LEDA MARQUES DE OLIVEIRA-BARROS

**Avaliação histológica e imunoistoquímica da inervação
intestinal em cães portadores de intussuscepção
submetidos a enterectomia**

Dissertação apresentada ao Programa de
Pós-Graduação em Clínica Cirúrgica
Veterinária da Faculdade de Medicina
Veterinária e Zootecnia da Universidade de
São Paulo para obtenção do título de Mestre
em Medicina Veterinária

Departamento:

Cirurgia

Área de concentração:

Clínica Cirúrgica Veterinária

Orientador:

Prof^a. Dr^a. Julia Maria Matera

São Paulo

2008

Autorizo a reprodução parcial ou total desta obra, para fins acadêmicos, desde que citada a fonte.

DADOS INTERNACIONAIS DE CATALOGAÇÃO-NA-PUBLICAÇÃO

(Biblioteca Virginie Buff D'Ápice da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo)

T.2028
FMVZ

Oliveira-Barros, Leda Marques de
Avaliação histológica e imunoistoquímica da inervação intestinal em
cães portadores de intussuscepção submetidos a enterectomia / Leda
Marques de Oliveira-Barros. – São Paulo : L. M. Oliveira-Barros, 2008.
114 f. : il.

Dissertação (mestrado) - Universidade de São Paulo. Faculdade de
Medicina Veterinária e Zootecnia. Departamento de Cirurgia, 2008.

Programa de Pós-Graduação: Clínica Cirúrgica Veterinária.
Área de concentração: Clínica Cirúrgica Veterinária.

Orientador: Profa. Dra. Julia Maria Matera.

1. Intussuscepção. 2. Cães. 3. Histologia (avaliação).
4. Imunoistoquímica (avaliação). 5. Viabilidade da inervação intestinal.
I. Título.

ERRATA

<i>Página</i>	<i>Parágrafo</i>	<i>Linha</i>	<i>Onde se lê</i>	<i>Leia-se</i>
Capa	2	3	a	à
Folha de rosto	2	3	a	à
82	legenda tabela 12	2	ausência de plexos marcados	ausência de marcação
82	legenda tabela 12	2	pequena quantidade de plexos	marcação leve
82	legenda tabela 12	2	quantidade moderada de plexos	marcação moderada
82	legenda tabela 12	3	quantidade importante de plexos	marcação abundante

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia

Comissão Bioética

CERTIFICADO

Certificamos que o Projeto intitulado "Estudo clínico, cirúrgico, histológico e imunohistoquímico das obstruções intestinais em cães", protocolado sob o nº915/2006, utilizando animais (cães) atendidos na rotina do Hospital Veterinária da FMVZ, sob a responsabilidade da Profa. Dra. Júlia Maria Matera, está de acordo com os princípios éticos de experimentação animal da Comissão de Bioética da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo e foi aprovado em reunião de 16/08/06".

(We certify that the Research "Clinical, surgical, histological and immunohistochemical study of intestinal obstructive process in dogs", protocol number 915/2006, under the responsibility of Profa. Dra. Júlia Maria Matera, agree with Ethical Principles in Animal Research adopted by Bioethic Commission of the School of Veterinary Medicine and Animal Science of University of São Paulo and was approved in the meeting of the day 08/16/2006).

São Paulo, 04 de setembro de 2007

Prof. Dr. José Luis Bernardino Merusse
Presidente da Comissão de Bioética
FMVZ/USP

FOLHA DE AVALIAÇÃO

Nome: OLIVEIRA-BARROS, Leda Marques de

Título: **Avaliação histológica e imunoistoquímica da inervação intestinal em cães portadores de intussuscepção submetidos à enterectomia**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Clínica Cirúrgica Veterinária da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Mestre em Medicina Veterinária

Data: ____/____/____

Banca Examinadora

Prof. Dr. _____ Instituição: _____

Assinatura: _____ Julgamento: _____

Prof. Dr. _____ Instituição: _____

Assinatura: _____ Julgamento: _____

Prof. Dr. _____ Instituição: _____

Assinatura: _____ Julgamento: _____

Ao Luiz Felipe, porque o amo mais que tudo. Por tanto companheirismo, apoio, incentivo, dedicação, paciência e amor.

Aos meus pais Roberto e Silvia, por serem tão especiais e terem dedicado suas vidas à minha formação.

A toda minha família, meu porto-seguro, por serem o alicerce da minha vida e sempre acreditarem na minha capacidade.

Aos meus sogros Silvia e Paulo Sérgio, pelo incentivo e exemplo.

À Thais Andrade Costa Casagrande, por ter sido muito mais do que uma amiga e muito mais do que uma companheira.

Ao Thunder, amigo fiel e leal.

“Nenhum caminho é longo demais quando estamos com quem amamos”

(provérbio chinês)

AGRADECIMENTOS

À Prof^a. Dr^a. Julia Maria Matera, pela orientação, confiança e por ser um exemplo de integridade moral e ética. Tenho muito orgulho de ser sua orientada.

Aos amigos de pós-graduação Ayne, Sam, Carol, Kelly, Leandro e Marcos, pela companhia valiosa e por dividirem momentos tão especiais.

Ao Bruno Cogliatti, pelos “ensinamentos imunoistoquímicos” e por tanta paciência e disponibilidade.

Ao Heidge Fukumasu, pela amizade e por tantas ajudas valiosas.

À Prof^a. Dr^a. Maria Lucia Zaidan Dagli por disponibilizar a infra-estrutura para a execução do trabalho e à Marguite pela suporte durante as imunoistoquímicas.

Ao Prof. Dr. José Luiz Catão-Dias por ser um amigo tão especial e presente.

À Prof^a. Dr^a. Silvia Renata Gaido Cortopassi e seus pós-graduandos, por cuidarem sempre tão bem dos animais na UTI.

Às médicas veterinárias do Serviço de Cirurgia e aos médicos veterinários do Serviço de Anestesia, pelo convívio prazeroso e pelos conhecimentos transmitidos.

Aos enfermeiros Lélis, Jesus, Otavio e Miron, com os quais sempre pude contar.

Ao Ney e a Alessandra, pelas inúmeras ajudas e favores.

Às bibliotecárias, em especial a Elza, pela formatação da tese.

À Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo pela minha formação acadêmica e profissional.

À CAPES e à FAPESP pelo suporte financeiro durante o período do mestrado.

Aos proprietários e aos animais que contribuíram com este estudo, meus sinceros agradecimentos e respeito.

A todas as outras pessoas que de alguma forma contribuíram para o desenvolvimento do meu trabalho.

RESUMO

OLIVEIRA-BARROS, L. M. **Avaliação histológica e imunoistoquímica da inervação intestinal em cães portadores de intussuscepção submetidos à enterectomia.** [Histologic and immunohistochemical evaluation of intestinal innervation in dogs with intussusceptions submitted to enterectomy]. 2008. 114 f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2008.

O objetivo do presente trabalho foi avaliar a preservação da inervação de porções intestinais macroscopicamente viáveis em cães portadores de intussuscepções. Para tanto, realizou-se comparação entre segmento intestinal proveniente deste grupo de animais (G1) e segmentos intestinais de animais sem qualquer distúrbio do aparelho digestório (G2). Avaliações histológicas e imunoistoquímicas foram realizadas em sistema computadorizado (Image Pro-Plus®) além da avaliação tardia da qualidade de vida e função digestiva. As variáveis analisadas foram: densidade média das camadas musculares circular e longitudinal, relação entre as camadas musculares, número média de plexos mioentéricos, densidade celular média dos plexos mioentéricos, grau de degeneração neuronal nos plexos mioentéricos, imunoreatividade à sinaptofisina e ao NSE além de existência de distúrbios de defecação. Com exceção da densidade celular média da camada longitudinal, relação entre as camadas musculares e imunoreatividade à sinaptofisina, todos os demais parâmetros apresentaram diferença estatisticamente significativas entre os grupos testados. Foram observadas correlações entre densidade celular média dos plexos mioentéricos e densidade celular média da camada muscular circular; grau de vacuolização dos plexos mioentéricos e imunoreatividade ao NSE; além de grau de vacuolização dos plexos mioentéricos e densidade celular média dos plexos mioentéricos. Quanto aos anticorpos utilizados, o NSE apresentou melhor padrão de marcação quando comparado à sinaptofisina. Dos 13 cães pertencentes ao G1, três foram a óbito no pós-operatório inicial. No período pós-operatório tardio, três cães apresentaram alterações de consistência e frequência de defecação, além de episódios diarreicos agudos intermitentes. O tempo de segmento foi de 6 meses após intervenção cirúrgica. Os achados deste estudo sugerem que porções

intestinais macroscopicamente viáveis podem apresentar lesões de inervação eventualmente traduzidas em sintomatologia clínica futura. Assim sendo, deve-se avaliar de maneira cuidadosa a margem cirúrgica preservada durante o procedimento de enterectomia/enteroanastomose bem como realizar acompanhamento da função digestória tardia.

Palavras-chave: Intussuscepção. Cães. Histologia (avaliação). Imunoistoquímica (avaliação). Viabilidade da inervação intestinal.

ABSTRACT

OLIVEIRA-BARROS, L. M. **Histologic and immunohistochemical evaluation of intestinal innervation in dogs with intussusceptions submitted to enterectomy** [Avaliação histológica e imunoistoquímica da inervação intestinal em cães portadores de intussuscepção submetidos à enterectomia]. 2008. 114 f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2008.

The purpose of this study was to evaluate the preservation of the innervation of macroscopically viable bowel segments of dogs with intussusceptions. This group (G1) was compared to bowel segment of normal dogs (G2). Histological and immunohistochemical analysis were performed using computed system (Image Pro-Plus®). Late assessment of the quality of life and digestive function were also evaluated. Analyzed variables included: mean density of circular and longitudinal muscular layers cells, ratio between muscular layers, mean of myenteric plexuses, mean density of myenteric cells, neuronal degeneration degree in myenteric plexus, synaptophysin and NSE immunoreactivity and defecatory disorders. All tested parameters, except mean density of longitudinal muscular layers cells, ratio between muscular layers and synaptophysin immunoreactivity, showed statistical differences when group G1 was compared with group G2. Correlations between mean density of myenteric cells and mean density of circular muscular layers cells; neuronal degeneration degree in myenteric plexus and NSE immunoreactivity; neuronal degeneration degree in myenteric plexus and mean density of myenteric cells were observed. Regarding the immunohistochemical antibodies, NSE showed better staining pattern than synaptophysin. Three animals of G1 (n=13) died during the initial post-operative period. During the late post-operative period, three animals presented disorders in fecal consistency, frequency of defecation and acute intermittent diarrheal episodes. The follow-up time was 6 months. These findings showed that macroscopically viable bowel segments can present innervation damage eventually translated in clinical symptoms in the future. So, a careful evaluation of the preserved surgical margin during enterectomy and enteroanastomosis must be carried out as well as monitoring of the late digestive function.

Keywords: Intussusception. Dogs. Histology (evaluation). Immunohistochemical (evaluation). Intestinal innervation viability.

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

eNOS	óxido nítrico sintetase endotelial
FMVZ/USP	Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo
G1	grupo um
G1A	grupo de animais portadores de intussuscepções e localização anterior à obstrução
G1P	grupo de animais portadores de intussuscepções e localização posterior à obstrução
G1D	animais do grupo um com alterações no período pós-operatório tardio
G1O	animais do grupo um não avaliados no período pós-operatório tardio
G1S	animais do grupo um sem alterações no período pós-operatório tardio
G2	grupo dois
GFAP	proteína glial fibrilar ácida
GIST	tumor estromal do aparelho gastrointestinal
GNDF	fator neurotrófico derivado da glia
H ₂ O ₂	água oxigenada
IC	intervalo de confiança
IL-6	interleucina tipo 6
iNOS	óxido nítrico sintetase indutível
mg	miligramas
mm	milímetro
mm ²	milímetro quadrado
MMC	complexo motor migratório
MSE	enolase músculo-específico
n	número de amostras
NGF	fator de crescimento de neurônios
NNE	enolase não-neuronal
nNOS	óxido nítrico sintetase neuronal

NO	óxido nítrico
NOS	óxido nítrico sintetase
NSE	enolase neurônio-específica
PBS	tampão fosfato salino
pCO ₂	pressão parcial de CO ₂
pH	potencial hidrogeniônico
RNA	ácido ribonucléico
SMT	S-methylisothiurea
TNF- α	fator de necrose tumoral alfa
VIP	peptídeo intestinal vasoativo
μ l	mililitro
μ m	micrômetro
μ m ²	micrômetro quadrado

LISTA DE SÍMBOLOS

%	porcentagem
x	vezes
α	alfa
β	beta
γ	gama
°C	graus Celsius

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Quadro 1 – Descrição dos parâmetros clínicos e cirúrgicos dos animais acometidos por intussuscepção - FMVZ/USP. São Paulo, 2008	68
Gráfico 1 – Representação gráfica da média e desvio-padrão da densidade celular da camada muscular circular - FMVZ/USP. São Paulo, 2008.....	70
Gráfico 2 – Representação gráfica da média e desvio-padrão da densidade celular da camada muscular circular por subgrupo (quanto à localização) – FMVZ/USP. São Paulo, 2008	71
Gráfico 3 – Representação gráfica da média e desvio-padrão da densidade celular da camada muscular longitudinal - FMVZ/USP. São Paulo, 2008.....	72
Gráfico 4 – Representação gráfica da média e desvio-padrão da camada muscular longitudinal por subgrupo (quanto à localização) - FMVZ/USP. São Paulo – 2008	72
Gráfico 5 – Representação gráfica da relação média entre as camadas musculares - FMVZ/USP. São Paulo – 2008.....	74
Gráfico 6 – Representação gráfica da relação média entre as camadas musculares por subgrupo - FMVZ/USP. São Paulo – 2008.....	74
Gráfico 7 – Representação gráfica da média e desvio-padrão do número médio de plexos mioentéricos - FMVZ/USP. São Paulo – 2008	75
Gráfico 8 – Representação gráfica da média e desvio-padrão da densidade celular dos plexos mioentéricos (mm ²) - FMVZ/USP. São Paulo – 2008.....	77
Gráfico 9 – Representação gráfica da distribuição do grau de vacuolização dos plexos mioentéricos - FMVZ/USP. São Paulo – 2008.....	78
Gráfico 10 – Representação gráfica da distribuição de escores de quantificação de imunoreatividade à sinaptofisina nos plexos mioentéricos - FMVZ/USP. São Paulo – 2008.....	80
Gráfico 11 – Representação gráfica da distribuição de escores de quantificação de plexos mioentéricos imunoreativos à sinaptofisina - FMVZ/USP. São Paulo – 2008	80
Gráfico 12 – Representação gráfica da distribuição de escores de quantificação de imunoreatividade ao NSE nos plexos mioentéricos - FMVZ/USP. São Paulo – 2008.....	83

Gráfico 13 – Representação gráfica da distribuição de escores de quantificação de plexos mioentéricos imunoreativos ao NSE - FMVZ/USP. São Paulo – 2008	83
Gráfico 14 – Representação gráfica da densidade celular da camada muscular longitudinal nos subgrupos quanto à avaliação tardia - FMVZ/USP. São Paulo – 2008	87
Gráfico 15 – Representação gráfica da ausência de correlação linear entre o número de plexos mioentéricos e densidade celular dos plexos mioentéricos - FMVZ/USP. São Paulo – 2008	88
Gráfico 16 – Representação gráfica da ausência de correlação linear entre número de plexos mioentéricos e escore de imunoreatividade ao NSE nos plexos mioentéricos - FMVZ/USP. São Paulo – 2008.....	88
Gráfico 17 – Representação gráfica da correlação linear entre densidade celular dos plexos mioentéricos e densidade celular da camada muscular circular - FMVZ/USP. São Paulo – 2008	89
Gráfico 18 – Representação gráfica da correlação linear entre grau de vacuolização dos plexos mioentéricos e escore de imunoreatividade ao NSE nos plexos mioentéricos - FMVZ/USP. São Paulo – 2008	89
Gráfico 19 – Representação gráfica da correlação linear entre grau de vacuolização dos plexos mioentéricos e densidade celular dos plexos mioentéricos - FMVZ/USP. São Paulo – 2008.....	90
Figura 1 – Fotomicrografia obtida por meio de microscópio de luz de plexos mioentéricos - FMVZ/USP. São Paulo – 2008	76
Figura 2 – Fotomicrografia obtida por meio de microscópio de luz, de plexos mioentéricos imunoreativos à sinaptofisina de acordo com escore estabelecido - FMVZ/USP. São Paulo – 2008	81
Figura 3 – Fotomicrografia obtida por meio de microscópio de luz, de plexos mioentéricos imunoreativos ao NSE de acordo com escore estabelecido - FMVZ/USP. São Paulo – 2008	84

