

# Gastrotomia seguida de gastrorrafia, uma técnica mais confiável e fisiológica para a indução de aderências peritoneais em ratos

## *Gastrotomy followed by gastrorrhaphy as a reliable and more physiologic technique for inducing peritoneal adhesion in rats*

ANTONIO AUGUSTO RIBEIRO DIAS PIRES<sup>1,2</sup> ; CHRISTINA MAEDA TAKIYA<sup>1</sup> ; PAULO CESAR SILVA<sup>1</sup> ; JOSÉ EDUARDO FERREIRA MANSO TCBC-RJ<sup>1</sup> .

### R E S U M O

**Objetivo:** o objetivo deste estudo foi criar um novo modelo animal de indução de aderências peritoneais capaz de levar à formação de aderências em todos os animais operados, simples e reprodutível, associado a manutenção da saúde dos animais. **Métodos:** Dezoito ratos machos, adultos, da linhagem Wistar (*Rattus norvegicus*) foram distribuídos aleatoriamente em três grupos: Grupo Controle (parâmetro anatômico e clínico), Grupo Sham (manipulação delicada do estômago e exposição de cavidade peritoneal ao ar ambiente) e Grupo Cirurgia (gastrotomia seguida de gastrorrafia). Os animais foram submetidos à análise e classificação macroscópicas, seguindo dois modelos de classificação de aderências. As diferenças entre os grupos foram consideradas estatisticamente significantes se  $p < 0,05$ . **Resultados:** os seis animais do grupo controle não apresentavam aderências peritoneais, três dos seis animais do grupo sham apresentavam aderências peritoneais focais e todos os seis animais do grupo cirurgia (gastrotomia seguida de gastrorrafia) apresentavam aderências peritoneais firmes. Todas as aderências encontradas foram quantificadas macroscopicamente e confirmadas microscopicamente, sem a realização de classificação microscópica das aderências. **Conclusão:** o novo modelo desenvolvido, de gastrotomia seguida de gastrorrafia, mostrou-se seguro e eficiente para induzir e estudar aderências peritoneais.

**Palavras-chave:** Modelos Animais. Aderências Teciduais. Inflamação. Cirurgia Geral.

### INTRODUÇÃO

As aderências peritoneais ocorrem quando há formação de tecido cicatricial ligando duas ou mais estruturas peritoneais que antes estavam separadas, podendo aparecer entre os órgãos abdominais ou entre os órgãos abdominais e o peritônio parietal. É uma doença frequente e causadora de inúmeras complicações pós-operatórias, gerando enorme custo para o sistema de saúde, chegando a bilhões de dólares nos Estados Unidos<sup>1-8</sup>. Além do custo, as aderências peritoneais podem causar dor crônica, infertilidade feminina e obstrução intestinal<sup>3,4,7-10</sup>, com maior dificuldade em novas abordagens cirúrgicas abdominais<sup>10</sup>, aumentando o tempo operatório e associado a maior risco de lesões em órgãos intraperitoneais<sup>3</sup>, levando a um maior risco de infecções<sup>7</sup>. Cerca de 440.000 cirurgias para tratar aderências peritoneais são realizadas anualmente nos Estados Unidos<sup>6</sup>, com 300.000 cirurgias realizadas para o tratamento da obstrução do intestino delgado<sup>9</sup> e cerca de 2.000 mortes por ano neste país, relacionadas a esta patologia<sup>7</sup>.

Anualmente são publicados inúmeros trabalhos relacionados a aderências peritoneais, sendo necessária a

utilização de um modelo animal para induzir aderências, quando no contexto da cirurgia experimental. Os métodos criados e replicados em pesquisas prévias<sup>1,2,4,10-15</sup> podem não conseguir induzir a formação das aderências peritoneais, mesmo com a reprodução correta dos modelos animais descritos, sendo raro encontrar uma publicação na qual o modelo animal utilizado alcançasse a formação de aderências em todos os animais. Associado a isto, a maioria dos modelos animais propostos para induzir aderências peritoneais, baseiam-se em realizar danos excessivos e, portanto, contraditórios ao que se faz nos procedimentos cirúrgicos, que procuram ao máximo minimizar danos desnecessários.

O objetivo deste estudo foi criar um novo modelo animal de indução de aderências peritoneais capaz de levar à formação de aderências peritoneais em todos os animais operados, simples e reprodutível, associado a manutenção da saúde dos animais.

### MÉTODOS

Foram utilizados dezoito ratos da linhagem Wistar (*Rattus norvegicus*), adultos, machos, com peso corporal de 300g ( $\pm 80$ g), alocados aleatoriamente

1 - Universidade Federal do Rio de Janeiro, Departamento de Cirurgia Experimental - Rio de Janeiro - RJ - Brasil

2 - Hospital Naval Marcílio Dias - Rio de Janeiro - RJ - Brasil

nos grupos, provenientes e mantidos no biotério do Laboratório de Cirurgia Experimental da Universidade Federal do Rio de Janeiro, em ambiente controlado, com temperatura constante ( $22^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ ), ciclo claro/escuro de doze horas, recebendo água e ração balanceada ad libitum. A monitorização do bem estar animal e o cálculo do tamanho da amostra foram realizados segundo a Resolução Normativa nº 25 do CONCEA<sup>16</sup>. Não foi utilizado jejum pré-operatório e todos os animais foram operados pelo mesmo cirurgião. O projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética em Uso de Animais em Pesquisa.

