhos do grupo experimento nos três períodos de avaliação, segundo a presença de secreção na cavidade abdominal

| Período de avaliação | Sim | Não | Total | % de secreção |
|----------------------|-----|-----|-------|---------------|
| 12 h | 0 | 10 | 10 | 0% |
| 24 h | 2 | 8 | 10 | 20% |
| 48 h | 5 | 5 | 10 | 50% |
| TOTAL | 7 | 23 | 30 | 23,33% |

teste do Qui-quadrado
 $\chi^2_{\text{calculado}} = 7,08$ $\chi^2_{\text{crítico}} = 5,99$
 48 h > 12 e 24 h

TABELA 2 – Coelhos do grupo experimento nos três períodos de avaliação, segundo a presença de aderência

| Período de avaliação | Sim | Não | Total | % de aderência |
|----------------------|-----|-----|-------|----------------|
| 12 h | 0 | 10 | 10 | 0% |
| 24 h | 6 | 4 | 10 | 60% |
| 48 h | 10 | 0 | 10 | 100% |
| TOTAL | 16 | 14 | 30 | 53,33% |

teste do Qui-quadrado
 $\chi^2_{\text{calculado}} = 20,36$ $\chi^2_{\text{crítico}} = 5,99$
 48 h > 12 e 24 h

TABELA 3 – Coelhos do grupo experimento nos três períodos de avaliação, segundo o tamanho do apêndice cecal

| Período de avaliação | Sim | Não | Total | % de aumento do tamanho |
|----------------------|-----|-----|-------|-------------------------|
| 12 h | 10 | 0 | 10 | 100% |
| 24 h | 10 | 0 | 10 | 100% |
| 48 h | 10 | 0 | 10 | 100% |
| TOTAL | 30 | 0 | 30 | 100% |

análise desnecessária

TABELA 4 – Coelhos do grupo experimento nos três períodos de avaliação, segundo a presença de necrose

| Período de avaliação | Sim | Não | Total | % de necrose |
|----------------------|-----|-----|-------|--------------|
| 12 h | 0 | 10 | 10 | 0% |
| 24 h | 2 | 8 | 10 | 20% |
| 48 h | 10 | 0 | 10 | 100% |
| TOTAL | 12 | 18 | 30 | 40% |

teste do Qui-quadrado
 $\chi^2_{\text{calculado}} = 23,33$ $\chi^2_{\text{crítico}} = 5,99$
 48 h > 12 e 24 h

TABELA 5 – Coelhos do grupo experimento nos três períodos de avaliação, segundo a presença de perfuração

| Período de avaliação | Sim | Não | Total | % de perfuração |
|----------------------|-----|-----|-------|-----------------|
| 12 h | 0 | 10 | 10 | 0% |
| 24 h | 0 | 10 | 10 | 0% |
| 48 h | 4 | 6 | 10 | 60% |
| TOTAL | 4 | 26 | 30 | 13,33% |

não analisável

Alterações microscópicas do grupo experimento

TABELA 6 – Coelhos do grupo experimento nos três períodos de avaliação, segundo a evolução anatomopatológica

| Período de avaliação | Inicial | Supurativa | Gangrenosa | Total |
|----------------------|---------|------------|------------|-------|
| 12 h | 6 | 4 | 0 | 10 |
| 24 h | 0 | 8 | 2 | 10 |
| 48 h | 0 | 0 | 10 | 10 |
| TOTAL | 6 | 12 | 12 | 30 |