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Média, desvio-padrão, intervalo de confiança, valores mínimo e máximo da densidade celular da camada muscular circular - FMVZ/USP. São Paulo, 2008	70
Tabela 2 – Média, desvio-padrão, intervalo de confiança, valores mínimo e máximo da densidade celular da camada muscular circular por subgrupo (quanto a localização) – FMVZ/USP. São Paulo, 2008.....	70
Tabela 3 – Média, desvio-padrão, intervalo de confiança, valores mínimo e máximo da densidade celular da camada muscular longitudinal - FMVZ/USP. São Paulo, 2008	71
Tabela 4 – Média, desvio-padrão, intervalo de confiança, valores mínimo e máximo da densidade celular da camada muscular longitudinal por subgrupo (quanto a localização) - FMVZ/USP. São Paulo – 2008	71
Tabela 5 – Média, desvio-padrão, intervalo de confiança, valores mínimo e máximo da relação média entre camadas musculares - FMVZ/USP. São Paulo – 2008	73
Tabela 6 – Média, desvio-padrão, intervalo de confiança, valores mínimo e máximo da relação média entre camadas musculares por subgrupo - FMVZ/USP. São Paulo – 2008	73
Tabela 7 – Média, desvio-padrão, intervalo de confiança, valores mínimo e máximo do número médio de plexos mioentéricos - FMVZ/USP. São Paulo – 2008	75
Tabela 8 – Média, desvio-padrão, intervalo de confiança, valores mínimo e máximo da densidade celular dos plexos miontericos (mm ²) - FMVZ/USP. São Paulo – 2008	77
Tabela 9 – Distribuição do grau de vacuolização dos plexos mioentéricos - FMVZ/USP. São Paulo – 2008	78
Tabela 10 – Distribuição de escores de quantificação de imunoreatividade à sinaptofisina nos plexos mioentéricos - FMVZ/USP. São Paulo – 2008.....	79
Tabela 11 – Distribuição de escores de quantificação de plexos mioentéricos imunoreativos à sinaptofisina - FMVZ/USP. São Paulo – 2008	80
Tabela 12 – Distribuição de escores de quantificação de imunoreatividade ao NSE nos plexos mioentéricos - FMVZ/USP. São Paulo – 2008.....	82

Tabela 13 – Distribuição de escores de quantificação de plexos mioentéricos imunoativos ao NSE - FMVZ/USP. São Paulo – 2008.....	83
Tabela 14 – Média e desvio-padrão de variáveis por subgrupo quanto à avaliação tardia - FMVZ/USP. São Paulo – 2008	86
Tabela 15 – Distribuição das porcentagens de imunoreatividade ao NSE e sinaptofisina nos subgrupos quanto à avaliação tardia - FMVZ/USP. São Paulo – 2008	86
Tabela 16 – Distribuição das porcentagens dos escores de vacuolização nos subgrupos quanto à avaliação tardia - FMVZ/USP. São Paulo – 2008.....	86

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	22
2	REVISÃO DE LITERATURA	25
2.1	Anatomia do aparelho digestório	26
2.2	Histologia do aparelho digestório	26
2.2.1	Intestino Delgado	28
2.2.2	Intestino Grosso	29
2.3	Inervação Intestinal	29
2.4	Motilidade Intestinal	30
2.5	Doenças Obstrutivas em cães	35
2.6	Intussuscepção	37
2.7	Avaliação da viabilidade intestinal	44
2.8	Avaliação da viabilidade da inervação intestinal	45
2.9	Imunoistoquímica	51
2.9.1	Sinaptofisina	52
2.9.2	Enolase Neurônio-Específica	53
3	OBJETIVO	56
4	MATERIAL E MÉTODO	58
4.1	Seleção dos animais	59
4.2	Critério de exclusão	59
4.3	Delineamento experimental	60
4.4	Coleta de material	60
4.5	Processamento do material	61
4.5.1	Processamento histológico	61

4.5.2	Processamento imunoistoquímico.....	61
4.6	Avaliação do material	62
4.6.1	Avaliação histológica.....	62
4.6.1.1	<i>Mensuração das camadas musculares</i>	62
4.6.1.2	<i>Quantificação do número de plexos mioentéricos</i>	63
4.6.1.3	<i>Mensuração da densidade celular dos plexos mioentéricos</i>	63
4.6.1.4	<i>Determinação do grau de degeneração neuronal nos plexos mioentéricos</i>	63
4.6.2	Avaliação imunoistoquímica.....	64
4.7	Avaliação pós-operatória tardia dos animais submetidos a enterectomia e enteroanastomose	64
4.8	Análise estatística	65
5	RESULTADOS	66
5.1	Resultados histológico	69
5.1.1	Mensuração das camadas musculares	69
5.1.1.1	<i>Densidade celular das camadas musculares</i>	69
5.1.1.2	<i>Relação entre as camadas musculares</i>	73
5.1.2	Quantificação do número de plexos mioentéricos.....	75
5.1.3	Mensuração da densidade celular dos plexos mioentéricos	77
5.1.4	Determinação do grau de degeneração neuronal nos plexos mioentéricos.....	78
5.2	Resultados imunoistoquímicos	79
5.2.1	Imunoreatividade à Sinaptofisina	79
5.2.2	Imunoreatividade à Enolase Neurônio-Específica.....	82

5.3	Avaliação pós-operatória tardia dos animais submetidos enterectomia e enteroanastomose	85
5.4	Correlação entre as variáveis analisadas	87
6	DISCUSSÃO	91
7	CONCLUSÃO	101
	REFERÊNCIAS.....	103

INTRODUÇÃO

1 INTRODUÇÃO

As afecções gastrointestinais são bastante freqüentes na clínica de pequenos animais. Dentre estas, os quadros obstrutivos são considerados emergências cirúrgicas e são responsáveis por altos índices de morbidade e mortalidade. A intussuscepção é uma afecção importante no que diz respeito ao número de pacientes afetados e ao risco inerente de morte. Além disso, busca-se não apenas sua correção como também a completa recuperação da função intestinal.

A avaliação da viabilidade intestinal é ainda hoje um grande desafio para a medicina humana e veterinária. Sua sub ou superestimação podem levar a conseqüências desastrosas em um paciente, e devem ser cautelosamente analisadas (ORLAND et al., 1993; BEILER et al., 2004). Embora existam diversos métodos disponíveis para estimar a extensão de lesão tecidual, a análise trans-cirúrgica ainda é discutida. A avaliação da inervação é ainda mais complexa e eventualmente resulta em distúrbios motores pós-operatórios. Estudos sobre a motilidade gastrointestinal iniciaram-se em 1833 por Beaumont que observou, através de fistula gastrocutânea secundária a ferimentos, efeitos sobre o aparelho digestivo de um militar ferido em combate. Em 1899, Bayliss e Starling descreveram pela primeira vez a existência de movimentos peristálticos no intestino delgado. Na medicina veterinária, este movimento foi observado em gatos apenas no ano de 1911 por Canon, com auxílio de fluoroscópio. Só em 1922 foi reportada a existência de atividade elétrica digestiva (LOPASSO, 2004). Desde então, a contínua observação deste aparelho tem mostrado seu comportamento fisiológico e permitido a identificação de alterações patológicas, o que cresceu geometricamente com a neurofisiologia, bioquímica celular e descoberta de neuro-hormônios (VIEBIG, 2006).

Atualmente, a comunidade científica tem pleno conhecimento da atividade neuromotora intestinal, através da identificação de atividade elétrica e mensuração de contrações intestinais. Porém, estas não são técnicas de simples execução e ficam limitadas em algumas situações. O registro mioelétrico da função intestinal é possível através de eletrodos implantados via laparotomia ou laparoscopia e não necessitam de nova operação para sua retirada. Entretanto, necessitam de um conjunto de medidas complexas além de serem demasiadamente onerosos,

principalmente para a medicina veterinária. O mesmo ocorre com a utilização de eletrodos via sondas nasoentéricas longas. Exatamente por apresentarem baixa aplicabilidade, estes métodos não apresentam padronização e estão sujeitos a interpretações controversas (ORLAND et al., 1993; LOPASSO, 2004).

O único método que permanecer clinicamente operacional é a observação de motilidade intestinal por meio da progressão de coluna baritada. Entretanto, este exame fornece apenas dados qualitativos e fragmentários. Mesmo os marcadores radioisótopos, de tecnologia avançada, apresentam limitações quanto à imprecisão na identificação do segmento intestinal em que ele se encontra (LOPASSO, 2004).

A busca por métodos alternativos inclui a utilização de avaliação histológica e imunoistoquímica, com a finalidade de alcançar métodos mais quantitativos e desta forma, evitar o aparecimento de alterações de motilidade intestinal.

REVISÃO DE LITERATURA

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Anatomia do aparelho digestório

O aparelho digestório dos cães é composto por um aparelho segmentado em cavidade oral, esôfago, estômago, intestino delgado e grosso, reto e ânus, e por glândulas anexas: salivares, fígado e pâncreas (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2004).

Relativamente longo, o intestino delgado se estende do piloro até o orifício íleo-cólico. Engloba duodeno (porção relativamente fixa e curta), jejuno (porção longa e móvel) e íleo (porção curta e terminal) (OLIVEIRA, 1995).

O intestino grosso por sua vez é subdividido em ceco, cólon e reto. Inicia-se na porção ileocecal, estende-se até o ânus e apresenta diâmetro superior ao delgado em toda a sua extensão. O ceco é um segmento intestinal curto de fundo cego, com conexão apenas ao cólon imediatamente além da junção ileo-cólica. O cólon pode ser dividido em três porções, de acordo com seu posicionamento anatômico: cólon ascendente, transverso e descendente.

A principal função do aparelho digestório é obter moléculas necessárias para o crescimento, manutenção e demais capacidades energéticas do organismo através dos alimentos ingeridos. Para tal, são necessários processos como a digestão, absorção e secreção de substâncias. Além disso, o aparelho gastrointestinal tem relevante função imunológica, uma vez que constitui importante barreira protetora entre meio externo (lúmen intestinal) e meio interno (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2004).

2.2 Histologia do aparelho digestório

Todo o aparelho digestório apresenta características estruturais comuns. Trata-se de um tubo oco composto por luz ou lúmen de diâmetro variável, circundado por parede composta por quatro camadas distintas: mucosa, submucosa,

muscular e serosa (COOLMAN; EHRHART; MARRETTA, 2000; JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2004; PATRICIO; LANZONI, 2004).

A camada mucosa, mais interna, pode ser subdividida em revestimento epitelial, lâmina própria de tecido conjuntivo frouxo, rico em vasos sanguíneos, linfáticos e células musculares lisas, além da muscular da mucosa. Esta tem como função promover a movimentação da mucosa independentemente de outros movimentos do trato, aumentando assim o contato do órgão com o alimento (COOLMAN; EHRHART; MARRETTA, 2000; JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2004).

Na submucosa, encontra-se o plexo nervoso submucoso ou plexo de Meissner além de vasos sanguíneos, linfáticos, glândulas e tecido linfóide (COOLMAN; EHRHART; MARRETTA, 2000; JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2004).

A camada muscular é composta por células musculares lisas orientadas em espiral divididas em subcamada interna circular e externa longitudinal. A camada circular propicia a segmentação e mistura da ingesta, enquanto a longitudinal, a propulsão do conteúdo luminal (COOLMAN; EHRHART; MARRETTA, 2000). Entre as camadas musculares encontra-se o plexo nervoso mioentérico ou plexo de Auerbach além de tecido conjuntivo, vasos sanguíneos e linfáticos. Este plexo é formado por agregados de células nervosas formadoras de gânglios e extensa rede de fibras neuronais que possibilitam a comunicação interganglionar. Esta composição nervosa é responsável pela geração e coordenação de impulsos elétricos que controlam a contração muscular. Ao longo do aparelho digestório, existe variação do número de gânglios, sendo mais numerosos em regiões com maior motilidade. A deficiência ou inexistência de controle nervoso acaba por gerar perturbações da motilidade intestinal (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2004).

A camada mais externa do aparelho digestório é chamada de serosa e é constituída por tecido conjuntivo frouxo, tecido adiposo, vasos sanguíneos e grande quantidade de vasos linfáticos. É revestida por epitélio pavimentoso simples, denominado mesotélio.

A renovação intestinal por descamação é constante e baseia-se na divisão de células-tronco presentes em várias porções intestinais. No intestino delgado, as células morrem por apoptose no topo das vilosidades, de onde são descamadas (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2004).

2.2.1 Intestino Delgado

Com a finalidade de aumentar a superfície de contato e conseqüentemente, o poder de absorção, o intestino apresenta projeções alongadas de mucosa (compostas por epitélio e lâmina própria) em direção ao lúmen, denominadas de vilosidades intestinais. No duodeno, apresentam forma de folha e gradualmente assumem forma de dedos em direção ao íleo. Entre os vilos, existem aberturas de glândulas intestinais ou Glândulas de Lieberkühn denominadas criptas. As glândulas intestinais possuem células-tronco, células enteroendócrinas, células absortivas, células caliciformes (produtoras de muco protetor), células de Paneth. Estas últimas apresentam ação antibacteriana, uma vez que são capazes de digerir lisozima, constituinte da parede de microorganismos (PATRICIO; LANZONI, 2004). No jejuno, porém não exclusivamente nesta porção, encontram-se as *plicae circularis* ou válvulas de Kerckring, pregas permanentes de mucosa e submucosa com funções semelhantes às vilosidades (PATRICIO; LANZONI, 2004). A movimentação da camada muscular da mucosa, em comunicação com a da lâmina própria de todos os vilos, é responsável pela movimentação rítmica das vilosidades, importante no processo de absorção de nutrientes (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2004).

A camada submucosa da porção inicial do duodeno apresenta um grupo de glândulas tubulares enoveladas que se abrem em glândulas intestinais, denominadas glândulas de Brünner ou glândulas duodenais. O produto de sua secreção é alcalino (pH 8,1-9,3), o que propicia proteção da mucosa duodenal contra os efeitos do suco gástrico e neutraliza o quimo para a ação de enzimas pancreáticas (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2004).

Importantes componentes do tecido linfóide, as Placas de Peyer são nódulos linfáticos agregados, presentes na lâmina própria e submucosa do delgado. Nesta porção intestinal, a camada muscular é bem desenvolvida.

2.2.2 Intestino Grosso

O intestino grosso apresenta camada mucosa sem vilosidades e sem pregas, com exceção do reto. As glândulas intestinais são longas e apresentam grande número de células caliciformes e absortivas, além de pequeno grupo de células enteroendócrinas. Em virtude da abundância da população bacteriana nesta região, a lâmina própria está repleta de células e nódulos linfóides. Semelhante ao intestino delgado, a camada muscular é formada por porção circular interna e longitudinal externa. Porém, as fibras da camada longitudinal externa se unem para formar três bandas longitudinais espessas, denominadas tênias do cólon (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2004).

Na região anal é possível a identificação de colunas retais ou de Morgagni, definidas como uma série de dobras longitudinais formadas a partir da mucosa. Próxima à abertura anal, a mucosa intestinal é substituída por epitélio pavimentoso estratificado e a lâmina própria contém plexo de veias de grande calibre (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2004).

2.3 Inervação Intestinal

A inervação intestinal é formada por um componente intrínseco e um extrínseco. A inervação intrínseca, também denominada Sistema Nervoso Entérico, é composta pelo Plexo Nervoso Mioentérico ou Plexo de Auerbach e pelo Plexo Submucoso ou de Meissner. O primeiro e mais importante está localizado entre as camadas musculares externas (ou longitudinais) e internas (ou circulares), enquanto o segundo, na camada submucosa. A regulação da motilidade intestinal é atribuída principalmente ao plexo de Auerbach, enquanto o de Meissner assegura o controle de secreções e absorções do órgão (KHEN et al., 2004). Estes plexos contêm neurônios efetores e neurônios sensoriais que recebem informações de terminações nervosas quanto ao conteúdo (quimiorreceptores) e distensão da parede intestinal (mecanorreceptores). A inervação extrínseca, pertencente ao sistema nervoso

autônomo, é formada por fibras colinérgicas parassimpáticas que estimulam a musculatura lisa intestinal e por fibras adrenérgicas simpáticas, atenuantes da atividade desta musculatura (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2004).

O sistema intrínseco é responsável pela contração intestinal independente do sistema extrínseco (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2004). As funções motoras dos segmentos intestinais são executadas pelas camadas musculares. O quimo é impulsionado poucos centímetros à frente por movimentos segmentares e pequenas contrações peristálticas. Raramente uma onda percorre toda a extensão intestinal (LOPASSO, 2004). Estas contrações rítmicas sincronizadas das camadas musculares caracterizam o peristaltismo, impelindo o conteúdo intestinal para a porção distal.

As células de Cajal são um grupo de células de origem mesenquimal do aparelho gastrointestinal, inicialmente descritas por Santiago Ramón e Cajal em meados do século XX. Estas células encontram-se em importante associação com as camadas musculares e demais células nervosas. Elas são consideradas os marcapassos intestinais através da geração de impulsos rítmicos, traduzidos em ondas lentas. Funções adicionais incluem mediação de neurotransmissores e participação na propagação ativa de eventos elétricos intestinais (HUDSON et al., 1999; FINTL et al., 2004; KUBOTA et al., 2005). São identificadas em diferentes espécies e em diferentes sítios histológicos, como plexo mioentérico, camada muscular circular e submucosa (HUDSON et al., 1999; FINTL et al., 2004). Alterações neste grupo celular podem levar ao desenvolvimento de tumores estromais do aparelho gastrointestinal, conhecidos como GIST (JAIN et al., 2003)

2.4 Motilidade intestinal

O padrão de motilidade observado no intestino delgado é formado em movimentos segmentais de mistura do conteúdo luminal e movimentos peristálticos responsáveis pela propulsão do bolo. Ambos favorecem o contato do conteúdo com secreções intestinais e a superfície de absorção (KOHN, 1992; OLIVEIRA, 1995). As ondas peristálticas consistem da contração longitudinal da musculatura circular ao

longo do intestino, determinando anéis de constrição que propulsionam o conteúdo alimentar para segmentos distais. Os movimentos de segmentação são representados por contrações concêntricas do lúmen espaçadas por poucos centímetros, simultâneas e de curta duração, fazendo com que o bolo alimentar misture-se com secreções do aparelho digestório. Finalmente, os movimentos pendulares consistem de contração e relaxamento da musculatura longitudinal do intestino. Os movimentos pendulares são de difícil avaliação, ao contrário dos dois primeiros, passíveis de estudo por eletromiografia (OLIVEIRA, 1995; RASSLAN, 2007a).