Os animais foram submetidos à anestesia geral intraperitoneal com cetamina (100mg/kg) e xilazina (10mg/kg) através de punção no quadrante inferior direito do abdome, utilizando agulha 13 x 0,45mm. A punção foi realizada com os animais em posição de cefalodeclive para minimizar a possibilidade de lesão inadvertida de alças intestinais. Após a anestesia, foi realizada a tricotomia e a antisepsia da parede abdominal com iodopovidona, para que fossem iniciados os procedimentos cirúrgicos, realizados no Laboratório de Cirurgia Experimental da Universidade Federal do Rio de Janeiro.

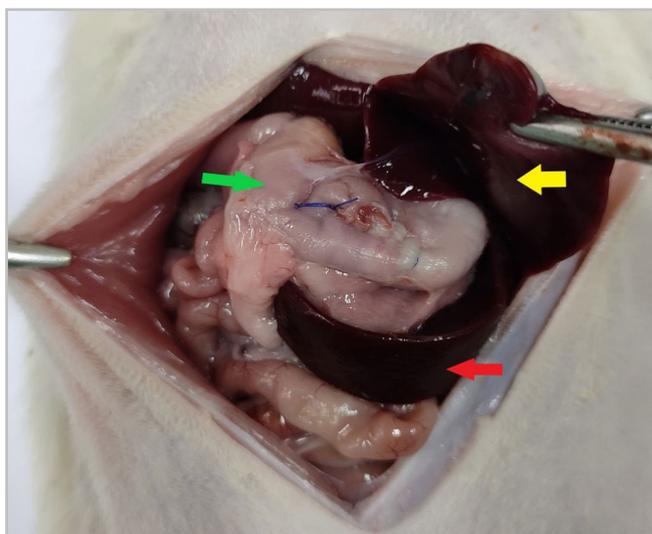
Os animais foram distribuídos aleatoriamente em três grupos, sendo mantidos durante todo o pós-operatório no mesmo ambiente:

Grupo controle: seis animais nos quais nenhum procedimento cirúrgico foi realizado, até a eutanásia e necropsia. Esse grupo foi utilizado como parâmetro anatômico e clínico de um animal normal.

Grupo Sham: seis animais foram submetidos à laparotomia mediana de 5,0cm, com manipulação do fígado, do estômago e do epíplon, sendo mantida a cavidade peritoneal aberta por vinte minutos, tempo médio das operações do grupo cirurgia. A parede abdominal foi fechada em sutura contínua com fio polipropileno 5.0.

Grupo cirurgia (gastrotomia seguida de gastrorrafia): seis animais foram submetidos a laparotomia mediana de 5,0cm. O estômago foi exteriorizado sendo realizada uma incisão longitudinal de 1,0cm na parede anterior do antro/corpo gástrico, seguida de fechamento imediato com sutura contínua de fio polipropileno 5.0. Foi adotado como padrão a utilização de sete semi-nós tanto para o início como para a finalização da sutura contínua, que englobava

desde a serosa até a submucosa, poupando a mucosa e a quantidade de tecido entre a borda da incisão e o ponto era entre 1 e 2mm, o suficiente para minimizar os riscos de deiscência (Figura 1). A exteriorização não intencional de parte dos segmentos de mucosa gástrica através a linha de sutura foi permitida, ocorreu em todos os animais e acometia menos de 10% da extensão da sutura. Durante a gastrotomia, quando ocorreu o extravasamento de conteúdo gástrico, a secreção foi imediatamente removida com gazes estéreis, evitando a disseminação para a cavidade peritoneal. A parede abdominal foi fechada em sutura contínua com fio polipropileno 5.0.



**Figura 1.** Rato do grupo cirurgia, submetido ao modelo de gastrotomia seguida de gastrorrafia. Fígado seta amarela, estômago seta verde, baço seta vermelha. Pode ser notado no centro da linha de sutura área com mucosa gástrica exposta.

Cuidados pós-operatórios - A dieta foi iniciada doze horas após a cirurgia, com água e ração ad libitum. A analgesia pós-operatória foi feita com ibuprofeno diluído na água ofertada, na concentração de 0,2mg por cada mililitro de água. Todos os animais foram observados quanto a sinais de dor e estresse e tinham seu bem estar avaliado pelo cuidador do biotério, conforme a Resolução Normativa nº 25 do CONCEA<sup>16</sup>.

Eutanásia - Realizada no 14º dia de pós-operatório por overdose farmacológica de cetamina (300mg/kg) e xilazina (30mg/kg), através de punção no quadrante inferior direito do abdome, utilizando agulha 13 x 0,45mm, após os animais terem sido posicionados em cefalodeclive. Não foi realizada nova tricotomia ou antisepsia com iodopovidona. Após a

parada cardiorrespiratória foi realizada a laparotomia em formato de "U", para evitar qualquer dano às aderências peritoneais formadas. As cavidades abdominais foram fotografadas com a câmera do celular Samsung® S9+.

Duas escalas de graduação macroscópica de aderências peritoneais, citadas frequentemente na literatura, foram utilizadas para a classificação das aderências<sup>12,13</sup>. Essas escalas foram adaptadas das publicadas por Evans et al.<sup>13</sup> (Tabela 1) e por Nair et al.<sup>12</sup> (Tabela 2) e permitiram a avaliação da quantidade, da intensidade e da qualidade das aderências.

**Tabela 1** - Adaptada da escala publicada por Evans et al.<sup>13</sup>.

Pontuação	Descrição dos aspectos das aderências
0	Ausência de aderências
1	Aderências laminares separadas espontaneamente
2	Aderências firmes mas separadas com tração
3	Aderências densas requerendo instrumentos cortantes para a separação das estruturas aderidas

**Tabela 2** - Adaptada da escala publicada por Nair et al.<sup>12</sup>.

Pontuação	Descrição dos aspectos das aderências
0	Ausência de aderências
1	Banda única de aderência entre vísceras ou entre víscera única e parede abdominal
2	Duas bandas de aderência entre vísceras ou entre víscera e parede abdominal
3	Mais de duas bandas de aderência entre vísceras ou entre víscera e parede abdominal ou Aderência em bloco sem acometimento da parede abdominal
4	Aderência direta da víscera à parede abdominal, independentemente do número e extensão das bandas de aderência.