não analisável

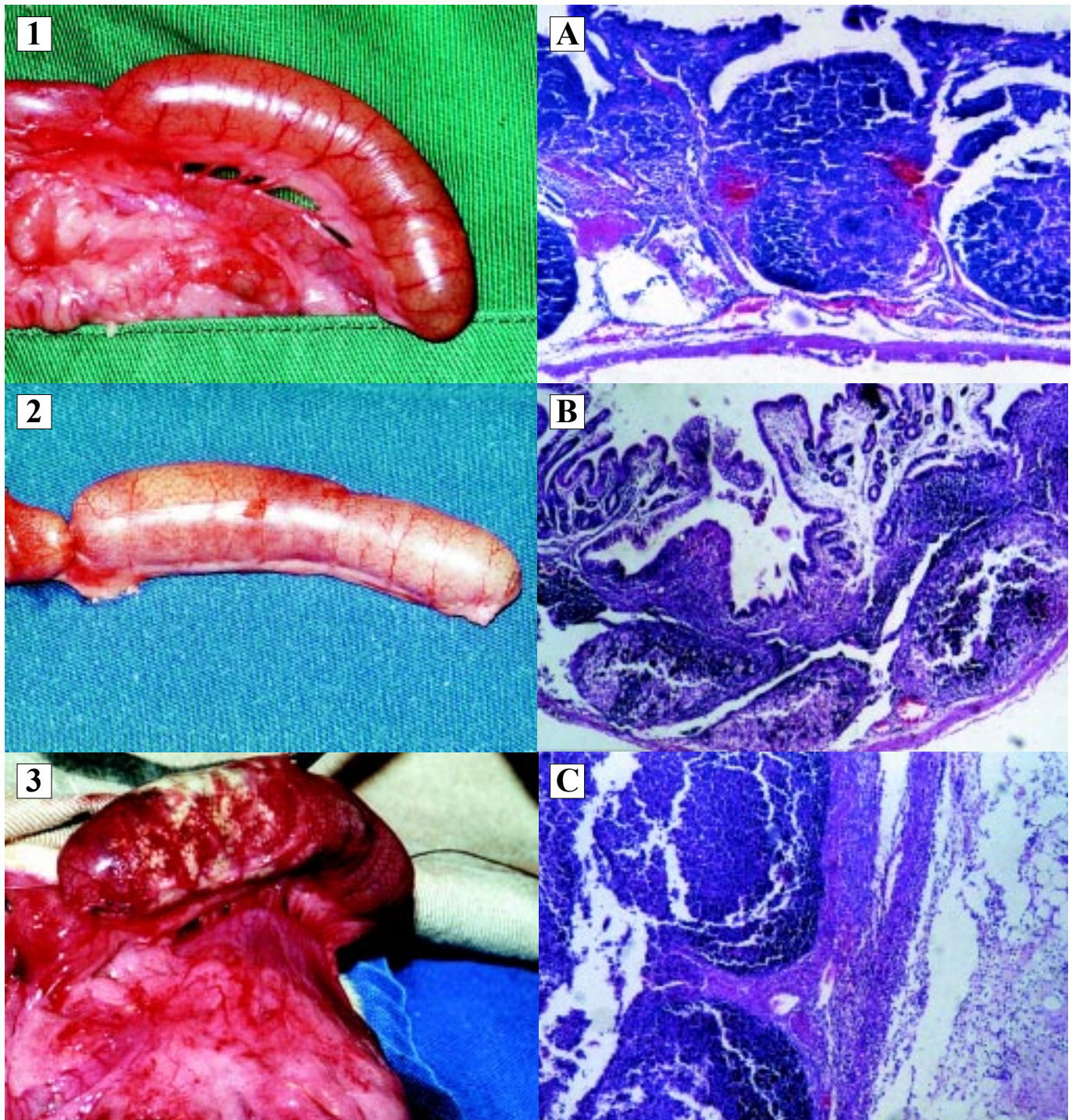


FIGURA 2 – Fotografia e fotomicrografia (H & E) da apendicite:
(1A) inicial (12 h)
(2B) supurativa (24 h) e
(3C) gangrenada (48 h).

No grupo controle não houve alterações macroscópicas (aumento do tamanho, necrose, perfuração, aderência e presença de exsudato na cavidade abdominal) e microscópicas no apêndice cecal, nos três períodos de evolução pesquisados. O peso médio dos animais foi de 2850 g.