Associados às contrações, observam-se dois tipos de atividades elétricas. Originadas dos marcapassos intestinais localizados na camada longitudinal da musculatura intestinal do duodeno proximal, as ondas lentas “*slow waves*” são propagadas aboral ao longo da musculatura, porém não são responsáveis por contrações propriamente ditas. Estas contrações dependem da despolarização muscular decorrente das ondas lentas, mas são na eletromiografia associadas a descargas de pico “*spike bursts*”, sobrepostas às primeiras. Desta forma, as ondas lentas são responsáveis pela sincronização das contrações, enquanto as descargas de pico são efetivamente as causadoras de contrações. O duodeno é responsável pela descarga de aproximadamente 15 ondas lentas por minuto, número ligeiramente reduzido no íleo (KOHN, 1992; LIN et al., 2002; BROWN, 2003; GARCIA-CASADO; MARTINEZ-DE-JUAN; PONCE, 2005). As ondas lentas chamadas “ondas marcapassos” e o ritmo básico determinam o tempo e a frequência máxima de contrações, que diminuem gradualmente do duodeno para o íleo terminal (RASSLAN, 2007a).

Normalmente, o intestino delgado exhibe uma alternância cíclica entre períodos de atividade “*spike bursts*” e quiescência. Durante o jejum, o intestino encontra-se relativamente quiescente, embora ocorram contrações para mover secreções, debrís celulares e bactérias. Estas contrações, chamadas de Complexos Mioelétricos Migratórios (MMC) são propagadas por todo o intestino delgado, automaticamente, no período “interdigestivos” (LOPASSO, 2004). Desta forma, a continuidade intestinal é fundamental para a propagação das MMCs. Em locais de anastomoses, observa-se uma interrupção da propagação da MMC e reinício de complexos na porção posterior à afetada. Após a alimentação, observam-se atividades de pico

sobrepondo o estado de quiescência, o que está associado ao aumento da motilidade e subsequente digestão e transporte de ingestas (KOHN, 1992). Code e Marlett (1975) realizaram a divisão do complexo motor migratório do aparelho digestório em quatro fases. Na fase I, dita quiescência, observam-se ondas lentas com potenciais de ação ocasional. Durante a fase II, os potenciais de ação apresentam-se irregulares em frequência e intensidade. A fase III é caracterizada por potenciais de ação de alta amplitude superposta na sua quase totalidade por ondas lentas. Na fase IV, a frequência e a intensidade das potenciais de ação diminuem rapidamente até iniciar-se um novo ciclo (RASSLAN, 2007a).

Já no intestino grosso, vêem-se dois padrões básicos de atividade elétrica intestinal: pequenas descargas em pico com durações menores que 5 segundos e usualmente localizadas, além de longas descargas em pico, com durações entre 10 e 20 segundos e que se propagam tanto oral quanto aboral. A proporção entre longas e pequenas descargas em pico são responsáveis pelo tempo médio de retenção da ingesta no intestino grosso, influenciando de forma considerável a absorção de nutrientes e eliminação de fezes (RUCKEBUSCH, 1981).

Os marcapassos intestinais são essenciais para a perfeita motilidade intestinal. É atribuído a este grupo celular a geração de atividade de ondas lentas, fundamental para a coordenação do movimento. Acredita-se que a deficiência em número ou função destas células acabem por gerar desordens motoras ou disritmias digestivas (HUDSON et al., 1999; KUBOTA et al., 2005) e que esta disritmia na geração de ondas lentas cause disfunção peristáltica e aumento no tempo de trânsito alimentar (HUDSON et al., 1999). Este fato pode ser observado tanto em doenças congênitas como adquiridas, entre elas aganglionoses intestinais, doença de Hirschsprung, megacólon, doença de Crohn, constipações, estenose pilórica hipertrófica, colite ulcerativa e pseudo-obstrução intestinal idiopática crônica (HUDSON et al., 1999; WANG et al., 2000; KUBOTA et al., 2005; MATSUDA et al., 2006; NEUNLIST et al., 2007). Além disso, doenças sistêmicas como disautonomias e miopatias além da administração de determinadas drogas também podem ocasionar disfunções entéricas por alterações nas células de Cajal (AROCH et al., 1997; KUBOTA et al., 2005).

O estudo do envolvimento das células de Cajal na motilidade intestinal sofreu grande avanço após a descoberta de que estas células expressam proto-oncogenes

c-kit codificadores do receptor transmembrânico tirosina-quinase. O uso de anticorpos anti c-kit passou a representar uma das formas mais objetivas de avaliação dos marcapassos intestinais (HUDSON et al., 1999; FINTL et al., 2004).

Acredita-se que a musculatura intestinal apresente tônus inerente e atividade rítmica espontânea sem participação da inervação intrínseca e extrínseca (NEELY; CATCHPOLE, 1967). Além disso, as ondas lentas e MMCs são geradas independentemente da inervação extrínseca e mesmo na ausência desta inervação, pode-se observar peristaltismo. O único pré-requisito para a motilidade organizada é a integridade de plexos nervosos mioentéricos de Auerbach e Meissner (RUCKEBUSCH, 1981).

A motilidade intestinal depende da preservação da função de músculos, junções neuromusculares, controle endócrino e neural. Disfunções de um ou mais destes componentes pode levar a perda do controle, diminuição ou atividade aberrante (AROCH et al., 1997).

Diversos são os fatores moduladores da atividade mioelétrica intestinal, incluindo presença de alimento, atividade hormonal, ativação simpática e parassimpática além de lesões ou destruições das células envolvidas, tanto musculares quanto nervosas.

Sabe-se que após alimentação, a distensão intestinal com quimo estimula receptores mioentéricos locais que estimulam a motilidade proximal ao quimo e inibem motilidade distal a ele, resultando em peristaltismo.

A inervação extrínseca, composta pelo sistema nervoso simpático e parassimpático, modula os plexos nervosos mioentéricos através de efeitos inibitórios e excitatórios, interferindo desta forma na motilidade intestinal. Os efeitos inibitórios simpáticos são mediados por nervos esplâncnicos, gânglios paravertebrais, cordão espinal ou combinações entre eles. Quanto ao reflexo parassimpático excitatório, as vias aferentes incluem receptores de tensão na musculatura sensíveis a estímulos mecânicos como distensão moderada e contração, e receptores da mucosa que respondem a estímulos táteis e químicos. A via parassimpática eferente utiliza os nervos vago e pélvico (KOHN, 1992).

Deve-se ainda contar com a interferência de substâncias endógenas que contribuem na manutenção da homeostase da motilidade intestinal. Dentre as substâncias que aumentam a motilidade intestinal, tem-se a gastrina, a

colecistoquinina e o glucagon, sendo que este último age apenas na musculatura colônica. A secretina, o peptídeo gástrico inibitório e o peptídeo intestinal vasoativo (VIP) contribuem para a diminuição da movimentação do intestino. A motilina peptídica intestinal estimula a motilidade de porções anteriores do intestino delgado e cólon, além de deflagrar MMCs observados no período entre digestões. Esta substância aumenta a atividade mioelétrica e miomecânica do jejuno e íleo, além de reduzir o tempo de trânsito de fluídos entre estômago e ceco de pôneis (KOHN, 1992). Drogas como a eritromicina atuam de forma semelhante a motilina, aumentando o esvaziamento gástrico (AROCH et al., 1997).

Outra substância envolvida é a dopamina, um importante neurotransmissor inibitório de musculatura lisa. Desta forma, a utilização de drogas antidopaminérgicas (parassimpatomiméticas) pode contribuir na restituição ou manutenção da motilidade intestinal. Um destes exemplos é a metoclopramida, que estimula e coordena atividade motora gástrica, pilórica e duodenal além de acelerar o esvaziamento gástrico e diminuir o tempo de trânsito do intestino delgado. A neostigmina também é classificada como droga parassimpatomimética inibidora de acetilcolinesterase (AROCH et al., 1997). Em cães, pode ser utilizada na dose de 0,5mg pela via intramuscular, com previsão de defecação após 20 minutos de sua administração (AROCH et al., 1997).

As prostaglandinas não têm sua via de ação totalmente elucidada, porém sabe-se que sua liberação está relacionada à contração muscular e que está presente tanto em intestino delgado quanto grosso. Em geral, prostaglandinas E e F contraem a porção muscular longitudinal, enquanto o subtipo E relaxa e o F contrai a porção circular. Esta droga despertou a atenção de diversos pesquisadores quanto à possibilidade de reverter ou minimizar o íleo paralítico. Entretanto, existe uma variação tecidual da ação das prostaglandinas em musculatura lisa ainda pouco definida (WILSON; KAYMAKCALAN, 1981). Acredita-se que o subtipo PGE₁ possa diminuir a motilidade de intestino delgado em cães (SHEHADEH; PRICE; JACOBSON, 1969).

A substância P é um peptídeo encontrado não somente em cérebro, mas também em outros tecidos como o intestino, agindo como biotransmissor neste órgão (CUMMINGS; SELLERS; LOWE, 1984).

O óxido nítrico (NO), inicialmente identificado como um fator relaxante derivado do endotélio tem sido reconhecido como importante neurotransmissor inibitório não adrenérgico, não colinérgico no intestino, interferindo na motilidade e contração muscular (WANG et al., 2000; SUNG et al., 2006). A enzima óxido nítrico sintetase (NOS), responsável pela síntese de NO, apresentam três isoformas: indutível (iNOS), endotelial (eNOS) e neuronal (nNOS). As nNOS, expressas constitutivamente em baixos níveis, são encontradas nos plexos mioentéricos. As indutíveis, usualmente ausentes, podem ser expressas em situações de inflamações e endotoxemia bacteriana (WANG et al., 2000). Acredita-se que o NO participe em diversas enteropatias que cursem com alterações motoras, uma vez que neurônios inibitórios não adrenérgicos não colinérgicos são reguladores da fase de relaxamento do peristaltismo (WANG et al., 2000; SUNG et al., 2006). Na vigência de processos inflamatórios, tem-se a elevação sistêmica de NO e NOS associado ao aumento de demais mediadores inflamatórios, podendo resultar em alteração do padrão de motilidade e maior incidência de intussuscepções. A administração de inibidores da cicloxigenase podem contribuir para a normalização da motilidade intestinal, bem como a utilização de inibidores específicos da enzima óxido nítrico sintetase (WANG et al., 2000; TÜRKYILMAZ et al., 2004; SUNG et al., 2006).

2.5 Doenças obstrutivas em cães

Haymond (1935) define a gravidade dos quadros obstrutivos e suas possibilidades terapêuticas como

[...] Frente a um doente portador de necrose intestinal extensa, tem o cirurgião duas opções: deixar o doente morrer ou tentar salvá-lo em esforço heróico, praticando a ressecção... Criando um grande “enterectomizado” com todas as suas conseqüências metabólicas e nutricionais.

As afecções do aparelho gastrointestinal têm ocorrência freqüente na clínica de pequenos animais. Dentre as enfermidades que acometem o intestino delgado ou grosso, tem-se especial relevância as classificadas como obstrutivas, nas quais existe uma impossibilidade total ou parcial de progressão do conteúdo intestinal. São mais freqüentes e preocupantes quando no intestino delgado pelo seu diâmetro diminuto quando comparado com o grosso (KOHN, 1992).

As obstruções intestinais podem decorrer de diversas causas, classificadas como mecânicas ou funcionais. Nas primeiras, existe uma barreira física comprometendo a manutenção do aparelho digestório e incluem-se corpos estranhos, presença de massas intraluminais ou intramurais, compressões extramurais abdominais e as intussuscepções, com importância pela sua urgência em resolução, uma vez que ameaça a vida do paciente (KOHN, 1992; PASSOS; VALLE; NETTO, 2001).

As alterações de motilidade, distúrbios funcionais da força propulsora da musculatura do intestino ou lesões da inervação intestinal compreendem as alterações obstrutivas funcionais. O íleo paralítico pode se apresentar de três formas: íleo adinâmico, em que a ineficiência é resultante do relaxamento da musculatura; íleo dinâmico, em que se observa espasmo desta musculatura e íleo da oclusão vascular, caracterizado pela incapacidade de coordenação motora em consequência de morte celular resultante de isquemia. O íleo adinâmico é o mais comum e freqüentemente ocorre após cirurgias abdominais. Em todos os casos, a luz intestinal encontra-se pérvia, porém não existem ondas peristálticas e a auscultação revela silêncio abdominal (KOHN, 1992; PASSOS; VALLE; NETTO, 2001; POGGETTI; PORTA; FONTES, 2004).

Além da classificação etiológica, ainda podemos definir a obstrução quanto ao comprometimento da vascularização do segmento intestinal envolvido, sendo simples, sem comprometimento vascular, ou com estrangulamento (KOHN, 1992; PASSOS; VALLE; NETTO, 2001).

Outra classificação importante, principalmente para a terapêutica do paciente, é quanto à localização do intestino envolvido: obstrução alta de intestino delgado, baixa de intestino delgado e de intestino grosso. A determinação da porção envolvida é fundamental para a instituição do tratamento e prognóstico do animal,

porém o diagnóstico definitivo só será alcançado com a visualização da alça envolvida e grau de comprometimento (PASSOS; VALLE; NETTO, 2001).

A causa da obstrução não deve ser o alvo da investigação inicial. O diagnóstico da obstrução é mais importante que o diagnóstico de sua causa. Este é sempre clínico, porém deve contar com a ajuda de exames de imagem e/ou laboratoriais para o seu sucesso. A atenção para o diagnóstico precoce e instituição do tratamento adequado reduz os índices de mortalidade e morbidade dos animais acometidos. Hérnias, aderências, massas abdominais, corpos estranhos e intussuscepções são causas frequentes de obstrução. Porém, estes dados podem variar com relação à localização geográfica, raça, idade e manejo do animal (PASSOS; VALLE; NETTO, 2001).

2.6 Intussuscepção

Intussuscepção é definida como a invaginação de uma porção do aparelho gastrointestinal, chamada de *intussusceptum*, sobre o lúmen da porção adjacente, denominada *intussuscepiens* (LAMB; MANTIS, 1998; HEDLUNG, 2002; MACPHAIL, 2002). Frequentemente é observada na porção normógrada, ou seja, no sentido peristáltico, porém existem relatos na direção retrograda ou também denominada de oral. (LEWIS; ELLISON, 1987; APPLEWHITE; HAWTHORNE; CORNELL, 2001; PATSIKAS et al., 2005). Outra classificação passível de ser utilizada é quanto ao número de intussuscepções, podendo estas serem únicas, múltiplas ou compostas (LEWIS; ELLISON, 1987).

Sua fisiopatologia ainda não está totalmente elucidada, porém sugere-se estar relacionada a alterações da atividade motora nos segmentos acometidos, o que resultaria na descontinuidade intestinal, com porções apresentando maior flacidez ou rigidez em comparação às adjacentes. As maiores consequências citadas da intussuscepção são obstrução parcial ou total, isquemia, necrose e ruptura intestinal (LEVITT; BAUER, 1992). Normalmente assume forma curva e de extensão limitada pela tensão exercida pelo mesentério da porção internalizada.

Segundo Barker, Van Dreumal e Palmer (1993) o tamanho limite observado em cães é de aproximadamente 12 centímetros.

Eventos desencadeados pelo processo de invaginação intestinal podem ser classificados quanto ao curso da doença. Inicialmente ocorre estrangulamento do retorno venoso com dilatação e congestão. Estágios mais avançados apresentam exsudação de fibrina da superfície serosa, responsável pela aderência intestinal. A obstrução permanente dos vasos esta relacionada com isquemia e necrose, fatores determinantes para o desenvolvimento de perfurações e rupturas intestinais tardias (PATSIKAS et al., 2005).

Todas as porções de intestino podem ser acometidas, entretanto, observa-se maior incidência no segmento ileo-cólico tanto em animais quanto em humanos (LEVITT; BAUER, 1992; LAMB; MANTIS, 1998; APPLEWHITE; HAWTHORNE; CORNELL, 2001; MACPHAIL, 2002). Não existe predisposição sexual e racial descritas na literatura. Quanto à distribuição etária, parece haver um maior acometimento de animais jovens (até um ano de idade), provavelmente relacionado a grande incidência de gastroenterites/enterites infecciosas. Guilford e Strombeck (1996) sugerem que cerca de 80% dos casos sejam representados por esta faixa etária. A ocorrência em animais idosos geralmente esta relacionada a processos neoplásicos, o que também é relatado na literatura medica (BILELLO; PETERSON, 2005; DRASKOVIC et al., 2005; JAREMKO; RAWAT, 2005; KAMO et al., 2005).

Dentre os fatores predisponentes deve-se ressaltar as alterações de dieta, presença de corpos estranhos, granulomas ou massas gastrointestinais, gastroenterites/enterites infecciosas ou não, parasitismo intestinal e cirurgias previas, além da forma idiopática, freqüente nos cães (GUILFORD; STROMBECK, 1996; MEYER, 1996; APPLEWHITE; HAWTHORNE; CORNELL, 2001; MACPHAIL, 2002). Relatos verificam ocorrência de intussuscepções após cirurgias abdominais como transplantes renais (DU TOIT et al., 1981). A indução de mediadores inflamatórios como prostaglandinas e óxido nítrico são relacionados com quadros de intussuscepções, uma vez que apresentam importância na manutenção da motilidade intestinal (TÜRKYLMAZ et al., 2004). As intussuscepções após quadros de intoxicação por carbamatos são pouco relatadas na literatura, porém passível de ocorrência. Corfield et al. (2008) descrevem a ocorrência em três cães com intervalo de 24 horas a 18 dias da ingestão da substância. Estes autores descrevem

fisiopatologia relacionada a hipermotilidade gastrointestinal decorrente da maior estimulação de receptores muscarínicos parassimpáticos.