**Histologia** - As estruturas aderidas foram ressecadas em bloco para evitar a ruptura das aderências peritoneais e posteriormente foram fixadas em solução de formaldeído a 10%, clivadas pelo autor, inseridas em cassetes histológicos e processadas para histologia. Os blocos foram cortados em micrótomo rotatório e os cortes fixados em lâminas histológicas e corados com

Hematoxilina-Eosina (HE) e coloração com Picrosirius Red (PR) para colágeno. As lâminas histológicas foram escaneadas com scanner de lâminas Leica® Aperio CS2 e analisadas no microscópio E 800 Nikon®. Os procedimentos foram realizados no Serviço de Anatomia Patológica do Hospital Naval Marcílio Dias e no Laboratório de Imunopatologia do Instituto de Biofísica Carlos Chagas Filho (Universidade Federal do Rio de Janeiro).

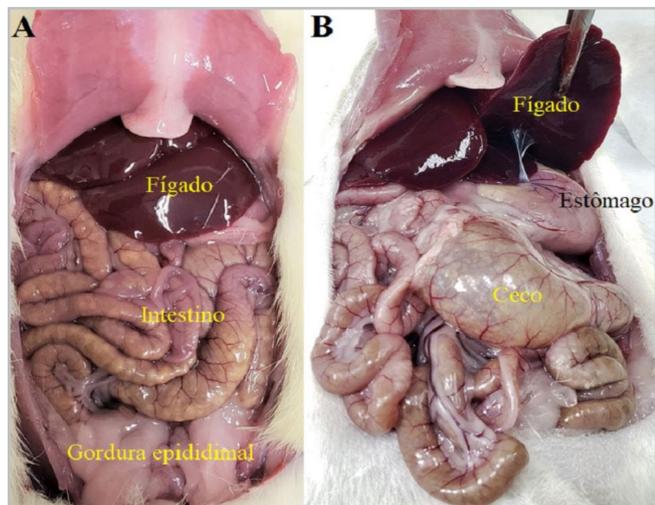
Neste estudo, a avaliação macroscópica foi utilizada para constatar a presença de aderências peritoneais pós-operatórias e para realizar a análise, classificação e quantificação destas aderências. A avaliação microscópica foi utilizada para confirmar que as aderências encontradas macroscopicamente eram formadas por tecido cicatricial, composto por colágeno, células inflamatórias e vasos neoformados e não por bandas de fibrina não degradada, que não seriam consideradas aderências, apesar de ser uma estrutura visível ligando órgãos intraperitoneais. Não houve qualquer tipo de análise microscópica para quantificar ou graduar as aderências.

**Análises estatísticas** - Os dados foram analisados usando o software GraphPadPrism v. 5.0 (GraphPad Software, La Jolla, CA, USA). Foi realizada a análise não-paramétrica One way-ANOVA (teste de Kurskal-Wallis) seguido do teste Dunn's post hoc. Diferenças entre os grupos foram considerados estatisticamente significantes quando  $p < 0,05$ .

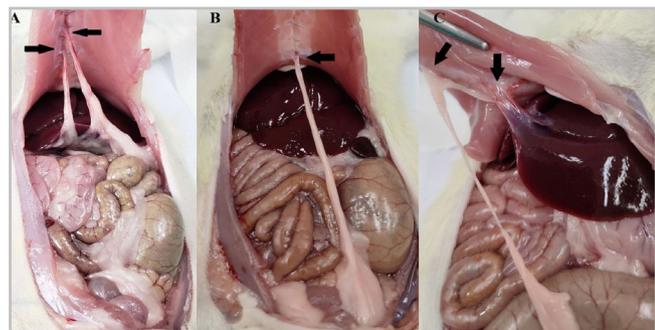
## RESULTADOS

Em nenhum dos animais do estudo, ao ser realizada a primeira laparotomia, foram encontradas aderências peritoneais. Os seis animais do grupo controle mantiveram-se clinicamente bem, sem sinais de dor ou estresse e com ganho satisfatório de peso. Não foram encontradas aderências peritoneais à necropsia (Figura 2). Os seis animais do grupo sham mantiveram-se clinicamente bem, sem sinais de dor ou estresse e com ganho satisfatório de peso até o 14º dia de pós-operatório, quando foi realizada a eutanásia. Durante a necropsia, três animais deste grupo apresentavam aderências peritoneais (Figura 3). Os seis animais do grupo cirurgia mantiveram-se clinicamente bem, sem sinais de dor ou estresse e com ganho satisfatório de peso até o 14º dia de pós-operatório, quando foi realizada a eutanásia. Durante a necropsia

todos os animais deste grupo apresentavam aderências firmes e densas entre o estômago, o fígado e o epíplon (Figura 4). Além destas aderências, comuns a todos os seis animais, quatro ratos apresentavam extensão das aderências para a parede abdominal (Figuras 4D e 4E).