DISCUSSÃO

Vários animais foram usados experimentalmente no estudo da apendicite aguda, sendo que alguns, como o chimpanzé, embora apresentem o apêndice cecal semelhante ao do homem, é uma espécie de difícil obtenção na rotina do laboratório⁽²⁴⁾ e outros, como o cão^(3, 4, 21, 23) não apresentam um apêndice cecal verdadeiro⁽⁸⁾.

Dentre os animais de experimentação, o coelho foi considerado o animal de escolha na pesquisa da apendicite aguda^(2,7,16). Este apresenta um apêndice cecal com características anatômicas e fisiológicas semelhantes ao do homem, inclusive com produção de muco, o que facilitaria o aparecimento de alterações inflamatórias após a obstrução do seu lume⁽⁷⁾. Além disso, a apendicite aguda espontânea já foi descrita em coelhos⁽¹³⁾.

Uma dificuldade encontrada no estudo com coelhos é a sua fragilidade durante o ato anestésico⁽⁹⁾. Este risco se reduz quando alguns parâmetros, como a escolha do anestésico e as doses empregadas, são respeitados.

Atualmente, os modelos experimentais mais adotados para desenvolver apendicite aguda continuam sendo aqueles que provocam a obstrução da víscera. PIEPER et al.⁽¹⁶⁾ em 1983, e TSUJI et al.⁽²⁰⁾, em 1990, produziram a apendicite aguda com uma sonda, provida de balonete, introduzida no lume apendicular por meio de uma cecostomia. Apesar deste método ser capaz de mensurar a pressão intraluminal, tem a desvantagem de necessitar da cecostomia e da permanência da sonda na parede abdominal.

Outro modelo bastante empregado^(7, 11, 12, 14, 23, 24) consiste na simples ligadura da base do apêndice cecal com preservação da sua irrigação vascular, utilizado recentemente em nosso meio por BAZZANO⁽²⁾, em 1996. Alterações mais rápidas e graves podem ser obtidas provocando também a isquemia do órgão, com a ligadura da sua irrigação vascular^(10,25).

O presente estudo preocupou-se em realizar um método de fácil execução por meio de uma sutura circular, sem lesar a irrigação parietal. Padronizou-se o local da obstrução a 8 cm da extremidade distal do apêndice cecal, de modo a tornar a amostra homogênea, já que em coelhos o tamanho do apêndice cecal varia de 6 a 12 cm⁽¹⁴⁾. Outro aspecto importante seria evitar o processo inflamatório na base do apêndice cecal, pois a parede do ceco de coelhos é muito fina e isso dificultaria eventualmente o estudo das técnicas de apendicectomia.

A obstrução total do apêndice cecal foi sempre constatada no grupo experimento. Neste grupo, encontrou-se aumento do tamanho do apêndice cecal semelhante ao encontrado na maioria dos trabalhos^(2,7,12,24). O aumento do tamanho deve-se, possivelmente, ao edema parietal e à produção constante de muco apendicular de 20-80 mm³ em 24 h⁽²⁴⁾.

WANGENSTEEN e DENNIS⁽²⁴⁾, em 1940, e PIEPER et al.⁽¹⁶⁾, em 1982, trabalhando com chimpanzés e coelhos, respectivamente, relataram a presença de necrose no apêndice cecal quando variaram as pressões nos balonetes colocados no lume apendicular. Van ZWALENBURG⁽²²⁾, em 1932, descreveu a teoria do ciclo hidráulico mostrando em órgãos ocos a relação entre a pressão intraluminal e as alterações inflamatórias encontradas. Segundo esse autor, a pressão interferiria na circulação sanguínea da parede do órgão, resultando em necrose e proliferação bacteriana.

BAZZANO⁽²⁾, em 1996, ao provocar a obstrução da base do apêndice cecal de coelhos por meio da ligadura externa, mostrou a presença de necrose nos grupos de 24, 48 e 72 h do experimento, diferindo do presente estudo, onde a presença de necrose do apêndice cecal após 24 h foi de 20% e em todos os animais após 48 h, evidenciando assim relação entre a necrose e o prazo de 48 h.