Diversos são os sinais clínicos que cursam com esta enfermidade, desde alterações inespecíficas como anorexia, disorexia, depressão, letargia, perda de peso, êmese, diarreia por vezes hemorrágica, sensibilidade e distensão abdominal. Estes últimos resultantes da obstrução intestinal, supercrescimento bacteriano, isquemia e infarto da porção acometida além de peritonite focal ou difusa (GUILFORD; STROMBECK, 1996; MEYER, 1996; LAMB; MANTIS, 1998; ARONSON; BROCKMAN; BROWN, 2000; MACPHAIL, 2002).

Muitos dos quadros de intussuscepção podem ser diagnosticados através da palpação abdominal, localizando e delimitando estrutura tubular firme, que deve ser diferenciada de conteúdo fecal ou corpos estranhos (GUILFORD; STROMBECK, 1996). Em estudo realizado com nove gatos e 36 cães, 53% dos animais apresentaram palpação abdominal compatível com o quadro (LEVITT; BAUER, 1992). Para o diagnóstico definitivo, pode-se valer do uso de técnicas de imagem, das quais o ultra-som apresenta maior acurácia, sensibilidade e especificidade. O raio-X simples e contrastado, endoscopia e colonoscopia também apresentam utilidade. Dos exames radiográficos contrastados, utiliza-se com maior frequência o enema de bário pela localização preferencial das porções acometidas. O trânsito gastrointestinal pode fornecer o mesmo resultado necessitando de maior tempo de exame.

Na avaliação radiográfica, freqüentemente encontra-se anormalidade da distribuição de alças no abdômen, dilatação intestinal, presença de variável quantidade de líquido e gás em região cranial a obstrução até a observação de estrutura de radiopacidade água (intussuscepção propriamente dita). No exame contrastado, podem-se observar dilatações intestinais além da dificuldade ou impossibilidade da progressão do marcador. As características ultra-sonográficas normalmente ressaltadas são múltiplas linhas paralelas em cortes longitudinais e múltiplos anéis concêntricos hiperecóicos e hipoecóicos ao redor de centro hiperecóico em cortes transversais, comumente correlacionados as imagens de alvos ou olhos de bois (LAMB; MANTIS, 1998; PATSIKAS et al., 2003; PATSIKAS et al., 2004; PATSIKAS et al., 2005). São citadas como vantagens da técnica ultra-sonográfica em relação à radiográfica a ausência de exposição à radiação, menor

tempo de exame, avaliação de estruturas adjacentes como linfonodos e, de forma mais importante, avaliação da viabilidade intestinal e redutibilidade da intussuscepção com o auxílio do modo Doppler (LAMB; MANTIS, 1998; PATSIKAS et al., 2005). Seu uso tem sido extensamente descrito em humanos, nos quais são utilizadas com muita frequência técnicas de redução pneumática ou hidrostática, sem a necessidade de submeter o paciente à intervenção cirúrgica. Para os animais, esta contribuição mostra-se de grande valia para o planejamento cirúrgico e prognóstico. A ausência de fluxo sanguíneo ao exame esta intimamente relacionada com impossibilidade na redução da intussuscepção e presença de aderências, desvitalização de tecido e perfurações. Patsikas et al. (2005) avaliaram pelo modo Doppler, 15 animais jovens da espécie canina com quadro de intussuscepção. Três animais não apresentavam fluxo sanguíneo nas intussuscepções que, ao procedimento cirúrgico, mostraram-se irreduzíveis. Dos animais com fluxo preservado, 75% tiveram suas lesões reduzidas manualmente e apenas três necessitaram de enterectomias.

Na medicina veterinária, o tratamento de escolha ainda é o cirúrgico, no qual podem ser realizadas técnicas de redução manual, ressecção da porção acometida associada a enteroanastomose e uso de enteroplicações (HEDLUNG, 2002; MACPHAIL, 2002; BROWN, 2003). A escolha da técnica depende da viabilidade e grau de lesão intestinal (MACPHAIL, 2002). Os quadros recentes podem ser reduzidos mecanicamente, através de uma leve tração das porções adjacentes às acometidas (ARONSON; BROCKMAN; BROWN, 2000). Em contra partida, intussuscepções crônicas freqüentemente necessitam de enterectomias devido a lesões irreversíveis do tecido ou irreduzibilidade da intussuscepção. Applewhite, Hawthorne e Cornell (2001) relataram necessidade de ressecção e enteroanastomose em 27 dos 35 casos avaliados (77%). O emprego de técnicas fechadas de redução, como a pneumática ou a hidrostática, fica limitado na veterinária pela maior incidência de casos crônicos. Abasiyanik et al. (1997) realizaram a técnica de redução pneumática com auxílio de laparoscopia em 27 cães, obtendo sucesso em 96% e taxas de recorrência e perfuração intestinal após procedimento de 4% cada. O intervalo de tempo entre o desenvolvimento da intussuscepção até a intervenção variou apenas de três a cinco dias.

As complicações mais observadas no pós-operatório são recorrência do quadro, íleo paralítico, deiscência da anastomose, obstrução intestinal, peritonite e síndrome do intestino curto, sendo as duas primeiras as mais frequentes (APPLEWHITE; HAWTHORNE; CORNELL, 2001; MACPHAIL, 2002). A literatura cita cerca de 11 a 20 % de recorrência, sendo maior a recidiva em casos tratados com a redução manual (25%) quando comparado com animais que sofreram enterectomia da porção acometida (19%).

Estudos relacionam diminuição de reincidências em animais tratados com derivados de opióides, durante o trans ou pós-operatório. O mecanismo não está totalmente esclarecido, porém discute-se um possível aumento do tônus muscular intestinal (APPLEWHITE; HAWTHORNE; CORNELL, 2001). McAnulty, Southhard e Belzer (1989) descrevem redução de 17% para 3% de intussuscepções em animais previamente submetidos à transplantação renal experimental com o uso de morfina, o que está de acordo com o resultado encontrado por Klinger, Cooper e McCabe (1990) com o uso de butorfanol. Por outro lado, o largo emprego de opióides pode contribuir para o retardo do trânsito gastrointestinal e para o desenvolvimento ou agravamento do íleo paralítico.

Procedimentos cirúrgicos recomendados para a prevenção de recidivas baseiam-se na criação de aderências permanentes entre as curvas intestinais, chamadas de enteroplicações (NASH; BELLENGER, 1998; ARONSON; BROCKMAN; BROWN, 2000). A literatura é controversa com relação à eficácia destas técnicas. Alguns autores citam benefícios enquanto outros mostram não haver diferença estatisticamente significativa entre os grupos testados (LEWIS; ELLISON, 1987; LEVITT; BAUER, 1992; KYLES; SCHNEIDER; CLARE, 1998; ARONSON; BROCKMAN; BROWN, 2000; APPLEWHITE; HAWTHORNE; CORNELL, 2001; MACPHAIL, 2002). Além disto, complicações decorrentes desta técnica como estrangulamento e obstrução intestinal torna necessária nova intervenção cirúrgica para correção da afecção desenvolvida (KYLES; SCHNEIDER; CLARE, 1998; APPLEWHITE; HAWTHORNE; CORNELL, 2001; MACPHAIL, 2002).

Diversos estudos apresentam o íleo paralítico pós-operatório como condição relativamente comum em cirurgias abdominais, principalmente nas intestinais. Trata-se de uma alteração transitória e reversível, na qual ocorre disfunção ou inibição da motilidade intestinal. Esta anormalidade da motilidade pode predispor ao

supercrescimento bacteriano, que exacerba os sinais clínicos já observados (WASHABAU, 2003). Pode acometer tanto estômago, intestino delgado quanto grosso (WASHABAU, 2003). Clinicamente, observa-se anorexia, êmese, distensão abdominal e sensibilidade dolorosa difusa relacionada ao acúmulo de gases pela hipomotilidade intestinal além de alterações do trânsito intestinal como aquesia ou episódios diarreicos. Quando afetados de forma crônica, os animais podem apresentar mudanças da condição corpórea, como perda de peso. Sua patogenia ainda é discutida, porém estudos revelam possível dissociação eletromecânica influenciada por fatores humorais, neurais e metabólicos ainda não claramente definidos. Isto parece ser resultante da ativação de um reflexo neural inibitório por inervação simpática e ativação de processos inflamatórios, nos quais o óxido nítrico está fortemente envolvido, porém sem via de ação totalmente esclarecida (TÜRKYILMAZ et al., 2004). A severidade da injúria é diretamente proporcional à magnitude da resposta inflamatória e ao grau de acometimento clínico (KALFF et al., 1998). O grau de lesão tecidual e a manipulação cirúrgica podem ser relacionados à intensidade da estimulação simpática e conseqüentemente, à estase intestinal pós-operatória (BROWN, 2003).

A resolução do quadro de íleo paralítico ocorre com a restauração da função intestinal, o que pode ser alcançado apenas com a eliminação da injúria intestinal. Em alguns casos, faz-se necessário o uso de agentes procinéticos e reguladores intestinais sintéticos ou naturais.

Semelhantemente as apresentações clínicas do íleo paralítico, as disfunções motoras decorrentes de lesões nervosas são relatadas, porém de maneira permanente. O funcionamento errôneo do aparelho gastrointestinal acaba por prejudicar processos de digestão, absorção e eliminação. É relatada a ocorrência de acúmulo de conteúdo fecal resultando em processos obstrutivos e alterações na absorção de nutrientes, influenciando na condição corporal e qualidade de vida do paciente.

Estudos recentes buscam utilizar inibidores de NO como bloqueadores desta cascata inflamatória e evitando o desenvolvimento do íleo paralítico. Uenoyama et al. (2004) utilizaram sulfato de S-methylisothiourrea (SMT), inibidor do óxido nítrico sintetase, em animais com injúrias intestinais iatrogênicas e encontraram alterações compatíveis com a literatura no aumento do tempo de trânsito intestinal, quantidade

de nitrito e nitrato produzidos e expressão de RNAs de NO quando comparado com grupo controle.

Outra complicação passível de ocorrer após tratamento de intussuscepção é a síndrome do intestino curto, distúrbio relacionado às extensas ressecções intestinais, principalmente na região referente ao cólon. Sabe-se que o cão é capaz de manter funções digestivas normais com cerca de 30 a 40 centímetros de intestino delgado (BARKER; VAN DREUMAL; PALMER, 1993). Entretanto, nem sempre estas adaptações são suficientes para a homeostase intestinal, o que resulta em má digestão, má absorção, perda de peso e diarréias intermitentes ou contínuas. Nestes casos, os animais necessitam de suporte nutricional agressivo, inclusive na forma parenteral durante a fase inicial. O uso de fibras e medicamentos que retardam o esvaziamento gastrointestinal pode ser associado a alimentos de alta digestibilidade. Opções cirúrgicas têm sido utilizadas em medicina humana como a criação de válvulas intestinais e esfíncteres artificiais, alongamento e afilamento intestinal ou o transplante de porções intestinais (GUILFORD; STROMBECK, 1996; RASSLAN, 2007a, b, c).

Rasslan (2007b) descreve a ocorrência de inúmeras alterações gastrointestinais após ressecções intestinais extensas, com o intuito de adaptar o organismo ao novo comprimento do órgão. Sabe-se que o encurtamento do intestino acaba por gerar menor tempo de trânsito alimentar, principalmente se há o envolvimento da válvula íleo-ceco-colica. Além de alterações microscópicas, como a hiperplasia e hipertrofia de segmentos intestinais remanescentes e “delgadização” do intestino grosso, ocorrem alterações do comportamento do trânsito alimentar com estase gástrica e retardo na eliminação de ingestas através de alterações de motilidade. Esta alteração de motilidade tem por finalidade propiciar maior tempo de contato entre intestino e conteúdo luminal, a fim de permitir absorção adequada de nutrientes e evitar o desenvolvimento de síndromes de má absorção, espoliação metabólica, desnutrição, anemia e perda de massa muscular e gordurosa. Presume-se que o retardo no esvaziamento gástrico ocorra por ação dos freios intestinais, acionados mais precoce e intensamente em decorrência do intestino reduzido e da concentração aumentada de nutrientes no íleo. Quanto ao trânsito intestinal, o tempo é mais curto porque o segmento remanescente é menor, mas os movimentos

peristálticos são mais lentos, estabelecendo um mecanismo compensatório (RASSLAN, 2007a, b).

2.7 Avaliação da viabilidade intestinal

A determinação da viabilidade intestinal é ainda hoje estudada, tanto na medicina humana quanto na veterinária (DENOBILO; GUZZETTA; PATTERSON, 1990; ORLAND, 1993; TOLLEFSON et al., 1995; TURKYILMAZ et al., 1997; LA HEI; SHUN, 2001; BROWN, 2003; ERIKOGLU et al., 2005). Isto porque apresenta elevada importância no alcance do sucesso cirúrgico e por se tratar de um evento de grande complexidade, pois normalmente utilizam-se critérios clínicos convencionais considerados subjetivos e pouco confiáveis. Estes critérios subjetivos podem levar a super ou subestimação, ou seja, ressecar um segmento viável ou preservar uma alça isquêmica cuja permanência pode ser responsável por complicações (LEWIS; ELLISON, 1987; BROWN, 2003; ROCHA; DINIZ; CLEMENTE, 2004). Dentre os métodos consagrados, utiliza-se a observação da coloração do segmento intestinal, presença de pulsação vascular dos vasos mesentéricos e sangramento à secção da alça, além da presença de peristaltismo na porção envolvida (ORLAND, 1993; BROWN, 2003). Em casos duvidosos, estes critérios costumam falhar em porcentagem considerável, razão pela qual muito se pesquisa métodos auxiliares de determinação de viabilidade (ROCHA; DINIZ; CLEMENTE, 2004). A presença de peristaltismo não é uma medida segura de avaliação, visto que podem ser observadas contrações em tecidos desvitalizados, conhecidas como espasmo anóxico (ROCHA; DINIZ; CLEMENTE, 2004).

A observação de aspectos normais dos tecidos analisados não garante adequada cicatrização nem tampouco adequada atividade intestinal pós-operatória. Em modelos experimentais em cães, não foram observadas correlações entre estes critérios, o comprometimento histológico intestinal nem a sobrevivência animal (BROLIN et al., 1989). Estes métodos não permitem a avaliação de edema e hemorragia intramural, péssimos fatores preditivos para a viabilidade (BROWN, 2003).

Outras técnicas têm sido estudadas para uma avaliação mais precisa, incluindo oximetria, mensuração de pH e de pCO₂, eletromiografia, ultra-som Doppler, termometria das margens intestinais, microesferas radioativas, sondas de microtemperatura e aplicação de contrastes como o azul de Tripán, azul patente e a fluoresceína, porém se mostram demasiadamente caras e trabalhosas, dificultando seu uso clínico (BROWN, 2003; ROCHA; DINIZ; CLEMENTE, 2004). A literatura é controversa na caracterização de testes eficientes para avaliar porções intestinais. Orland et al. (1993) compararam métodos de análise pós enteroanastomoses em cães, incluindo presença de peristaltismo, graduação da coloração, ultra-som Doppler, densitometria de reflexão e eletromiografia intestinal, sendo que apenas este último mostrou-se estatisticamente capaz de correlacionar a viabilidade intestinal à taxa de sobrevivência dos animais. Erikoglu et al. (2005); La Hei e Shun (2001); Tollefson et al. (1995); Turkyilmaz et al. (1997) e DeNobile, Guzzetta e Patterson (1990), recomendam a oximetria de pulso do segmento intestinal como indicador de alterações histopatológicas do tecido, sendo eficaz na determinação trans-operatória da viabilidade intestinal. Outros autores recomendam a utilização de corantes como a fluoresceína para avaliar a perfusão intestinal (LEWIS; ELLISON, 1987; DYESS et al., 1991; HOLMES et al., 1993). Para cães, a dose de 10 a 20 mg/kg parece ser segura e a distribuição periférica é observada após alguns minutos da injeção intravenosa. Em segmentos desvascularizados, observam-se áreas com ausência de fluorescência maior que 3mm (LEWIS; ELLISON, 1987; BROWN, 2003).

A avaliação do intestino grosso é ainda mais complexa, pois além das limitações quanto à escassez de atividade peristáltica, quando isquemiado, este órgão apresenta alterações tardias de coloração (ROCHA; DINIZ; CLEMENTE, 2004).

2.8 Avaliação da viabilidade da inervação intestinal

A determinação da viabilidade de um tecido intestinal não pode se resumir exclusivamente à preservação da vascularização. O perfeito funcionamento da

porção neuromuscular é importante tanto para o pós-operatório imediato quanto tardio. Isto porque, alterações de motilidade podem ser compatíveis com a vida, porém, causar quadros crônicos e diminuição da qualidade de vida.

Tendo em vista a complexidade do intestino quanto à sua inervação, excitabilidade e musculatura, o conhecimento dos mecanismos que atuam e interagem na motilidade não é perfeitamente claro (RASSLAN, 2007 a,b).

Conforme citados anteriormente, diversos são os fatores moduladores da atividade mioelétrica intestinal, incluindo presença de alimento, atividade hormonal, ativação simpática e parassimpática além de lesões de células musculares e nervosas. Isto se mostra fundamental quando se quantifica o grau de manipulação trans-operatória e lesões teciduais conseqüentes da enfermidade ou do procedimento cirúrgico. A existência de alterações da inervação acaba por desenvolver distúrbios de motilidade e comprometer todo o processo de digestão e absorção.