**Figura 2.** Rato do grupo controle, aspecto anatômico normal, sem aderências.



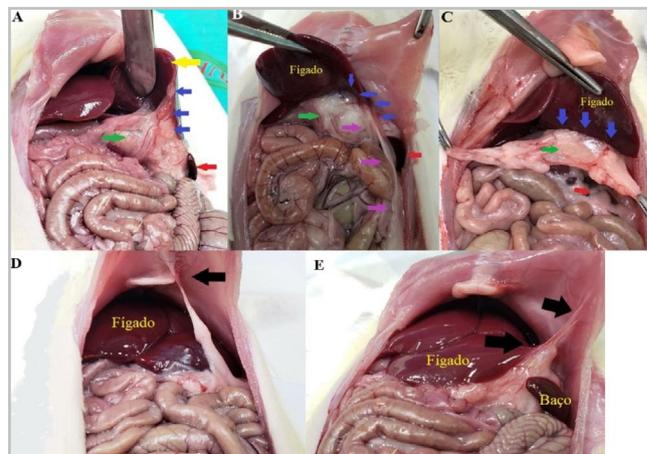
**Figura 3.** Rato do grupo sham, setas pretas apontam para as aderências, restante da cavidade abdominal sem outras aderências. A- Entre o epíplon e a cicatriz mediana. B- Entre a gordura epididimal e a cicatriz mediana. C- Entre a gordura epididimal e a cicatriz mediana e entre o fígado e a cicatriz mediana (através de fina banda de aderência).

Ao avaliar os grupos conforme a escala de Evans<sup>13</sup> (Tabela 1) e de Nair<sup>12</sup> (Tabela 2), os seis animais do grupo controle não apresentavam aderências sendo atribuído grau zero em ambas as escalas.

Três animais do grupo sham apresentavam aderências entre o epíplon e a parede abdominal, ou entre a gordura epididimal e a parede abdominal e em um destes, havia também uma banda de aderência entre o fígado e a parede abdominal (Figura 3). Aos três animais do grupo sham que não possuíam aderências, foi atribuído o grau zero em ambas as escalas. Aos três animais deste grupo que possuíam aderências,

foi atribuído o grau 2 segundo a escala de Evans, por apresentarem aderências que poderiam ser desfeitas à tração, mas ao serem avaliados segundo a escala de Nair, dois animais apresentavam aderências grau 2 pela presença de dois focos de aderência (Figuras 3A e 3C) e um animal apresentava grau 1 por possuir apenas um foco de aderência (Figura 3B).

No grupo cirurgia, quando avaliados pela escala de Evans, foi atribuído o grau 3 para todos os animais, pois as aderências só poderiam ser separados através de instrumentos cortantes. Quando avaliados pela escala proposta por Nair, três dos seis animais apresentavam aderências grau 4, com a víscera (fígado) aderindo diretamente à parede abdominal e os três animais restantes, apresentavam aderências firmes entre o estômago, o fígado e o epíplon criando um bloco indissociável de aderências entre as estruturas, sendo atribuído o grau 3 (Figura 4).



**Figura 4.** Ratos do grupo cirurgia. A, B e C- Fígado seta amarela, baço seta vermelha, estômago com epíplon seta verde, setas azuis apontam para área de adesão entre o fígado, o estômago e o epíplon, setas roxas apontam para a gordura epididimal que se estende desde a pelve até aderir em fígado-estômago-epíplon. D- Seta preta aponta para a área de adesão entre o epíplon e a parede abdominal. E- Setas pretas indicam área de adesão entre o fígado, o estômago, o epíplon e a parede abdominal.

Ao analisar estatisticamente os resultados de cada grupo, compilados nas tabelas 3 e 4, a comparação entre o grupo controle e o grupo sham não obteve significância estatística em nenhuma das escalas macroscópicas avaliadas, mas ao comparar o grupo controle com o grupo cirurgia, obteve-se significância estatística na escala de Nair ( $p < 0,001$ ) e na de Evans ( $p < 0,0001$ ). Ao comparar o grupo sham com o grupo cirurgia, em ambas as escalas, obteve-se significância estatística de similar valor ( $p < 0,05$ ). O resultado gráfico da

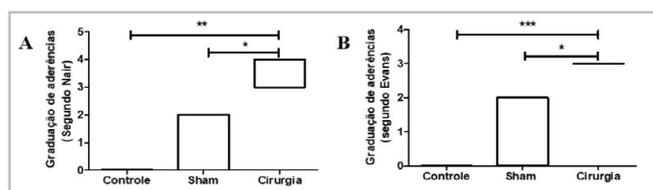
análise estatística pode ser avaliado nas Figuras 5A e 5B, representando os escores de Nair e Evans respectivamente. Avaliando estes resultados, entendemos que o modelo apresentado foi eficaz em induzir aderências peritoneais extensas e estáveis e que eram presentes em todos animais.

**Tabela 3** - Resultados segundo escala proposta por Evans.

	Grupo Controle	Grupo Sham	Grupo Cirurgia
Rato 1	0	0	3
Rato 2	0	0	3
Rato 3	0	2	3
Rato 4	0	2	3
Rato 5	0	2	3
Rato 6	0	0	3

**Tabela 4** - Resultados segundo escala proposta por Nair.

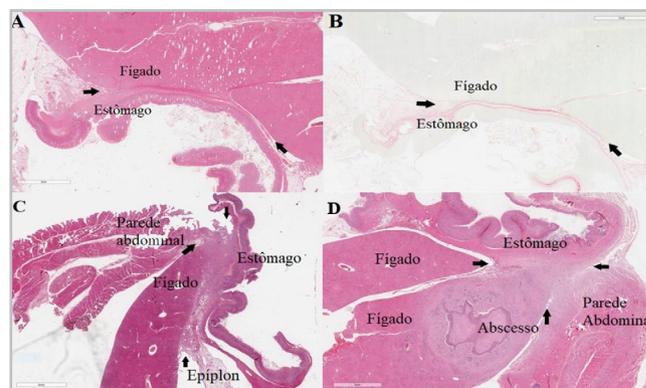
	Grupo Controle	Grupo Sham	Grupo Cirurgia
Rato 1	0	0	3
Rato 2	0	0	4
Rato 3	0	2	3
Rato 4	0	1	4
Rato 5	0	2	3
Rato 6	0	0	4



**Figura 5.** Análise estatística entre os grupos. Comparação do resultado entre os grupos sham e controle sem significância estatística. Comparação entre o grupo cirurgia e o grupo controle e o grupo cirurgia e o grupo sham apresentaram significância estatística. A- Utilizando graduação segundo escala de Nair. \*\*= $p < 0,001$ . \*= $p < 0,05$ . B- Utilizando graduação segundo escala de Evans. \*\*\*= $p < 0,0001$ . \*= $p < 0,05$ .