A perfuração nos apêndices cecais não foi observada⁽¹⁶⁾ após 12 h; no entanto, quando se associa à isquemia do órgão, esta ocorre a partir de 14 h de experimento. Nesta pesquisa a perfuração foi vista em quatro animais do grupo experimento de 48 h, sendo que em dois destes somente foi percebida depois de desfeito o bloqueio na região do apêndice cecal.

A presença de secreção na cavidade abdominal foi evidenciada em dois animais do grupo 24 h (20%) e em cinco do grupo 48 h (50%), sendo que o bloqueio da região apendicular observado na maioria das vezes, provavelmente, impediu nesse espaço de tempo, a contaminação total da cavidade abdominal. Com o passar do tempo, no entanto, as defesas locais não mais conseguem manter o processo infeccioso circunscrito, ocorrendo sua disseminação. É assim que, em modelo experimental com período de observação de 14 dias, constatou-se nos animais sobreviventes, peritonite generalizada e múltiplos abscessos peritonais⁽¹²⁾.

Os aspectos microscópicos mostram uma evolução temporal das alterações inflamatórias do apêndice cecal obstruído. No grupo de 12 h houve apendicite inicial em 60% dos animais estudados, enquanto que no grupo de 48 h ocorreu necrose da víscera em todos os animais, deixando evidente que este período é necessário para se produzir de modo uniforme lesões de maior gravidade.

Quando se deseja obter lesões sugestivas de apendicite aguda inicial, o período do experimento pode ser reduzido para 4 h, que é o tempo mínimo necessário para ser desencadeada a inflamação num apêndice cecal obstruído⁽¹⁶⁾.

O presente modelo experimental permite o estudo da apendicite aguda nas suas diversas fases evolutivas, pois demonstrou-se haver

correlação entre a intensidade das alterações anatomopatológicas e o tempo do experimento. É possível desta forma, a pesquisa nas diversas fases desta afecção, das eventuais repercussões locais e/ou sistêmicas características de cada uma delas, inclusive das vias de disseminação bacteriana.

CONCLUSÃO

O modelo experimental utilizado causou apêndice aguda em todos os animais, sendo as alterações histopatológicas observadas tanto mais graves quanto maior foi o período de observação.

Ebram-Neto J, Celano RMG, Lanzoni VF, Juliano Y, Novo NF, Cauduro AB, Speranzini MB. *Acute appendicitis. Model experimental in rabbits. Arq Gastroenterol* 2000;37(2):114-119.

ABSTRACT - *The evolving phases of acute appendicitis were studied experimentally. Sixty female rabbits (Oryctogalus cuniculus) of New Zealand lineage weighing about 2510 to 3040 g were divided in two groups: a control group and experimental group. The experimental group was divided into three subgroups for observation after 12, 24 and 48 hours of the operation, that consisted on a 4-0 polypropylene circular suture at 8 cm from the distal part of the cecal appendix. The control group was sham operated. The macroscopic exam (increase of the appendix volume, necrosis, perforation, adherence and secretion in the abdominal cavity) and the microscopic finding showed a progression in the anatomopathological alterations. There was a close relationship between the histopathological findings and time after the appendiceal obstruction. We conclude that the method causes acute appendicitis and that the anatomopathological alterations depends on the time elapsed between the operation and the postoperation findings.*