A literatura relacionada à avaliação da inervação intestinal é vasta. Grande quantidade de trabalhos está relacionada a quadros de disganglionoses ou aganglionoses. São exemplos as pseudo-obstruções adquiridas ou os diversos tipos de aganglionoses congênitas, como a Síndrome da Doença de Hirschsprung descrita em humanos (YAMATAKA et al., 1998; WANG et al., 2000; JAIN et al., 2003; MATSUDA et al., 2006; NEUNLIST et al., 2007). Em quadros de motilidade alterada, os pacientes podem apresentar considerável perda de peso, náuseas crônicas, êmese, severa constipação e diarreias.

Entretanto, alterações agudas como processos obstrutivos e/ou isquêmicos também podem causar alterações neuromotoras (MOORE et al., 1993; SCHOENBERG; KLUTH, 2002; SUNG et al., 2006). Outras causas incluem trauma cirúrgico, interrupções de peristaltismo e inervação após ressecção intestinal (YANAGIDA et al., 2004; SHIMIZU et al., 2006). Chang et al. (2001) descrevem hipertrofia da camada muscular, diminuição do número de células de Cajal e desenvolvimento de disfunções elétricas em resposta a quadros obstrutivos. Estas alterações estavam presentes apenas na porção oral à obstrução. Estes autores utilizaram camundongos e observaram o remodelamento destas alterações após 30 dias da resolução do quadro.

Em estudo publicado por Abo et al. (2000) alterações na atividade mioelétrica intestinal devem ser denominadas disritmias intestinais. Na ocorrência de obstruções intestinais, observa-se aumento acentuado de atividade motora proximal e diminuição distal à obstrução. A mensuração eletromiográfica através de eletrodos na serosa intestinal mostrou aumento da quantidade de descargas de pico proximal à obstrução, diminuição de descargas de pico distal à obstrução, além de redução da quantidade de ondas lentas. Porém, observou-se alterações dos marcapassos, que aumentaram a quantidade de ondas lentas em resposta ao quadro. Rutgers, Kuiper e Van Der Velden (1988) observaram desde desorganização abrupta de complexos migratórios mioelétricos a contrações peristálticas retrógradas conseqüentes à distensão duodenal distal. Acredita-se que “dismotilidades” intestinais estejam relacionadas a alterações do sistema nervoso entérico e que possam resultar em sinais clínicos. Isto pôde ser observado por Schoenberg e Kluth (2002) após quadros de obstrução e conseqüente dilatação intestinal. Achados semelhantes foram observados por Collure e Hammer (1996) e contribuem para explicar o freqüente desenvolvimento de alterações neuromusculares após cirurgias para correção de obstruções (SCHOENBERG; KLUTH, 2002).

Wom et al. (2006) criaram um modelo de obstrução em ratos para investigar alterações da contratilidade intestinal associadas à ativação imunológica na túnica muscular. Embora não foram observados sinais típicos de inflamação na análise histoquímica como infiltração leucocitária, encontrou-se aumento do número de macrófagos intestinais residentes, maior expressão de fator de necrose tumoral (TNF- α) e receptores de lipopolissacarídeos (CD14), além de acentuada diminuição da força de contração das camadas musculares, número de contrações rítmicas espontâneas e número de células de Cajal. Dentre as diversas alterações morfológicas e funcionais decorrentes do processo obstrutivo, a hipertrofia da camada muscular gera menor força muscular quando comparada a animais normais. Entretanto, as conseqüências patofisiológicas destas alterações ainda não estão totalmente elucidadas (GABELLA, 1990).

Alterações histológicas, morfológicas e biomecânicas decorrentes de obstruções crônicas parciais foram analisadas por Storkholm et al. (2007, 2008) em intestinos de cobaias. Hipertrofia da parede muscular, especialmente da camada circular foi observada apenas na porção cranial a obstrução, além do aumento da

quantidade de colágeno neste segmento. Para estes autores, o conhecimento deste remodelamento intestinal é importante para entender as consequências clínicas freqüentemente observada nestes casos, bem como as adaptações fisiológicas necessárias para a manutenção da homeostase.

Desordens do sistema nervoso entérico decorrente de obstruções são freqüente em paciente com atresia anal, doença congênita que acomete crianças. Acredita-se que estas alterações iniciem-se ainda durante a fase pré-natal (KHEN et al., 2004).

Não apenas distensões do órgão geram alterações das características habituais de motilidade intestinal. Os processos de isquemia e reperfusão também parecem ter importância no desenvolvimento destas disfunções. Silva, De Meirelles e Bustoff-Silva (2007) observaram, tardiamente, alterações nos plexos mioentéricos em ratos submetidos a situações de isquemia vascular. O grau de modificação observada foi proporcional ao período de isquemia. Estes autores acreditam que a lesão neuronal possa ser decorrente de um processo degenerativo progressivo e que alterações do trânsito intestinal no período pós-operatório precoce possa estar envolvido com inflamação aguda pós laparotomia. Entretanto, esta motilidade aberrante pode se manter assintomática, uma vez que o aumento do trânsito intestinal pode ser compensado pela diminuição na produção fecal. Embora estes autores não tenham relatado anormalidades no ganho de peso destes animais, o acompanhamento foi considerado pequeno e não foram realizadas enterectomias. Moore et al. (1993) acreditam que a obstrução intestinal pode causar alterações no sistema nervoso entérico e conseqüente motilidade desorganizada apenas se estiver associado quadro de isquemia.

As denervations decorrentes de manipulação cirúrgica e enterectomia também são indicadas como causas de “dismotilidades” intestinais pós-operatórias (BALSIGER et al., 2003; YANAGIDA et al., 2004; SHIMIZU et al., 2006). Normalmente envolvem segmentos caudais ao abordado cirurgicamente (SHIMIZU et al., 2006). São descritas tanto hipomotilidade como também hiperomotilidade compensatória a lesão de inervação (BALSIGER et al., 2003; SHIMIZU et al., 2006). Dentre as alterações histológicas, encontram-se diminuição de neurônios e fibras nervosas principalmente nas camadas musculares e diminuição de vilosidades (BALSIGER et al., 2003; BEILER et al., 2004; SHIMIZU et al., 2006). Isto se deve ao

fato de que existem variações entre diferentes espécies e pontos intestinais acometidos (BALSIGER et al., 2003). Diversos autores preocupam-se com estas perdas de padrão motor por denervação, pois impedem o sucesso de transplantes intestinais. Esta talvez possa ser uma das únicas barreiras para esta modalidade de transplantes visto que o conhecimento da técnica cirúrgica e habilidade imunossupressora já foram vencidos (BALSIGER et al., 2003).

Para Yanagida et al. (2004), a manipulação cirúrgica leva ao incremento de processos inflamatórios teciduais, com participação de mediadores como o óxido nítrico e algumas prostaglandinas, inibitórios para o sistema nervoso entérico. A ruptura aguda da rede nervosa de células de Cajal e de contrações intestinais acaba por gerar perda de ritmo intestinal. O seu restabelecimento pode ocorrer a partir de 24 horas do procedimento ou tornar-se irrecuperável (YANAGIDA et al., 2004).

Doenças sistêmicas e a administração de alguns medicamentos também podem levar a alterações nas células de Cajal. Kubota et al. (2005) relatam a associação entre diminuição do número de células de Cajal e motilidade gastrointestinal anormal severa em paciente com miopatia congênita. Esta alteração quanto ao número de células positivas para anticorpo c-Kit em reações de imunoistoquímica foi observado tanto no intestino delgado quanto no grosso. Disautonomias também são doenças sistêmicas relacionadas a hipomotilidade intestinal (AROCH et al., 1997). Aroch et al. (1997) relatam desordem motora intestinal associada a doenças sistêmicas inflamatórias e não-inflamatórias; desbalanços hidroeletrólíticos como hipocalemia e hiponatremia são descritos.

Diversos métodos podem ser utilizados para mensuração da inervação intestinal. A eletromiografia e a mensuração de forças intestinais *in vivo*, por meio de sondas fixadas ao intestino são métodos objetivos e fidedignos, porém cursam com entraves éticos. Isto pode ser minimizado pela avaliação limitada ao período trans-operatório, afetada por alterações fisiológicas decorrentes da anestesia. Ainda, modelos experimentais de obstrução intestinal nem sempre mimetizam corretamente o que ocorre *in vivo*, principalmente no que diz respeito à temporalidade do processo.

Outras formas de avaliação incluem o uso de amostras intestinais, como biópsias ou materiais oriundos de enterectomias. Análises histopatológicas e

imunoistoquímicas buscam avaliar e quantificar neurônios bem como a expressão de suas atividades.

A avaliação da inervação intestinal pode ser realizada através da morfologia de neurônios, plexos mioentéricos, gânglios nervosos e camadas musculares. Schusser e White (1997) utilizaram estas mensurações para comparar intestinos saudáveis e intestinos de equinos acometidos por doenças colônicas. A análise microscópica do intestino não se limita apenas a avaliar a porção neuromotora e sim todas as camadas intestinais, contribuindo de forma mais abrangente. Mesmo os estudos que realizam métodos imunoistoquímicos incluem a avaliação histológica dos segmentos analisados.

No que se refere à metodologia utilizada para a quantificação da inervação intestinal, a contagem do número de plexos mioentéricos e número de células neuronais por plexo foi realizada por diversos autores. Além destes índices, a mensuração das espessuras de camadas musculares também apresenta relevância, uma vez que afecções do sistema nervoso autonômico podem levar a hipertrofia destas camadas (MOORE et al., 1993; MÉIER-RUGE; BRUNNER, 2001).

A investigação morfométrica realizada por Méier-Ruge e Brunner (2001) para quantificar hipoganglionose em crianças acometidas pela doença de Hirschsprung baseou-se na contagem de número de células e gânglios nervosos por mm de cólon, comprimento e área de gânglio por μm^2 e mm^2 de cólon além da distância entre os gânglios em mm.

Em estudos publicados por Rocha, Martins e Patricio (2002) e Rocha et al. (2003), avaliou-se a preservação de segmento de jejuno após enterectomias associadas a omentopexia. Para tanto, foram realizadas três mensurações randomizadas de espessura das camadas musculares total, circular e longitudinal, além da contagem do número de células neurais por gânglio em 10 gânglios consecutivos. Beiler et al. (2004) mensurou o número de gânglios submucosos em campos retangulares de $800 \times 600 \mu\text{m}$. Boleken et al. (2007) utilizou cinco campos com magnificação de 200 vezes para contar o número de células ganglionares e plexos enquanto Balsiger et al. (2003) utilizou quatro campos consecutivos. Neunlist et al. (2007) analisou 20 gânglios mioentéricos randomizados para determinar número de células em cada gânglio. Furlan, Molinari e Mirande Neto (2002) quantificaram neurônios nas camadas musculares e região intermuscular

estabelecendo análise de 17,68mm², referente a oito campos aleatórios e dispersos por todo o segmento intestinal.

Estas mensurações podem ser realizadas tanto em cortes histológicos corados por hematoxilina-eosina, como também em lâminas de imunoistoquímica. Neste caso, a marcação dos anticorpos específicos pode auxiliar na identificação de determinados tipos celulares ou da região dos plexos (YAMATAKA et al., 1998; FURLAN; MOLINARI; MIRANDA NETO, 2002; ROCHA; MARTINS; PATRICIO, 2002; ROCHA et al., 2003; BEILER et al., 2004; BOLEKEN et al., 2007).

Fintl et al. (2004) avaliou a preservação da inervação em segmentos intestinais oriundos de eqüinos portadores de doenças obstrutivas através da técnica de imunoistoquímica. Foi possível a identificação de significativa diminuição da densidade de células de Cajal intersticiais em cólons, fato não observado em segmentos de intestino delgado. Para esta avaliação, foram coletadas amostras de tecido não isquêmico junto à borda da enterectomia. O método semi-quantitativo de densidade quanto a imunoreatividade ao c-kit aplicou escala variando entre 0 (ausente) e 3 (abundante), semelhante ao utilizado em estudos prévios. A análise histológica dos mesmos tecidos buscou descartar amostras com algum grau de autólise.

2.9 Imunoistoquímica

O crescente interesse pelo uso de métodos imunoistoquímicos está relacionado ao fato de que muitos autores acreditam que se trata de um método mais objetivo de análise quando comparado com outras técnicas, dentre eles a avaliação histológica simples (YAMATAKA et al., 1998; FURLAN; MOLINARI; MIRANDA NETO, 2002; ROCHA; MARTINS; PATRICIO, 2002; ; ROCHA et al., 2003; BEILER et al., 2004; BOLEKEN et al., 2007). Além disso, a utilização de marcadores específicos pode proporcionar a observação e mensuração de tipos celulares específicos ou de produtos de reações normalmente não perceptíveis.

2.9.1 Sinaptofisina

Sinaptofisina (SY) é uma glicoproteína de membrana, homo-oligomérica, ácida, componente de vesículas sinápticas que estão presentes em praticamente todos os neurônios. É considerada uma organela neurônio-específica, pois não se encontra equivalente em células não neuronais. O anticorpo anti-sinaptofisina reage com vesículas sinápticas em vários tipos de neurônios, demonstrando assim suas sinapses. Além disso, pode ser aplicada à identificação de grande quantidade de tumores neuronais e neuroendócrinos (VENTO; SOINILA, 1999; DAKO CYTOMATION, 2003b).

Dzienis-Koronkiewicz, Debek e Chyczewski (2005) relacionaram alterações da motilidade intestinal através de imunoreatividade a sinaptofisina, uma proteína de membrana específica de vesículas sinápticas de sistema nervoso central e periférico. Os autores acreditam que esta seja uma técnica indireta adequada para a análise da inervação intestinal. Este mesmo marcador foi utilizado por Munakata, Tomita e Kurosu (1997) em plexos mioentéricos de pacientes com displasia neuronal intestinal tipo B e por Kobayashi et al. (1997) durante o trans-operatório de cirurgias intestinais. Para estes autores, o uso desta modalidade acaba por levar a melhor avaliação do órgão e ressecção mais efetiva, pois se evita preservar segmentos lesados e excluir segmentos sadios em excesso. Além disso, acreditam que a avaliação da inervação intestinal através da identificação de células ganglionares seja prejudicada quando não se utilizam marcadores imunoistoquímicos por sua localização ser mais difícil apenas na coloração por hematoxilina-eosina. Neste estudo, gânglios mioentéricos apresentaram acentuada imunoreatividade à sinaptofisina. Pacientes acometidos por doença de Hirschsprung e displasia intestinal neuronal apresentaram diminuição do número de sinapses positivas à sinaptofisina nas camadas muscular circular e longitudinal. A distribuição anormal de sinapses em portadores destas afecções pode levar a padrões alterados de motilidade, mesmo na presença de gânglios mioentéricos e recomenda-se à ressecção destas porções (KOBAYASHI et al., 1997). Wiedenmann et al. (1998) também utilizaram sinaptofisina para localizar maior quantidade de vesículas sinápticas colinérgicas em pacientes com doença de Hirschsprung. Para estes

autores, esta afecção também cursa com armazenamento de altas quantidades de acetilcolina.

Boleken et al. (2007) utilizaram este mesmo marcador para avaliar disfunção motora esofagianas conseqüentes a procedimentos de correção de atresia esofágica com fístula traqueo-esofágica distal. Em esôfagos normais, a imunoreatividade esteve distribuída principalmente nos plexos mioentéricos e camada muscular. Nos pacientes acometidos, a densidade de marcações anti-sinaptofisina esteve dramaticamente diminuída. Estes autores também se valeram da histologia para avaliar a inervação do esôfago, incluindo espessura de camadas histológicas, quantificação de plexos mioentéricos, além de densidade e maturidade celular nestes plexos. Imunoistoquímica com anticorpos anti-sinaptofisina também serviram como método de avaliação do sistema nervoso entérico por Khen et al (2004) em estudo com atresia intestinal humana.

Em cães, Eastwood et al. (2005) utilizaram reações de imunoistoquímica para sinaptofisina como método de avaliar inervação intestinal, além de outros anticorpos como citado anteriormente, contribuindo para o diagnóstico definitivo de pseudo-obstrução em um cão.

2.9.2 Enolase Neurônio-Específica (NSE)

Enolases são isoenzimas glicolíticas homo ou heterodiméricas que catalisam a interconversão de 2-fosfoglicerato e fosfoenolpiruvato. Foram identificadas três subunidades (α , β e γ) e 5 formas ($\alpha\alpha$, $\alpha\beta$, $\beta\beta$, $\gamma\gamma$, $\alpha\gamma$). As enolases são divididas em três grupos principais, de acordo com a localização: não-neuronal (NNE ou α), músculo específica (MSE ou β) e neurônio-específica (NSE ou γ). A subunidade α é expressa na maioria dos tecidos. Anticorpos anti-NSE pode ser utilizado em reações de imunoistoquímica para a marcação de células normais ou neoplásicas de origem neuronal ou neuroendócrina, neuroblastomas, retinoblastomas, melanoma maligno desmoplástico, câncer pulmonar de células pequenas além da identificação de nervos periféricos (DAKO CYTOMATION, 2003a).

Neunlist et al. (2007) utilizaram NSE para a avaliação de alterações no sistema nervoso entérico em pacientes com colite ulcerativa. Para tanto, compararam cólons de portadores desta afecção com espécimes normais quanto à marcação de neurônios após imunoistoquímica com anticorpos para NSE, colina acetiltransferase, peptídeo intestinal vasoativo e substância P. Entretanto, estes autores não observaram diferença significativa entre os dois grupos testados quanto à quantidade de neurônios marcados com anti-NSE. Neste trabalho, o NSE foi utilizado como marcador neuronal geral para determinar o número total de corpos celulares no plexo mioentérico.