A avaliação das lâminas coradas com HE (Figuras 6A, 6C e 6D) mostrou, no grupo cirurgia, aderências com grande quantidade de células inflamatórias, presença de vasos neoformados e algumas células gigantes multinucleadas e, ainda no grupo cirurgia, ao analisar as lâminas coradas com PR sob luz polarizada, notava-se a presença de fibras de colágeno que, sem a utilização deste tipo de luz, apresentava-se com coloração rosa escuro,

encontrado entre o fígado e o estômago na Figura 6B. Nas Figuras 6C e 6D é possível avaliar microscopicamente as aderências englobando a parede abdominal e na Figura 6D, além da aderência, nota-se um abscesso hepático.



**Figura 6.** Ratos do grupo cirurgia. A- Lâmina corada com Hematoxilina e Eosina mostrando aderência entre o fígado e o estômago, apontada entre setas pretas. B- Lâmina corada com Picrosirius Red mostrando aderência entre o fígado e o estômago, apontada entre setas pretas. C- Lâmina corada com Hematoxilina e Eosina mostrando aderência entre o fígado, o estômago e a parede abdominal, apontada entre setas pretas. D- Lâmina corada com Hematoxilina e Eosina mostrando aderência entre o fígado, o estômago e a parede abdominal, apontada entre setas pretas, associada a abscesso hepático.

Dois ratos do grupo cirurgia possuíam abscessos hepáticos diagnosticados microscopicamente, nenhum exame de cultura foi realizado no material do abscesso e portanto, a etiologia dos abscessos é desconhecida. Ambos os animais tinham abscesso único e não havia sinal de deiscência de sutura. Estes animais não apresentavam sinais de doença ou de dor.

No grupo sham, ao avaliar as lâminas coradas pelo HE, as aderências apresentavam pouca infiltração de células inflamatórias e pouca ou nenhuma neovascularização. Ao avaliar as lâminas coradas pelo PR sob luz polarizada, notavam-se poucas fibras de colágeno.

## DISCUSSÃO

As aderências são bandas anormais de tecido conjuntivo com a presença de colágeno, causadas pelo comprometimento da degradação da fibrina depositada, formando ligações não anatômicas entre os órgãos ou tecidos<sup>1,6,9</sup>. São inúmeros os fatores que podem induzir a formação de aderências peritoneais, como os processos infecciosos e inflamatórios, doenças pré-existentes, o trauma cirúrgico, as doenças proliferativas, a radiação,

presença de corpo estranho, de sangramento ou de coágulos e a técnica operatória<sup>1-3,6,7,10</sup>.

A formação das aderências decorre de um desequilíbrio entre a deposição da fibrina e a sua degradação nos tecidos peritoneais, sendo a redução da atividade fibrinolítica a principal alteração que leva à formação das aderências peritoneais<sup>3,8-10,12-14,17</sup>. Esta fibrina remanescente é a base para a proliferação celular, a deposição do colágeno e o crescimento vascular e neuronal<sup>12,17</sup>. Quando as aderências peritoneais se tornam bem organizadas e vascularizadas, são consideradas permanentes<sup>12</sup>. A isquemia é outro importante fator na formação das aderências peritoneais, induzindo a deposição da fibrina<sup>1,3,6,9</sup> e pode, assim como a inflamação, suprimir a atividade fibrinolítica pela superexpressão dos inibidores do ativador do plasminogênio 1 e 23.

As aderências peritoneais são uma importante causa de morbidade pós-operatória, dor crônica, infertilidade feminina, complicações abdominais pós-operatórias e óbito, com grande impacto socioeconômico<sup>1-11</sup>. A formação de aderências é a complicação pós-operatória mais encontrada após a realização de operações na cavidade peritoneal, sendo a principal causa de reoperações nos primeiros dez anos após as cirurgias iniciais<sup>3</sup>.

Na tentativa de reduzir o trauma cirúrgico, preconiza-se o manuseio delicado dos órgãos durante o procedimento operatório, a dissecação estritamente necessária, a umidificação constante dos órgãos intra-abdominais, a hemostasia rigorosa, além de suturas com tensão adequada, prevenção de isquemia e de infecções. Estes princípios foram introduzidos por William S. Halsted e são os princípios básicos da boa técnica operatória<sup>3,6,18,19</sup>.

A incidência de aderências pós-operatórias é variada, sendo encontrada em 67% a 95% dos pacientes submetidos a laparotomia prévia<sup>7,9,10</sup> e, quando se analisam somente os procedimentos laparoscópicos, pode atingir até 45% dos pacientes<sup>9</sup>. As aderências também podem ser encontradas entre 10,4% a 28% dos pacientes que nunca foram submetidos à cirurgia abdominal<sup>17,20</sup>, ou seja, estas aderências que não são associadas ao traumatismo cirúrgico prévio, foram encontradas durante a primeira cirurgia abdominal ou durante a necropsia.

Alguns modelos experimentais em animais<sup>1,2,4,5,10-15</sup> têm sido usados para induzir aderências

peritoneais, mas grande parte destes experimentos cria aderências através de procedimentos cirúrgicos que, na prática cirúrgica cotidiana, seriam evitados ao máximo, visto que vão diretamente contra os princípios cirúrgicos de Halsted e as suas orientações para minimizar o trauma.