HEADINGS - *Appendicitis. Rabbits. In vitro.*

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Aschoff L. Ueber die bedeutung des kotsteine in der aetiologie der epytyphitis. *Med Klin* 1931;24:587.
2. Bazzano FCO. Avaliação dos efeitos da ligadura da base do appendix vermiformis do coelho. [Dissertação]. São Paulo: Universidade Federal de São Paulo – Escola Paulista de Medicina; 1996.
3. Bower JO, Burns JC, Mengle HA. Spreading peritonitis complicating acute perforative appendicitis. *Experimental studies. Arch Surg* 1938;37:751-9.
4. Bowers WF. The role of distention in the genesis of acute inflammation of hollow viscera. *Am J Med Sci* 1937;194:205-14.
5. Cooperman M. Complications of appendectomy. *Surg Clin North Am* 1983;63:1233-47.
6. Cotran RM, Kumar V, Collins T. Appendix. In: Cotran RM, Kumar V, Collins T. *Robbins pathologic basis of disease*. Philadelphia: Saunders; 1999. p.838-40.
7. Dennis C, Buirge RE, Varco RL, Wangenstein OH. Studies in the etiology of acute appendicitis. An inquiry into the factors involved in the development of acute appendicitis following experimental obstruction of the appendical lumen of the rabbit. *Arch Surg* 1940;40:929-48.
8. Evans HE. *Miller's anatomy of the dog*. 3.ed. Philadelphia: Saunders; 1993. 1113p.
9. Fonseca NM, Goldenberg S, Gomes PO, Paula Lima CA de. Anestesia em coelhos. *Acta Cir Bras* 1996;11:82-104.
10. Jacobs DO, Clarke JR, Settle RG, Sachdeva AK, Wheeler JE, Trerotola SO, Wolf GL, Rombeau JL. The identification of experimentally induced appendicitis using in vitro nuclear magnetic resonance. *J Surg Res* 1985;39:16-24.
11. Katz E, Hana R, Jurim O, Pisuv G, Gutman A, Durst AL. Experimental model of acute appendicitis in the rabbit with determination of leucine amino peptidase (LAP) and acid phosphatase (Acid-P) activities in portal blood samples. *J Surg Res* 1990;48:230-6.
12. King DW, Gurry JF, Ellis-Pegler RB, Brooke BN. A rabbit model of perforated appendicitis with peritonitis. *Br J Surg* 1975;62:642-4.
13. Mori M. Spontane appendicitis bei cinigen tierspecies. *Mitt Grenzgeb Med Chir* 1903;12:639.
14. Pedersen VM, Olesen HP, Worning AM. Acute appendicitis in the rabbit. An experimental study. *Acta Chir Scand* 1987;153:603-5.
15. Pieper R, Kager L, Nasman P. Acute appendicitis: a clinical study of 1018 cases of emergency appendectomy. *Acta Chir Scand* 1982;148:51-4.
16. Pieper R, Kager L, Tidefeldt U. Obstruction of appendix vermiformis causing acute appendicitis. An experimental study in the rabbit. *Acta Chir Scand* 1982;148:63-72.
17. Rosai J. Appendicitis. In: Rosai J. *Ackerman's survival pathologic*. Baltimore: Mosby; 1996. p.709-11.
18. Roux P. Appendicite experimentale. *Cong Franc Chir* 1895;8:213.
19. Siegel S, Castellan NJ Jr. *Nonparametric statistics*. 2.ed. New York: McGraw-Hill; 1988. 399p.
20. Tsuji M, McMahon G, Reen D, Puri P. New insights into the pathogenesis of appendicitis based on immunocytochemical analysis of early immune response. *J Pediatr Surg* 1990;25:449-52.
21. Van Zwalenburg C. Obstruction and consequent distention the cause of appendicitis. *JAMA* 1904;42:820-7.
22. Van Zwalenburg C. Hydraulic vicious circle as it develops in acute appendicitis. *Am J Surg* 1932;16:427-40.
23. Wangenstein OH, Bowers WF. Significance of the obstructive factor in genesis of acute appendicitis. *Arch Surg* 1937;34:496-504.
24. Wangenstein OH, Dennis C. The production of experimental acute appendicitis (with rupture) in higher apes by luminal obstruction. *Surg Gynecol Obstet* 1940;70:799-806.
25. Welch EL, Navab M. Standardized peritonitis in the rabbit. *Dis Colon Rectum* 1967;10:125.

Recebido para publicação em 17/8/1999.
Aprovado para publicação em 13/1/2000.