Outra utilização do NSE na inervação intestinal foi descrita por Rocha et al. (2003) após a realização de transplantes intestinais. Estes autores buscavam avaliar a preservação do segmento transplantado não só quanto à inervação, mas quanto a vascularização. Além deste anticorpo, foram feitas análises imunoistoquímicas para proteína S-100 e histológicas em coloração por hematoxilina-eosina. Nesta última, foram mensuradas espessuras totais da camada muscular, espessura de cada camada muscular (longitudinal e circular), mensuração de vilos, criptas e número de neurônios por gânglios. Os métodos imunoistoquímicos podem ser considerados fundamentais para a correta identificação de células ganglionares, uma vez que a histologia pode não ser apropriada para este fim.

Outros autores buscaram mapear os neurônios mioentéricos de diferentes espécies, importante para o completo conhecimento deste sistema. Lin et al. (2002) utilizaram NSE entre outros marcadores com esta finalidade em intestino de cobaias. O conhecimento de marcadores neuronais específicos é determinante para quantificação e classificação quanto à distribuição, morfologia, comportamento químico e funcional (LIN et al., 2002).

Em cães, o uso de imunoistoquímica com NSE para a avaliação da inervação intestinal foi descrito por Eastwood et al. (2005). Neste caso, a imunoistoquímica associada à avaliação histológica de segmentos intestinais possibilitou o diagnóstico e primo-relato de pseudo-obstrução intestinal associada a impactação cecal em um cão com histórico de vômito e diarreia crônica intermitente.

Outra utilização do NSE para avaliação da inervação intestinal na espécie canina foi realizada por Aroch et al. (1997). A ausência de marcação nos plexos mioentéricos contribuiu para o diagnóstico de degeneração neural associada a

defeito neuronal localizado e congênito em animal com quadro crônico de hipomotilidade funcional intestinal.

OBJETIVOS

3 OBJETIVOS

O presente estudo clínico teve como objetivo avaliar a preservação da inervação intestinal em animais portadores de quadros de intussuscepção submetidos a enterectomias e enteroanastomoses, bem como correlacionar o grau de preservação da inervação intestinal e função digestória tardia dos animais.

MATERIAL E MÉTODO

4 MATERIAL E MÉTODO

O presente estudo foi aprovado pela Comissão de Bioética da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo (FMVZ/USP), protocolo n°915/2006. Os proprietários dos animais selecionados foram previamente informados da inclusão no estudo e autorizaram a utilização de segmento intestinal ressecado para posterior análise.

4.1 Seleção dos Animais

Foram estudados animais da espécie canina, encaminhados ao Serviço de Cirurgia de Pequenos Animais do Hospital Veterinário da FMVZ/USP durante o período de Julho de 2006 a Janeiro de 2008 com diagnóstico de intussuscepção. A seleção dos animais foi independente de idade, raça, porte físico, sexo e porção intestinal acometida.

Grupo 1 - cães com diagnóstico de intussuscepção, submetidos a enterectomia;

Grupo 2 - controle, cães eutanasiados por motivos não relacionadas ao aparelho gastrointestinal.

4.2 Critérios de exclusão

Foram critérios de exclusão para a composição do grupo1:

- Possibilidade de redução manual da intussuscepção

4.3 Delineamento experimental

Todos os animais foram submetidos a laparotomia mediana para realização de enterectomia da porção intestinal desvitalizada seguida de enteroanastomose do tipo término-terminal com fio de náilon 4-0, monofilamento, não absorvível, com agulha atraumática¹. Os procedimentos anestésicos foram instituídos pelo Serviço de Anestesia baseando-se em escolha individual do protocolo.

A determinação da viabilidade intestinal trans-operatória baseou-se em critérios subjetivos consagrados como: presença satisfatória de adequada coloração tecidual, pulso em vasos mesentéricos e ramificações, além de peristaltismo presente e adequado.

Todos os animais receberam antibioticoterapia e analgesia durante período pós-operatório e foram acompanhados no Serviço de Cirurgia de Pequenos Animais até o estabelecimento de alta médica. Optou-se pelo uso da associação de ceftriaxona sódica e metronidazol além de opióides e/ou dipirona sódica + brometo de N-butilescopolamina. A escolha do protocolo analgésico considerou a avaliação trans-operatória da motilidade intestinal.

Nos animais controle, realizou-se laparotomia mediana imediatamente após eutanásia e coleta de amostras de todos os segmentos intestinais excetuando-se o reto.

4.4 Coleta do material

Para a avaliação da inervação intestinal, foram selecionados segmentos circulares de cerca de 1cm de comprimento, tanto da borda cranial quanto caudal da porção ressecada. No grupo controle, realizou-se coleta padronizada de todas as porções intestinais.

Os segmentos intestinais foram fixados em solução de formol a 10% por período mínimo de 48 horas.

¹ Mononylon Ethicon®

4.5 Processamento do material

4.5.1 Processamento histológico

As amostras foram encaminhadas para confecção de lâminas de 5µm de espessura e coloração por hematoxilina-eosina no Laboratório de Histologia do Departamento de Patologia da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo.

4.5.2 Processamento imunoistoquímico

Foram confeccionadas lâminas silanizadas com cortes de 5µm de espessura do tecido.

Para as reações de imunoistoquímica, seguiu-se a técnica da Estreptavidina-Biotina-Imunoperoxidase, utilizando anticorpos anti-sinaptofisina² e anti-NSE³.

Na seleção dos anticorpos, buscou-se um anticorpo com marcação geral de neurônios (NSE) e um marcador de sinapses neuronais (sinaptofisina), englobando diferentes maneiras de avaliar a inervação intestinal.

Após completa desparafinização com passagens em soluções decrescentes de xilol e álcool, realizou-se recuperação antigênica com tampão citrato durante 15 minutos em forno de microondas, seguido pelo bloqueio da atividade da peroxidase endógena com solução de H₂O₂ em metanol. O bloqueio das reações inespecíficas foi realizado com solução de leite desnatado 5% e a incubação com os anticorpos primários ocorreu durante a noite, em câmara úmida, a 4°C e volume de 150µl/lâminas.

No dia subsequente, realizou-se incubação com anticorpo secundário biotinilado, incubação com complexo Estreptavidina-Biotina e revelação pela

² Monoclonal Mouse Anti-Synaptophysin, 1:100, Dako

³ Monoclonal Mouse Anti-Human Neuron-Specific Enolase, 1:100, Dako

Diaminobenzidina (DAB) no volume de 100µl/lâminas. Entre cada etapa, os cortes foram lavados com solução de PBS1x. O processamento ainda incluiu coloração por hematoxilina, diafanização e montagem da lâmina com lamínula e bálsamo do Canadá.

4.6 Avaliação do material

A análise das lâminas confeccionadas buscou a avaliação da inervação intestinal e comparação entre os diferentes grupos. Para tanto, realizaram-se mensurações morfométricas em cortes corados por hematoxilina-eosina e quantificação da imunoreatividade aos anticorpos previamente definidos.

4.6.1 Avaliação histológica

Mensurações morfométricas dos plexos mioentéricos foram realizadas com o auxílio de sistema de imagem⁴, sem o conhecimento a qual grupo cada animal pertencia.

4.6.1.1 Mensuração das camadas musculares

Foram capturados três campos randomizados das camadas musculares em objetiva de quatro vezes, em microscópio de luz⁵. Uma área retangular de 1392 x 1040 *pixels* foi padronizada e um *grid* de 100 x 100 linhas foi aplicado à imagem para a contagem de intersecções de pontos em cada camada muscular. O número de pontos em cada camada foi posteriormente utilizado na obtenção da relação

⁴ Image ProPlus versão 4.5

⁵ Microscópio Nikon Eclipse E 800 equipado com câmera Cool SNAP-Pro Media Cybernetics.

entre camada muscular circular e camada muscular longitudinal. Esta relação foi comparada entre os grupos estudados a fim de se analisar possível hipertrofia muscular.

4.6.1.2 Quantificação do número de plexos mioentéricos

O número de plexos mioentéricos foi estabelecido através da análise de 10 campos consecutivos em microscópio de luz em objetiva de 10 vezes. A escolha do campo inicial foi aleatória.

4.6.1.3 Mensuração da densidade celular dos plexos mioentéricos

Para a mensuração de área e número de células dos plexos mioentéricos foram capturados 10 gânglios consecutivos em microscópio de luz, em objetiva de 20 vezes. A escolha do gânglio inicial foi aleatória. A densidade celular dos plexos mioentéricos foi estabelecida através do quociente entre número de células e área do plexo mioentérico.

4.6.1.4 Determinação do grau de degeneração neuronal nos plexos mioentéricos

Para a determinação do grau de degeneração neuronal, todos os plexos mioentéricos do segmento intestinal foram analisados. O grau de vacuolização ganglionar foi classificado: 0 = ausência de vacuolização; 1 = rara vacuolização de plexos; 2 = discreta vacuolização de plexos e 3 = vacuolização intensa. A ordem da análise das lâminas foi randomizada, sem o conhecimento a qual grupo cada animal pertencia.

4.6.2 Avaliação imunoistoquímica

A avaliação imunoistoquímica baseou-se na quantificação de imunoreatividade aos anticorpos selecionados. Para tanto, utilizou-se método semiquantitativo com criação de escore semelhante aos utilizados por Khen et al. (2004) e Fintl et al. (2004). Este escore classificou a quantidade de marcação dos plexos mioentéricos, sendo observados quatro estágios: 0 = ausência de marcação; 1 = marcação leve; 2 = marcação moderada e 3 = marcação abundante do plexo. A ordem da análise das lâminas foi randomizada, sem o conhecimento a qual grupo cada animal pertencia.

Além da quantificação de imunoreatividade nos plexos mioentéricos, também foi estabelecido escore de quantidade de plexos marcados, independente dos escores de imunoreatividade que cada amostra recebeu. Foram observados quatro estágios: 0 = ausência de plexos marcados; 1 = pequena quantidade de plexos marcados; 2 = quantidade moderada de plexos marcados e 3 = quantidade importante de plexos marcados.

4.7 Avaliação pós-operatória tardia dos animais submetidos a enterectomia e enteroanastomose

A avaliação pós-operatória tardia ocorreu após o período de 180 dias do procedimento cirúrgico, através de contato telefônico com o proprietário. Foram coletadas informações a respeito da qualidade de vida do animal e manutenção da função digestiva. Os parâmetros avaliados incluíram estado geral do animal, alteração corpórea após procedimento, modificação da alimentação e alterações do regime de defecação como consistência e número de defecações diárias além de episódios diarréicos agudos intermitentes. Os dados foram posteriormente tabulados e analisados.

4.8 Análise estatística

Os parâmetros clínicos e cirúrgicos foram analisados descritivamente, com apresentação em forma de frequência absoluta (n), frequência relativa (%) e/ou média e desvio-padrão.

Quanto aos parâmetros histológicos e imunoistoquímicos, as variáveis classificatórias foram descritivamente apresentadas em tabelas de contingência contendo frequências absolutas (n) e relativas (%). A associação entre elas foi avaliada com o teste da razão de verossimilhança.

As variáveis quantitativas seguem distribuição normal e foram avaliadas com análise de variância com um fator de classificação; quando significativa utilizou-se o teste de Tukey para discriminar as diferenças entre os grupos.

As correlações entre as variáveis foram avaliadas segundo coeficiente de correlação Spearman.

Os valores de $p < 0,05$ foram considerados estatisticamente significativos.

RESULTADOS

5 RESULTADOS

Foram atendidos 13 cães com diagnóstico de intussuscepção intestinal e submetidos a enterectomia e enteroanastomose, sendo nove machos (69,23%) e quatro fêmeas (30,77%). Destes animais, quatro não apresentavam raça definida (30,77%). Os demais foram das raças Boxer (n=1), Bassethound (n=1), Dog Alemão (n=1), Rottweiler (n=1), Lhasa Apso (n=1), Border Collie (n=1), Labrador (n=1), Poodle (n=1) e Yorkshire (n=2). A idade média foi de $26,53 \pm 31,11$ meses, com valores entre quatro e 84 meses. O valor médio isolado não representa corretamente o universo atendido, isto porque apenas quatro animais apresentaram idade superior a um ano. A mediana da idade dos animais atendidos foi oito meses. Dois animais apresentaram intussuscepções prolapsadas e, dos 11 restantes, a palpação abdominal identificou massa compatível com a afecção em oito casos (72,72%). Foram identificados fatores predisponentes em 11 dos 13 animais, sendo eles: enterite (2/11), parasitismo (2/11), gastroenterite (2/11), intoxicação prévia por carbamato (2/11), alteração do manejo alimentar (1/11) e ingestão de corpos estranhos (1/11).

Quanto à porção intestinal envolvida na intussuscepção, o jejuno esteve presente em 50% dos casos, seguido por íleo (35,71%), cólon (7,14%) e ceco (7,14%). Quanto às lesões associadas a invaginação intestinal, foram observadas aderências (7/13), presença de necrose (6/13), ponto de ruptura (2/13), fibrina (1/13), aumento de linfonodos (4/13) e espessamento de parede intestinal (2/13). Três cães vieram a óbito em até 12 horas do procedimento. Os demais apresentaram intervalo médio de tempo entre a cirurgia e a primeira defecação de $1,7 \pm 1,06$ dias, variando de um a quatro dias e intervalo de tempo entre procedimento cirúrgico e alta médica de $13,3 \pm 1,88$ (Quadro 1).

Para facilitar a compreensão dos resultados, estes foram divididos quanto às variáveis utilizadas.

Quadro 1 – Descrição dos parâmetros clínicos e cirúrgicos dos animais acometidos por intussuscepção - FMVZ/USP – São Paulo – 2008

ANIMAL	RAÇA	SEXO	IDADE (MESES)	FATORES PREDISPOANTES	PORÇÃO INTESTINAIS RESSECCIONADAS	LESOES ASSOCIADAS	EVOLUÇÃO	DEFECAÇÃO NO P.O. INICIAL	INTUSSUSCEPÇÃO PROLAPSADA	PALPAÇÃO ABDOMINAL
Jaber	Boxer	M	58	Enterite (1mês)	Íleo, ceco, cólon	AD, ESP, LINF	17d	1	Não	Sim
Lino	Bassethound	M	8	Enterite (1mês)	Ceco	-	11d	3	Não	Sim
Diana	Dog Alemão	F	6	Parasitismo	Jejuno	AD, NE	Óbito	Óbito	Não	Sim
Spaikue	SRD	M	4	GE (2dias)	Jejuno, íleo	NE	13d	2	Sim	Prolapsada
Spok Junior	SRD	M	10	Intoxicação (15 dias)	Jejuno, íleo	AD, NE, FB, LINF	11d	1	Não	Sim
Willy	Yorkshire	M	79	GE há 3 dias	Jejuno	NE, ESP	Óbito	Óbito	Não	Sim
Diamante	SRD	M	5	Parasitismo	Jejuno, íleo	-	15d	1	Sim	Prolapsada
Snoopy	Lhasa Apso	M	60	Intoxicação (3 dias)	Jejuno, íleo	-	14d	1	Não	Sim
Vicky	Border Collie	F	5	GE (45 dias)	Íleo	AD, NE, LINF	14d	1	Não	Não
Fred	Yorkshire	M	12	Troca Ração	Jejuno	AD, PR,	14d	4	Não	Sim
Iara Kiara	Labrador	F	8	Ausente	Jejuno, íleo	AD, NE, PR	Óbito	Óbito	Não	Não
Cacá	SRD	F	6	Ausente	Jejuno, íleo	LINF, AD	12d	2	Não	Sim
Heros	Rottweiler	M	84	Corpo Estranho	Íleo, cólon	-	12d	1	Não	Não

M: macho, F:fêmea, GE: gastroenterite, AD: aderências, ESP: espessamento da parede intestinal, LINF: aumento de linfonodos satélites, NE: necrose, FB: fibrina, PR: ponto de ruptura, d: dias, PO: pós-operatório

5.1 Resultados histológicos

5.1.1 Mensuração das camadas musculares

5.1.1.1 Densidade celular das camadas musculares

A análise da densidade celular média na camada circular observou valores inferiores do G1 quando comparados ao G2, sendo que o primeiro obteve densidade média de $1184,82 \pm 506,99$ células/mm e o último, $1631,27 \pm 488,23$ células/mm². A diferença entre estes grupos foi estatisticamente significativa com $p=0,001$. (Tabela 1 e Gráfico 1).

O G1 foi dividido segundo a localização das amostras em relação ao ponto de obstrução, ou seja, anterior e posterior e comparados ao G2 isoladamente. A comparação entre todos os grupos (G1A, G1P e G2) mostrou diferença significativa, com $p=0,001$. Quando cotejados os subgrupos pareados, G1A e G1P apresentam diferença em relação ao G2 ($p=0,011$ e $p=0,002$, respectivamente), entretanto, sem significância entre eles, com $p=0,908$ (Tabela 2 e Gráfico 2).

Quanto à camada longitudinal, os valores obtidos de densidade celular média no G1 ($3833,73 \pm 1526,58$ células/mm²) foram discretamente menores ao observado no G2 ($4137,58 \pm 941,15$ células/mm²), porém sem apresentar diferença estatisticamente significativa ($p=0,368$). Da mesma forma, a análise entre todos os subgrupos (G1A, G1P e G2) não foi diferente estatisticamente ($p=0,54$), embora mostre valores inferiores ambos os subgrupos afetados em relação ao controle. (Tabelas 3 e 4, Gráficos 3 e 4).