Exemplificando entre os modelos utilizados na literatura, não deveriam ser realizados traumatismos propositais ao corno uterino, como relatado por Harris et al.<sup>14</sup>, por gerarem danos desnecessários e possivelmente, sangramento, assim como os traumas realizados às serosas das alças intestinais<sup>1,2,5,14</sup>. Ou seja, para evitar a formação de aderências, o manuseio mais delicado possível das estruturas é indicado, além da otimização do uso dos fios de sutura e da abstenção do uso de luvas com talco, entre outras orientações. Portanto, quando os modelos animais de indução de aderências peritoneais baseiam-se nos procedimentos que tenta-se ao máximo evitar, obter-se-á pouca correlação com as principais causas de aderências pós-operatórias encontradas na prática cirúrgica rotineira.

O modelo adotado por Thomas & Rhoads<sup>11</sup> opta pela ressecção de uma seção retangular da camada serosa do ceco, com e sem a realização de sobressutura utilizando o fio de seda, mas este modelo não foi capaz de causar aderências em todos os animais, alcançando a formação de aderências em 74% e 28,5% dos animais, respectivamente. A opção pelo fio de seda foi feita, mesmo com os autores suspeitando que a presença deste tipo de fio poderia induzir a formação de aderências peritoneais<sup>11</sup>. Nesta publicação foi realizada uma dissecação extensa, com a exclusiva intenção de causar um dano intenso o suficiente para formar aderências peritoneais, contrariando os princípios cirúrgicos de minimização de danos e falhando em formar aderência em todos os animais.

Ao comparar os métodos para induzir aderências peritoneais, Nair et al.<sup>12</sup> cita Thomas & Rhoads<sup>11</sup> ao dizer que a ressecção cirúrgica de parte das serosas intestinais poderia não fornecer bons resultados quanto à formação de aderências, preferindo a aplicação do álcool absoluto na serosa do ceco, pois os resultados foram "uniformemente satisfatórios", "bastante constantes" e com "pouca chance de divergência" quando optaram pela utilização do álcool. Isto jamais seria adotado na prática médica, primeiro por não possuir aplicabilidade clínica e segundo, pela certeza do dano à camada unicelular do mesotélio

peritoneal. Apesar do efeito tóxico do álcool, os resultados não foram constantes, em alguns animais não houve a formação de aderências peritoneais evidenciando a ausência na consistência de resultados<sup>12</sup>. Esses dois autores foram uns dos pioneiros na definição de modelos animais para indução de aderências peritoneais e frequentemente tem seus modelos replicados, ou adaptados, para serem utilizados em pesquisas com aderências peritoneais.

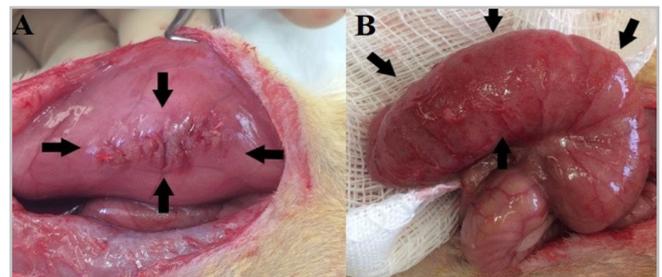
O emprego da abrasão cecal como modelo para indução de aderências peritoneais é, provavelmente, o mais frequentemente utilizado<sup>1,2,5,14</sup>. Para aumentar a chance de criar aderências, alguns autores associam à abrasão do peritônio parietal acima do ceco<sup>4,10</sup>, ou associada à ressecção do peritônio e camada muscular sobre o ceco, com a fixação<sup>14</sup> ou sem a fixação do ceco próximo à área da ressecção do peritônio parietal<sup>5</sup>. A abrasão cecal, até a remoção da serosa da alça, além de não ser capaz de causar aderências em todos os animais, causa dano com o propósito exclusivo de causar aderências, mas que aumenta o risco de fístulas, além de nunca ser feito em humanos e portanto não é uma das causas mais comuns de formação das aderências na prática cirúrgica.

Além da abrasão cecal, foram descritos a incisão cecal, que foi associada a dois óbitos relacionados à deiscência de sutura<sup>2</sup>, a abrasão peritoneal isolada<sup>1,4,13</sup>, a excisão peritoneal isolada<sup>1,13,14</sup> ou associada à sutura do defeito peritoneal<sup>4</sup>, o botão peritoneal<sup>4,13</sup>, a eletrocauterização do peritônio com ou sem sobressutura do peritônio cauterizado<sup>1,4</sup>, o trauma do corno uterino<sup>14</sup>, a peritonite<sup>14</sup>, a abrasão cecal com metanol<sup>14</sup> e a gastroenteroanastomose<sup>15</sup>.

Antes da idealização deste modelo animal, foram testadas a abrasão cecal associada à eletrocauterização do peritônio parietal contralateral, seguida de sobressutura da área cauterizada, com fio de poliglactina 4.0. À necrópsia não foram encontradas aderências peritoneais, embora fosse possível notar alterações macroscópicas decorrentes dos procedimentos realizados (Figura 7). Testou-se então a gastroenteroanastomose<sup>15</sup>, mas esse modelo mostrou-se tecnicamente desafiador pois todos os animais morreram entre o segundo e o quinto dia de pós-operatório.

A maioria dos modelos descritos na literatura específica exercem seu efeito de forma similar,

aumentando exponencialmente os danos, para que consigam formar aderências, sem se importar com o real motivo dos estudos com aderências que é a elucidação de sua fisiopatologia ou a pesquisa de formas de prevenção. Causar danos exacerbados cria aderências, mas não como a maioria das aderências são formadas e, portanto, como a causa da aderência é distinta, sua prevenção pode também o ser. Por isso é imprescindível a utilização de um modelo que induza aderência peritoneal pós-operatória em todos os animais operados, e que apresente aderências de aspecto consistente para a futura comparação



**Figura 7.** Rato pré-estudo, submetido à eletrocoagulação peritoneal com sutura e à abrasão cecal. As setas pretas apontam para as áreas com danos. A- Eletrocoagulação com sutura. B- Abrasão cecal.

Desenvolveu-se, então, um novo modelo de indução de aderências peritoneais com a realização de uma operação no estômago, que era submetido a uma incisão (gastrotomia) em sua parede anterior, seguido de imediato fechamento (gastrorrafia), mimetizando um procedimento cirúrgico na região supramesocólica e semelhante à forma como são realizados rotineiramente em humanos, ou seja, evitando danos desnecessários ou exagerados. Os resultados evidenciaram a formação de aderências peritoneais em todos os animais do grupo cirúrgico, sem nenhum óbito.

Para a análise das aderências, optamos pelas escalas de Nair e Evans, que avaliam aspectos macroscópicos das aderências atribuindo graduações, lembrando que não foi tentada a ruptura por tração das aderências em nosso estudo, visando manter a integridade da aderência para posterior realização dos procedimentos histopatológicos, com a avaliação e a classificação sendo realizadas somente de forma macroscópica. Os resultados microscópicos confirmaram que as aderências analisadas apresentavam-se completamente formadas, afastando a possibilidade de tratarem-se de bandas de fibrina não degradadas.

Acredita-se que, após a realização do procedimento operatório descrito em nosso modelo animal, o contato constante do fígado com o estômago foi um dos fatores determinantes para a criação de aderências peritoneais estáveis entre estas estruturas. Na superfície anterior do estômago, submetida à gastrotomia e posterior sutura gástrica, houve a formação de uma reação inflamatória fisiológica, induzida tanto pela lesão infligida à parede gástrica, quanto pela necessidade do organismo em promover a regeneração e a cicatrização das áreas lesionadas. Embora o fígado não tenha sofrido trauma direto, a reação inflamatória com todo o seu processo de migração celular, deposição de fibrina e fibrinólise prejudicada, criou pontes de colágeno entre os dois órgãos que posteriormente se organizaram em forma de aderências.

Os modelos animais mais replicados, além de serem incapazes de formar aderências em todos os animais, quando o fazem não apresentam o mesmo padrão, o que impede a comparação já que não há previsibilidade do que será encontrado. Além disso buscam somente a formação de aderências e não que as aderências sejam formadas da mesma forma que as aderências formadas na clínica cirúrgica. Os procedimentos utilizados nesses modelos replicados frequentemente, em humanos seriam considerados má prática médica. O modelo descrito neste artigo replica uma operação que existe e é realizada em todo o mundo e para que seja realizada a gastrotomia e a gastrorrafia indica-se o máximo de cuidado para que somente a incisão gástrica seja o fator causador de injúria e, conseqüentemente de aderências

Além dessas considerações, deve-se ponderar a razão de os animais serem capaz de desenvolver

aderências quando estruturas peritoneais são lesionadas. A inibição completa da formação de aderências peritoneais é antifisiológica e potencialmente perigosa, uma vez que a formação de aderências peritoneais pode ter permitido que alguns animais fossem capazes de sobreviver aos traumatismos ou processos inflamatórios, impedindo a disseminação do agente agressor pela cavidade peritoneal, permitindo a evolução da espécie. A busca por substâncias que modulem, e não que anulem, o processo de formação de aderências peritoneais, pode ser a chave para reduzir a morbimortalidade causada por essa doença. Portanto, é extremamente importante ter-se um modelo animal adequado para induzir aderências peritoneais, que possa levar à formação de aderências sempre que adotado, que siga os princípios de não causar danos exagerados e desnecessários e que seja seguro para os animais.

## CONCLUSÃO

O modelo de gastrotomia seguida de gastrorrafia proposto neste trabalho induziu à formação de aderências peritoneais extensas, densas e estáveis em todos os animais operados, sem a utilização de técnicas que necessitem causar danos excessivos para atingir seu intento. O fator de grande diferenciação deste modelo para todos os outros pesquisados na literatura é o fato de o resultado esperado ser sempre o mesmo (a aderência do estômago e do epíplon à face posterior do fígado), variando somente em seu volume. Portanto, o novo modelo apresentado mostrou-se seguro e eficiente para induzir e estudar as aderências peritoneais.

## ABSTRACT

**Objective:** *this research objective was to develop a new peritoneal adhesion animal model that would lead to adhesions formation in all operated animals, simple and reproducible, associated with maintenance the animal's health.* **Methods:** *eighteen adult male Wistar rats (*Rattus norvegicus*) were randomly distributed into three groups: Control Group (anatomical and clinical parameters), Sham Group (delicate manipulation of the stomach and exposure of the peritoneal cavity to ambient air) and Surgery Group (gastrotomy followed by gastrorrhaphy). The animals were analyzed and classified macroscopically according to two adhesion classification models and differences between groups were considered significant when  $p < 0.05$ .* **Results:** *the six animals in the control group had no peritoneal adhesions, three of the six animals in the sham group had focal peritoneal adhesions, and all animals in the surgery group (gastrotomy followed by gastrorrhaphy) had firm peritoneal adhesions. All adhesions found were macroscopically quantified and microscopically confirmed, without carrying out a microscopic classification of the adhesions.* **Conclusion:** *the new model developed of gastrotomy followed by gastrorrhaphy, proved to be safe and efficient to induce and study peritoneal adhesions.*