Tabela 1 – Média, desvio-padrão, intervalo de confiança, valor mínimo e máximo da densidade celular da camada muscular circular - FMVZ/USP – São Paulo – 2008

Grupo	n	Média	Desvio Padrão	IC 95%		Mínimo	Máximo
G1	28	1184,82 ^a	506,99	988,23	1381,41	503,00	2432,88
G2	31	1631,27	370,80	1495,26	1767,28	1013,70	2620,22

G1: grupo de animais portadores de intussuscepção; G2: grupo controle. n: número de amostras; IC: intervalo de confiança

a: estatisticamente significativa quando comparado a G2 (p=0,001)

Tabela 2 – Média, desvio-padrão, intervalo de confiança, valor mínimo e máximo da densidade celular da camada muscular circular por subgrupo (quanto à localização) – FMVZ/USP – São Paulo – 2008

Grupo	n	Média	Desvio Padrão	IC 95%		Mínimo	Máximo
G1A	13	1196,90 ^{a,b}	402,45	953,70	1440,09	698,04	2050,50
G1P	14	1126,25 ^c	588,81	786,28	1466,22	503,00	2432,88
G2	31	1631,27	370,80	1495,26	1767,28	1013,70	2620,22

G1A: grupo de animais portadores de intussuscepção e localização anterior à obstrução; G1P: grupo de animais portadores de intussuscepção e localização posterior à obstrução; G2: grupo controle. n: número de amostras; IC: intervalo de confiança

a: estatisticamente significativo para G1A, G1P e G2 (p=0,001);

b: estatisticamente significativo para G1A e G2 (p=0,011);

c: estatisticamente significativo para G1P e G2 (p=0,002).

Gráfico 1 – Representação gráfica da média e desvio-padrão da densidade celular da camada muscular circular - FMVZ/USP – São Paulo – 2008

Gráfico 2 – Representação gráfica da média e desvio-padrão da densidade celular da camada muscular circular por subgrupo (quanto à localização) – FMVZ/USP – São Paulo – 2008

Tabela 3 – Média, desvio-padrão, intervalo de confiança, valor mínimo e máximo da densidade celular da camada muscular longitudinal - FMVZ/USP – São Paulo – 2008

Grupo	n	Média	Desvio Padrão	IC 95%	Mínimo	Máximo
G1	28	3833,73	1526,58	3241,78 4425,67	1570,59	6395,29
G2	31	4137,58	941,15	3792,37 4482,80	2176,25	6805,90

G1: grupo de animais portadores de intussuscepção; G2: grupo controle; n: número de amostras; IC: intervalo de confiança.

Tabela 4 – Média, desvio-padrão, intervalo de confiança, valor mínimo e máximo da densidade celular da camada muscular longitudinal por subgrupo (quanto à localização) - FMVZ/USP – São Paulo – 2008

Grupo	n	Média	Desvio Padrão	IC 95%	Mínimo	Máximo
G1A	14	3685,25	1594,50	2764,61 4605,88	1570,59	6313,16
G1P	14	3982,21	1500,09	3116,08 4848,33	2361,02	6395,29
G2	31	4137,58	941,15	3792,37 4482,80	2176,25	6805,90

G1A: grupo de animais portadores de intussuscepção e localização anterior à obstrução; G1P: grupo de animais portadores de intussuscepção e localização posterior à obstrução; G2: grupo controle. n: número de amostras; IC: intervalo de confiança.

Gráfico 3 – Representação gráfica da média e desvio-padrão da densidade celular da camada muscular longitudinal - FMVZ/USP. São Paulo, 2008

Gráfico 4 – Representação gráfica da média e desvio-padrão da camada muscular longitudinal por subgrupo (quanto à localização) - FMVZ/USP – São Paulo – 2008

5.1.1.2 Relação entre as camadas musculares

A relação média entre número de pontos da camada circular e longitudinal foi homogênea entre os dois grupos, com valores de $2,69 \pm 0,79$ para o G1, e $2,46 \pm 0,89$ para o G2 (Tabela 5 e Gráfico 5). Embora não tenham apresentado diferença estatisticamente significativa ($p=0,293$), o valor observado para o G1 foi discretamente superior ao observado no G2, mostrando uma tendência a hipertrofia muscular nos casos de obstrução.

Quando se analisam os dados referentes aos subgrupos, as médias encontradas foram: $2,49 \pm 0,73$ para G1A, $2,89 \pm 0,83$ para G1P e $2,46 \pm 0,89$ para G2. Embora o G2 tenha apresentado média inferior aos subgrupos, não foi estatisticamente significativa ($p=0,264$). O G1P apresentou média superior ao G1A. (Tabela 6 e Gráfico 6).

Tabela 5 – Média, desvio-padrão, intervalo de confiança, valor mínimo e máximo da relação média entre as camadas musculares - FMVZ/USP. São Paulo – 2008

Grupo	n	Média	Desvio Padrão	IC 95%		Mínimo	Máximo
G1	28	2,69	0,79	2,39	3,00	1,62	4,46
G2	31	2,46	0,89	2,14	2,79	1,09	4,94

G1: grupo de animais portadores de intussuscepção; G2: grupo controle. n: número de amostras; IC: intervalo de confiança.

Tabela 6 - Média, desvio-padrão, intervalo de confiança, valor mínimo e máximo da relação média entre as camadas musculares por subgrupo - FMVZ/USP. São Paulo – 2008

Grupo	n	Média	Desvio Padrão	IC 95%		Mínimo	Máximo
G1A	14	2,49	0,73	2,07	2,92	1,62	3,81
G1P	14	2,89	0,83	2,42	3,37	1,70	4,46
G2	31	2,46	0,89	2,14	2,79	1,09	4,94

G1A: grupo de animais portadores de intussuscepção e localização anterior à obstrução; G1P: grupo de animais portadores de intussuscepção e localização posterior à obstrução; G2: grupo controle; n: número de amostras; IC: intervalo de confiança

Gráfico 5 – Representação gráfica da relação média entre as camadas musculares - FMVZ/USP. São Paulo – 2008

Gráfico 6 - Representação gráfica da relação média entre as camadas musculares por subgrupo - FMVZ/USP. São Paulo – 2008

5.1.2 Quantificação do número de plexos mioentéricos

O número médio de plexos mioentéricos dos grupos G1 e G2 foi $8,89 \pm 2,06$ e $10,19 \pm 2,33$, respectivamente. A diferença observada foi estatisticamente significativa para $p=0,028$. Os dados podem ser observados na tabela 7 e gráfico 7. Os plexos mioentéricos e as camadas musculares circular e longitudinal foram representados na figura 1.

Tabela 7 – Média, desvio-padrão, intervalo de confiança, valor mínimo e máximo do número médio de plexos mioentéricos - FMVZ/USP – São Paulo – 2008

Grupo	n	Média	Desvio Padrão	IC 95%		Mínimo	Máximo
G1	28	8,89 ^a	2,06	8,09	9,69	5,00	13,00
G2	31	10,19	2,33	9,34	11,05	7,00	17,00

G1: grupo de animais portadores de intussuscepção; G2: grupo controle; n: número de amostras; IC: intervalo de confiança.

a: estatisticamente significativo ($p=0,028$)

Gráfico 7 – Representação gráfica da média e desvio-padrão do número médio de plexos mioentéricos - FMVZ/USP – São Paulo – 2008

Figura 1 – Fotomicrografias da localização de plexos mioentéricos (pm) entre as camadas musculares circular (cmc) e longitudinal (cml). Coloração por H&E
(A), (C) e (E) x20, barra de escala de 10 μ m
(B), (D) e (F) x40, barra de escala de 5 μ m

5.1.3 Mensuração da densidade celular dos plexos mioentéricos

A densidade celular média encontrada nos grupos G1 e G2 foram de 5418,97 $\pm$ 1196,99 células/mm² e 6054,09 $\pm$ 1153,65 células/mm², respectivamente (Tabela 8 e Gráfico 8), esta diferença é estatisticamente significativa (p=0,043).

Tabela 8 – Média, desvio-padrão, intervalo de confiança, valor mínimo e máximo da densidade celular dos plexos miontericos (mm²) - FMVZ/USP – São Paulo – 2008

Grupo	n	Média	Desvio Padrão	IC 95%		Mínimo	Máximo
G1	28	5418,97 ^a	1196,99	4954,82	5883,11	3181,58	8764,17
G2	31	6054,09	1153,65	5630,93	6477,25	4050,92	8788,27

G1: grupo de animais portadores de intussuscepção; G2: grupo controle; n: número de amostras; IC: intervalo de confiança.

a: estatisticamente significativo (p=0,043)

Gráfico 8 – Representação gráfica da média e desvio-padrão da densidade celular dos plexos miontericos (mm²) - FMVZ/USP. São Paulo – 2008

5.1.4 Determinação do grau de degeneração neuronal nos plexos mioentéricos

A distribuição dos escores quanto ao grau de vacuolização neuronal não manteve o mesmo padrão entre os grupos analisados (Gráfico 9). No G1, constatou-se prevalência de casos apresentando considerável alteração (grau 2 e 3), enquanto que no G2, observou-se o inverso. Ou seja, 67,74% dos animais do grupo controle não apresentavam qualquer alteração em plexos mioentéricos e apenas 25,81% apresentavam alterações raras. Desta forma, a análise estatística revelou diferença significativa entre os grupos, com $p=0,001$. Os demais valores encontram-se na tabela 9 e podem ser visualizados no gráfico 9.

Tabela 9 – Distribuição do grau de vacuolização dos plexos mioentéricos - FMVZ/USP – São Paulo – 2008

Vacuolização		G1 ^a		G2		Total
NDN	8	28,57%	21	67,74%	29	49,15%
Rara	4	14,29%	8	25,81%	12	20,34%
Discreta	6	21,43%	2	6,45%	8	13,56%
Intensa	10	35,71%	0	0,00%	10	16,95%
Total	28	100,00%	31	100,00%	59	100,00%

G1: grupo de animais portadores de intussuscepção; G2: grupo controle.

0 = ausência de vacuolização; 1 = rara vacuolização de plexos; 2 = discreta vacuolização de plexos e 3 = vacuolização intensa. a: estatisticamente significativo ($p=0,001$)

Gráfico 9 – Representação gráfica da distribuição do grau de vacuolização dos plexos mioentéricos - FMVZ/USP. São Paulo – 2008

5.2 Resultados imunoistoquímicos

5.2.1 Imunoreatividade à sinaptofisina

A análise dos escores obtidos segundo a imunoreatividade dos plexos mioentéricos à sinaptofisina entre os diferentes grupos não demonstrou diferença significativa ($p=0,592$). Nenhum grupo estudado apresentou escore 0 ou 1. A frequência de amostras com escore 2 e 3 foi bastante homogênea entre animais acometidos e animais sadios (Tabela 10). Isto também pode ser observado no gráfico 10, que apresenta distribuição de frequência muito semelhante entre os dois grupos. Os escores de classificação dos plexos quanto a imunoreatividade à sinaptofisina estão representados na figura 2.

Quanto à avaliação de quantidade de plexos imunoreativos, embora ocorra uma prevalência de escores 2, a distribuição de frequência não se mantém homogênea nos dois grupos (Gráfico 11). Esta variável apresentou diferença estatística ($p=0,014$) entre os grupos analisados (Tabela 11).

Tabela 10 – Distribuição de escores de quantificação de imunoreatividade à sinaptofisina nos plexos mioentéricos - FMVZ/USP – São Paulo – 2008

Escore		G1		G2		Total	
0	0	0,00%	0	0,00%	0	0,00%	
1	0	0,00%	0	0,00%	0	0,00%	
2	9	32,14%	8	25,81%	17	28,81%	
3	19	67,86%	23	74,19%	42	71,19%	
Total	28	100,00%	31	100,00%	59	100,00%	

G1: grupo de animais portadores de intussuscepção; G2: grupo controle.

0 = ausência de marcação; 1 = marcação leve; 2 = marcação moderada e 3 = marcação abundante do plexo.

Tabela 11 – Distribuição de escores de quantificação de plexos mioentéricos imunoreativos à sinaptofisina - FMVZ/USP – São Paulo – 2008

Escore	G1 ^a		G2		Total	
0	0	0,00%	0	0,00%	0	0,00%
1	1	3,57%	6	19,35%	7	11,86%
2	27	96,43%	22	70,97%	49	83,05%
3	0	0,00%	3	9,68%	3	5,08%
Total	28	100,00%	31	100,00%	59	100,00%

G1: grupo de animais portadores de intussuscepção; G2: grupo controle.

0 = ausência de plexos marcados; 1 = pequena quantidade de plexos marcados; 2 = quantidade moderada de plexos marcados e 3 = quantidade importante de plexos marcados.

a:estatisticamente significativo (p=0,014)

Gráfico 10 – Representação gráfica da distribuição de escores de quantificação de imunoreatividade à sinaptofisina nos plexos mioentéricos - FMVZ/USP – São Paulo – 2008

Gráfico 11 – Representação gráfica da distribuição de escores de quantificação de plexos mioentéricos imunoreativos à sinaptofisina - FMVZ/USP – São Paulo – 2008

Figura 2: Fotomicrografia de plexos mioentéricos quanto à imunoreatividade a sinaptofisina. (A) Escore 0, (B) Escore 1, (C) Escore 2, (D) Escore 3 – (x40; barra de escala de 5µm)

5.2.2 Imunoreatividade à Enolase Neurônio-Específica

Em relação à imunoreatividade ao NSE, a análise da distribuição de escores em cada grupo mostrou maior predomínio de amostras grau 2 no grupo afetado em relação ao grupo controle. Por sua vez, o G2 apresentou importante predomínio de escores 3, sendo observada diferença estatística entre os grupos ($p=0,001$). O gráfico 12 mostra a diferença de distribuição entre os dois grupos (Tabela 12 e Gráfico 12). Os escores de classificação dos plexos quanto a imunoreatividade ao NSE estão representados na figura 3.

No que diz respeito à quantidade de plexos imunoreativos ao NSE, 58,06% das amostras do G2 demonstraram quantidades importantes de plexos reagentes, enquanto que no G1, apenas 3,57% foram classificados com escore 3 (Tabela 13). O escore mais presente entre as amostras do G1 foi o relacionado a quantidades moderadas de marcação (85,71%). Existe diferença estatística ($p=0,001$) entre os grupos, elucidada no gráfico 13, em que G1 apresenta distribuição notadamente diferente em relação ao G2.

Tabela 12 – Distribuição de escores de quantificação de imunoreatividade ao NSE nos plexos mioentéricos - FMVZ/USP – São Paulo – 2008

Escore		G1^a		G2		Total	
0	0	0,00%	0	0,00%	0	0,00%	
1	3	10,71%	0	0,00%	3	5,08%	
2	15	53,57%	4	12,90%	19	32,20%	
3	10	35,71%	27	87,10%	37	62,71%	
Total	28	100,00%	31	100,00%	59	100,00%	

G1: grupo de animais portadores de intussuscepção; G2: grupo controle.

0 = ausência de plexos marcados; 1 = pequena quantidade de plexos marcados; 2 = quantidade moderada de plexos marcados e 3 = quantidade importante de plexos marcados.

a: estatisticamente significativo ($p=0,001$)

Tabela 13 – Distribuição de escores de quantificação de plexos mioentéricos imunoreativos ao NSE - FMVZ/USP – São Paulo – 2008

Escore	G1 ^a		G2		Total	
0	0	0,00%	0	0,00%	0	0,00%
1	3	10,71%	0	0,00%	3	5,08%
2	24	85,71%	13	41,94%	37	62,71%
3	1	3,57%	18	58,06%	19	32,20%
Total	28	100,00%	31	100,00%	59	100,00%

G1: grupo de animais portadores de intussuscepção; G2: grupo controle. 0 = ausência de plexos marcados; 1 = pequena quantidade de plexos marcados; 2 = quantidade moderada de plexos marcados e 3 = quantidade importante de plexos marcados. ^a: estatisticamente significativo (p=0,001)

Gráfico 12 – Representação gráfica da distribuição de escores de quantificação de imunoreatividade ao NSE nos plexos mioentéricos - FMVZ/USP – São Paulo – 2008

Gráfico 13 – Representação gráfica da distribuição de escores de quantificação de plexos mioentéricos imunoreativos ao NSE - FMVZ/USP – São Paulo – 2008

Figura 3 – Fotomicrografias de plexos mioentéricos quanto à imunoreatividade ao NSE.(A) Escore 0, (B) Escore 1, (C) Escore 2, (D) Escore 3 – (x40; barra de escala de 5µm)

5.3 Avaliação pós-operatória tardia dos animais submetidos a enterectomia e anastomose

Dos 13 animais pertencentes ao grupo afetado, apenas 10 puderam ser avaliados no período pós-operatório tardio, uma vez que ocorreram três óbitos no pós-operatório inicial. Destes 10 cães, três apresentaram alterações como maior frequência de defecação, consistência de fezes mais pastosas quando comparadas com o período anterior à afecção além de episódios diarréicos agudos intermitentes.

O grupo G1 foi dividido quanto ao resultado da avaliação tardia, sendo G1S para animais sem alterações no período pós-operatório tardio, G1D para animais que cursaram com alterações e G1O para animais que não foram avaliados no período tardio.

Quando as variáveis densidade celular da camada muscular circular, densidade celular dos plexos mioentéricos, relação entre as camadas musculares, número médio de plexos mioentéricos, grau de vacuolização, imunoreatividade ao NSE e imunoreatividade à sinaptofisina foram avaliadas, não foi detectada diferença estatisticamente significativa entre os subgrupos G1S, G1D e G1O. Na análise da densidade celular da camada muscular longitudinal, os valores médios dos subgrupos foram 3707,36 para G1S, 2903,62 para G1D e 4852,92 para G1O, sem diferença estatisticamente significativa ($p=0,037$). Na análise pareada desta variável apenas a comparação entre G1D e G1O foi estatisticamente significativa para $p=0,031$ (Tabelas 14, 15 e 16 e Gráfico 14).