**Keywords:** *Models, Animal. Tissue Adhesions. Inflammation. General Surgery.*

## REFERÊNCIAS

- Whang SH, Astudillo JA, Sporn E, Bachman SL, Miedema BW, Davis W, Thaler K. In search of the best peritoneal adhesion model: comparison of different techniques in a rat model. *J Surg Res.* 2011;167(2):245-50. doi: 10.1016/j.jss.2009.06.020.
- Lauder CI, Garcea G, Strickland A, Maddern GJ. Use of a modified chitosan-dextran gel to prevent peritoneal adhesions in a rat model. *J Surg Res.* 2011;171(2):877-82. doi: 10.1016/j.jss.2010.06.028.
- Mais V. Peritoneal adhesions after laparoscopic gastrointestinal surgery. *World J Gastroenterol.* 2014;20(17):4917-25. doi: 10.3748/wjg.v20.i17.4917.
- Kraemer B, Wallwiener C, Rajab TK, Brochhausen C, Wallwiener M, Rothmund R. Standardised models for inducing experimental peritoneal adhesions in female rats. *Biomed Res Int.* 2014;2014:435056. doi: 10.1155/2014/435056.
- Poehnert D, Abbas M, Kreipe HH, Klempnauer J, Winny M. High reproducibility of adhesion formation in rat with meso-stitch approximation of injured cecum and abdominal wall. *Int J Med Sci.* 2015;12(1):1-6. doi: 10.7150/ijms.8870.
- Rocca A, Aprea G, Surfaro G, Amato M, Giuliani A, Paccone M, et al. Prevention and treatment of peritoneal adhesions in patients affected by vascular diseases following surgery: a review of the literature. *Open Med (Wars).* 2016;11(1):106-114. doi: 10.1515/med-2016-0021.
- Makarchian HR, Kasraianfard A, Ghaderzadeh P, Javadi SM, Ghorbanpoor M. The effectiveness of heparin, platelet-rich plasma (PRP), and silver nanoparticles on prevention of postoperative peritoneal adhesion formation in rats. *Acta Cir Bras.* 2017;32(1):22-7. doi: 10.1590/s0102-865020170103.
- Karakaş DÖ, Dandin Ö, Müftüoğlu T, Tihan D, Bal AS, Yıldırım Ş. Effect of platelet-rich plasma on postoperative peritoneal inflammation and adhesions. *Arch Med Sci.* 2020;17(5):1408-13. doi: 10.5114/aoms.2020.94538.
- Correa-Rovelo JM, Villanueva-López GC, Medina-Santillan R, Carrillo-Esper R, DíazGirón-Gidi A. Intestinal obstruction secondary to postoperative adhesion formation in abdominal surgery. Review. *Cir Cir.* 2015;83(4):345-51. doi: 10.1016/j.circir.2015.05.024.
- Wei G, Chen X, Wang G, Fan L, Wang K, Li X. Effect of Resveratrol on the Prevention of Intra-Abdominal Adhesion Formation in a Rat Model. *Cell Physiol Biochem.* 2016;39(1):33- 46. doi: 10.1159/000445603.
- ThomasJW, RhoadsJE. Adhesions resulting from removal of serosa from an area of bowel; failure of "oversewing" to lower incidence in the rat and the guinea pig. *Arch Surg.* 1950;61(3):565-7. doi: 10.1001/archsurg.1950.01250020570015.
- NairSK, BhatIK, AuroraAL. Role of proteolytic enzyme in the prevention of postoperative intraperitoneal adhesions. *Arch Surg.* 1974;108(6):849-53. doi: 10.1001/archsurg.1974.01350300081019.
- Evans DM, McAree K, Guyton DP, Hawkins N, Stakleff K. Dose dependency and wound healing aspects of the use of tissue plasminogen activator in the prevention of intra-abdominal adhesions. *Am J Surg.* 1993;165(2):229-32. doi: 10.1016/s0002-9610(05)80516-1.
- Harris ES, Morgan RF, Rodeheaver GT. Analysis of the kinetics of peritoneal adhesion formation in the rat and evaluation of potential antiadhesive agents. *Surgery.* 1995;117(6):663-9. doi: 10.1016/s0039-6060(95)80010-7.
- Schanaider A, Cotta-Pereira R, Silva PC, Macedo-Ramos H, Silva JD, Teixeira PA, et al. Exogenous pulmonary surfactant prevents the development of intra-abdominal adhesions in rats. *J Cell Mol Med.* 2016;20(4):632-43. doi: 10.1111/jcmm.12758.
- Conselho Nacional de Controle e Experimentação Animal. RESOLUÇÃO NORMATIVA Nº 25. Brasília: CONCEA; 2015. 33p.
- ArungW, MeurisseM, DetryO. Pathophysiology and prevention of postoperative peritoneal adhesions. *World J Gastroenterol.* 2011;17(41):4545-53. doi: 10.3748/wjg.v17.i41.4545.
- Heuer GJ, Miller RT, Matas R. In memoriam William Steward Halsted: 1852- 1922. *Arch Surg*

- 1925;10:293-305.
19. Menzies D, Ellis H. Intestinal obstruction from adhesions--how big is the problem? *Ann R Coll Surg Engl.* 1990;72(1):60-3.
20. Weibel MA, Majno G. Peritoneal adhesions and their relation to abdominal surgery. A postmortem study. *Am J Surg.* 1973;126(3):345-53. doi: 10.1016/s0002-9610(73)80123-0.

Recebido em: 18/08/2022

Aceito para publicação em: 15/03/2023

Conflito de interesses: não.

Fonte de financiamento: nenhuma.

**Endereço para correspondência:**

Antonio Augusto Ribeiro Dias Pires

E-mail: antonio.oncosurg@gmail.com