Tabela 14 – Média e desvio-padrão de variáveis por subgrupo quanto à avaliação tardia - FMVZ/USP – São Paulo – 2008

Grupo	Número médio de plexos mioentéricos	Densidade celular plexo mioentéricos	Densidade celular da camada circular	Densidade celular da camada longitudinal ^a	Relação entre camadas musculares
G1S	8,85 ± 2,03	5083,26 ± 932,24	1080,03 ± 425,37	3707,36 ± 1356,55	2,50 ± 0,63
G1D	8,29 ± 2,14	5541,69 ± 1044,41	1077,12 ± 502,81	2903,62 ± 1304,88 ^b	2,87 ± 0,88
G1O	9,50 ± 2,14	5857,10 ± 1630,30	1449,33 ± 593,79	4852,92 ± 1514,21	2,86 ± 0,97

G1S: animais do grupo 1 sem alterações no período pós-operatório tardio, G1D: animais do grupo 1 com alterações no pós-operatório tardio, G1O: animais não avaliados no pós-operatório tardio

a: estatisticamente significativo para $p=0,037$; b: estatisticamente significativo para $p=0,031$ quando comparado ao subgrupo G1O.

Tabela 15 – Distribuição das porcentagens de imunoreatividade ao NSE e sinaptofisina nos subgrupos quanto à avaliação tardia - FMVZ/USP – São Paulo – 2008

Grupo	NSE				Sinaptofisina			
	0	1	2	3	0	1	2	3
G1S	0,00%	7,69%	53,85%	28,46%	0,00%	0,00%	38,46%	61,54%
G1D	0,00%	14,28%	85,72%	0,00%	0,00%	0,00%	42,86%	57,14%
G1O	0,00%	12,50%	25,00%	62,50%	0,00%	0,00%	12,50%	87,50%

G1S: animais do grupo 1 sem alterações no período pós-operatório tardio, G1D: animais do grupo 1 com alterações no pós-operatório tardio, G1O: animais não avaliados no pós-operatório tardio

Tabela 16 – Distribuição das porcentagens dos escores de vacuolização nos subgrupos quanto à avaliação tardia - FMVZ/USP – São Paulo – 2008

Grupo	Vacuolização			
	0	1	2	3
G1S	23,08%	23,08%	23,08%	30,76%
G1D	14,28%	0,00%	14,28%	71,44%
G1O	50,00%	12,50%	25,00%	12,50%

G1S: animais do grupo 1 sem alterações no período pós-operatório tardio, G1D: animais do grupo 1 com alterações no pós-operatório tardio, G1O: animais não avaliados no pós-operatório tardio

Gráfico 14– Representação gráfica da densidade celular da camada muscular longitudinal nos subgrupos quanto à avaliação tardia - FMVZ/USP – São Paulo – 2008

5.4 Correlação entre as variáveis analisadas

As variáveis densidade celular de plexos e número de plexos mioentéricos não apresentaram grau de correlação entre elas (coeficiente de correlação de Spearman= -0,056 e $p=0,676$), bem como as variáveis número de plexos mioentéricos e escore de imunoreatividade ao NSE (coeficiente de correlação de Spearman= 0,234 e $p=0,074$). Estes resultados estão ilustrados nos gráficos 15 e 16.

Entretanto, observou-se correlação entre as variáveis: densidade celular dos plexos e densidade celular da camada muscular circular (coeficiente de correlação de Spearman= 0,578 e $p=0$), grau de vacuolização e escore de imunoreatividade ao NSE nos plexos mioentéricos (coeficiente de correlação de Spearman= -0,465 e $p=0$) e entre grau de vacuolização e densidade celular dos plexos (coeficiente de correlação de Spearman= -0,29 e $p=0,026$). Estas correlações podem ser analisadas nos gráficos 17,18 e19.

Gráfico 15: Representação gráfica da ausência de correlação linear entre o número de plexos mioentéricos e densidade celular dos plexos mioentéricos - FMVZ/USP – São Paulo – 2008

Gráfico 16: Representação gráfica da ausência de correlação linear entre número de plexos mioentéricos e escore de imunoreatividade ao NSE nos plexos mioentéricos - FMVZ/USP – São Paulo – 2008

Gráfico 17: Representação gráfica da correlação linear entre densidade celular dos plexos mioentéricos e densidade celular da camada muscular circular - FMVZ/USP – São Paulo – 2008

Gráfico 18: Representação gráfica da correlação linear entre grau de vacuolização dos plexos mioentéricos e escore de imunoreatividade ao NSE nos plexos mioentéricos - FMVZ/USP – São Paulo – 2008

Gráfico 19: Representação gráfica da correlação linear entre grau de vacuolização dos plexos mioentéricos e densidade celular dos plexos mioentéricos - FMVZ/USP – São Paulo – 2008

DISCUSSÃO

6 DISCUSSÃO

Dentre as alterações obstrutivas do trato gastrointestinal de pequenos animais, a intussuscepção merece especial atenção uma vez que apresenta ocorrência elevada e necessidade de tratamento urgente. Não são estabelecidas predisposições raciais e sexuais, porém existe maior acometimento de animais jovens, o que também foi observado em nosso estudo (LEVITT; BAUER, 1992; LAMB; MANTIS, 1998; APPLEWHITE; HAWTHORNE; CORNELL, 2001). Embora a média de idade tenha sido de aproximadamente dois anos, este dado não reflete a real distribuição etária dos animais acometidos. Nestes animais, a mediana encontrada foi de oito meses.

A identificação de fatores predisponentes foi possível em 11 dos 13 casos. A intoxicação prévia por carbamatos não é considerada freqüente, embora existam relatos na literatura. Acredita-se que a ocorrência de intussuscepção após ingestão de carbamato esteja relacionada a hipermotilidade gastrointestinal decorrente da maior estimulação de receptores muscarínicos parassimpáticos (CORFIELD et al., 2008). As demais causas foram representadas similarmente às observações de Lewis e Ellison (1987), Lamb e Mantis (1998) e Applewhite et al. (2001). A palpação abdominal se mostrou útil para o diagnóstico da mesma forma que relatos de Lewis e Ellison (1987); Levitt; Bauer (1992) e Patsikas, Papazoglou e Adamama-Moraitou, (2008).

Quanto às porções resseccionadas, embora tenha ocorrido maior número de intussuscepções íleo-ceco-cólicas, as porções de intestino delgado foram as mais resseccionadas, pois freqüentemente encontraram-se no interior da invaginação, sofrendo assim maior lesão tecidual.

Aderências, necrose, ponto de ruptura, fibrina, espessamento da parede intestinal e aumento de linfonodos satélites foram identificados durante o período trans-operatório, porém devem ser analisados cautelosamente, pois este estudo utilizou apenas animais nos quais a enterectomia e enteroanastomose foi necessária. Desta forma, selecionou-se animais com quadros de maior dano tecidual e conseqüentemente, maior número de lesões associadas. O número de dias necessários para o restabelecimento de defecações foi mensurado a fim de se

atentar para possíveis quadros de íleo paralítico pós-operatório. Apenas em dois animais observaram-se valores superiores há dois dias. É importante ressaltar que o uso de opióides seguiu rigoroso controle para evitarmos maior retardo no retorno à defecação. A evolução e prognóstico observados também estão de acordo com a literatura pertinente (LEWIS; ELLISON, 1987; LAMB; MANTIS, 1998; APPLEWHITE et al., 2001)

A escolha da intussuscepção no presente estudo é justificada não apenas por se tratar de uma afecção freqüente como pela importância de uma correta avaliação da viabilidade intestinal.

A avaliação trans-operatória da viabilidade intestinal ainda é considerada o maior desafio ao cirurgião (ORLAND et al., 1993) A rotina cirúrgica baseia-se em critérios subjetivos como presença de pulso, coloração do tecido e qualidade de peristaltismo para a determinação da viabilidade. A manutenção de segmentos lesados pode ocasionar deiscência anastomótica além de disfunções intestinais futuras, comprometendo a qualidade de vida do paciente. A ressecção massiva de tecido, incluindo porções viáveis, pode ocasionar insuficiência intestinal e impossibilidade de manutenção da homeostase gastrointestinal. Diversos métodos alternativos vêm sendo estudados, porém apresentam aplicações clínicas limitadas. A avaliação da inervação é ainda mais limitada quando comparada à vascular. O uso de técnicas intra-operatórias como as utilizadas por Kobayashi et al. (1997) é bastante conveniente, porém necessita de infra-estrutura nem sempre compatível com a rotina clínica.

No que diz respeito ao uso de técnicas histológicas e imunoistoquímicas, a literatura é controversa em apontar qual o melhor método de avaliação. São consideradas técnicas de fácil execução e seguras para o paciente, porém são classificadas como técnicas indiretas, pois utilizam segmentos resseccionados e não porções intestinais *in vivo*. As informações obtidas dizem respeito à condição daquele tecido em determinado momento e não consideram possíveis regenerações ou adaptações tardias. As análises histopatológicas são de fácil execução e menos dispendiosas que as imunoistoquímicas, porém teoricamente menos específicas. Lin et al. (2002) e Wiedenmann et al. (1998) utilizaram imunoistoquímica para localizar de forma mais precisa neurônios mioentéricos, axônios e junções neuromusculares enquanto que Schusser e White (1997) buscaram padronizar avaliação histológica

de inervação intestinal para facilitar sua execução. Kobayashi et al. (1997) acreditam que a análise de inervação intestinal seja prejudicada quando se utiliza apenas a avaliação histopatológica. De acordo com nossos resultados, sugerimos a combinação de técnicas histológicas e imunoistoquímicas para a quantificação de inervação intestinal.

Em processos obstrutivos, ocorre um represamento de conteúdo intestinal no segmento anterior à obstrução e conseqüente distensão intraluminal. Em resposta a este estímulo, pode ocorrer aumento da espessura intestinal e hipertrofia da camada muscular, especialmente da circular (GABELLA et al., 1990; WON et al., 2006; BOLEKEN et al., 2007; STORKHOLM et al., 2007, 2008). Alguns estudos também descrevem a ocorrência de hiperplasia desta camada (STORKHOLM et al., 2007, 2008). Esta hipertrofia está relacionada à perda de células intersticiais e distúrbios motoras, como também à diminuição da força por unidade de área muscular (WON et al., 2006; STORKHOLM et al., 2007, 2008). Em nosso estudo, utilizamos duas variáveis para a avaliação da hipertrofia muscular. O primeiro parâmetro foi a densidade celular média das camadas circular e longitudinal. O grupo afetado apresentou densidade celular média inferior ao grupo controle, tanto da camada muscular circular quanto da longitudinal, porém apenas os valores de densidade da camada circular mostraram-se estatisticamente significativos. Isto corrobora os relatos de Storkholm et al. (2007, 2008); Won et al. (2006) e Boleken et al. (2007) quanto ao predomínio de hipertrofia nesta camada muscular. Estes resultados foram mantidos quando se compararam os subgrupos G1A, G1P ao G2. Embora exista uma tendência à hipertrofia da camada longitudinal, a diferença entre as médias não se mostrou significativa. É descrita na literatura a relação entre hipertrofia muscular e grau de cronicidade da afecção. (SCHUSSER; WHITE, 1997; CHANG et al., 2001).

Os resultados desta pesquisa não estão de acordo com Chang et al. (2001), Storkholm et al. (2007, 2008), Won et al. (2006), Boleken et al. (2007) que afirmam ocorrência de hipertrofia apenas na porção anterior a obstrução. O cotejo entre as médias das densidades das camadas musculares nos subgrupos G1A e G1P não apresentou diferença significativa sendo que G1P mostrou densidade inferior. Estas alterações observadas na porção posterior podem não estar exclusivamente relacionadas ao processo de obstrução-distensão intestinal, mas também a

isquemia-reperfusão e liberação de radicais livres, como citado por Belkind-Gerson, Graeme-Cook e Winter (2006).

A relação média entre camadas musculares não foi significativa entre os grupos testados, porém, de forma semelhante ao notado na comparação das densidades médias, existe tendência à hipertrofia muscular. Valores superiores de G1 em relação ao G2 devem ser entendidos como alteração da relação entre as camadas, na qual há um aumento da circular em relação a longitudinal.

O número de plexos mioentéricos encontrados em G1 mostrou-se estatisticamente inferior em relação à G2. Tal achado também foi verificado por Moore et al. (1993) em intestinos de ratos submetidos experimentalmente a processos obstrutivos. Embora os valores encontrados por Méier-Ruge e Brunner (2001) não tenham sido significativos, também observaram menor número de gânglios em crianças acometidas por disganglionoses em comparação com intestinos saudáveis. Beiler et al. (2004) utilizaram a quantificação do número de plexos como método de avaliação da inervação intestinal em cães submetidos a transplante autólogo de mucosa intestinal, porém em plexos submucosos. Estes autores descrevem redução no número de plexos nas porções transplantadas em comparação aos segmentos preservados.

Schusser e White (1997) acreditam que a determinação do número de plexos mioentéricos bem como sua densidade celular média sejam métodos adequados de mensuração da inervação intestinal. Além disso, relatam haver relação entre estes dados histológicos e o quadro clínico. Schoenberg e Kluth (2002) descrevem a ausência de plexos submucosos tanto em segmento anterior quanto posterior à obstrução e a diminuição de plexos mioentéricos apenas na porção anterior ao local obstruído. Neste mesmo estudo, embora o número de plexos mioentéricos no segmento posterior estivesse preservado, estes apresentavam distribuição alterada.

Para a análise do número de células por gânglio nervoso, optou-se pelo cálculo da densidade celular. Isto porque, diferentes cortes histológicos de um mesmo gânglio podem fornecer áreas muito diferentes, visto esta ser uma estrutura tridimensionalmente irregular. Tal metodologia não foi utilizada por Rocha, Martins e Patrício (2002) e Rocha et al. (2003), que realizaram apenas a mensuração do número de células por gânglio. Semelhante à mensuração do número de plexos,

este parâmetro foi recomendado por Schusser e White (1997) para a mensuração de inervação intestinal.

Em nosso estudo, a densidade celular média do grupo afetado (G1) foi inferior ao grupo controle (G2), diferença esta estatisticamente significativa. A mesma observação foi descrita por Schusser e White (1997) em eqüinos com alterações colônicas como estrangulamento, impactação e obstrução. Em todas estas afecções ocorre impossibilidade de progressão do conteúdo luminal e severa dilatação intestinal, semelhante ao observado em quadros de intussuscepção. Estes autores não observaram diferença no número de plexo e densidade neuronal em animais sadios anestesiados e eutanasiados, o que contribui com a validação da metodologia utilizada por nós, na qual os animais do grupo controle foram eutanasiados no momento da coleta dos fragmentos intestinais. Segundo os mesmos autores, a densidade celular foi afetada negativamente pela cronicidade da obstrução e pelo prognóstico. Nossos resultados não estão de acordo com esta afirmação, uma vez que o G1S apresentou densidade celular nos plexos mioentéricos inferior à observada nos animais nos quais foram detectadas alterações tardias (G1S= $5083,26 \pm 932,24$ e G1D= $5541,69 \pm 1044,41$).

Belkind-Gerson, Graeme-Cook e Winter (2006) descrevem a ocorrência de hipertrofia de nervos nos plexos mioentéricos e submucosos em processos intestinais crônicos que cursem com inflamação, nos quais se espera encontrar diminuição da densidade celular. A comparação entre a densidade celular média dos plexos mioentéricos do G1 e G2 está em concordância com a literatura.

Diversas alterações histológicas dos plexos mioentéricos podem estar presentes em processos degenerativos, entre eles a ausência total de neurônio, presença de neurônios amorfos hipereosinofílicos, perda de núcleo, retração e vacuolização neuronal. Optou-se por utilizar o grau de vacuolização como método indireto da degeneração neuronal. A diferença do grau de vacuolização entre grupos G1 e G2 foi estatisticamente significativa. O grupo controle apresentou predomínio marcante de escores 0 e 1, que representam ausência ou raras lesões vacuolares, respectivamente. Enquanto isso, 57,14% dos animais do grupo afetado apresentou lesões consideradas importantes. Aroch et al. (1997) também utilizaram estas alterações no diagnóstico de defeito neuronal congênito intestinal em um cão. Silva; Meirelles e Bustorff-Silva (2007) analisaram camundongos submetidos à isquemia

intestinal quanto ao grau de vacuolização citoplasmática dos plexos mioentéricos e outros indícios de degeneração celular. Estes autores afirmam que o processo de isquemia-reperfusão gera danos nervosos tardios, o que pode ser traduzido em alterações de motilidade intestinal.

No que se refere à avaliação imunoistoquímica, embora ambos anticorpos sejam descritos como marcadores citoplasmáticos, observou-se melhor padrão de marcação com o NSE, tanto em intensidade quanto em definição das estruturas. Mesmo assim, não foi possível a perfeita delimitação celular com a marcação obtida. Desta forma, realizou-se avaliação semiquantitativa semelhante à descrita por Fintl et al. (2004) e Khen et al. (2004). Esta diferença na qualidade de marcação entre estes dois anticorpos pode ser explicada pela maior quantidade de enolase neurônio-específica em relação a sinaptofisina (proteína p38) tanto em corpo celular quanto em prolongamentos axonais. Desta forma, Vento e Soinila (1999) não recomendam a utilização de sinaptofisina isoladamente para a avaliação da inervação intestinal.

Quanto à quantidade de imunoreatividade, a diferença entre os grupos testados foi significativa para o NSE e não significativa para a sinaptofisina. É possível que este resultado tenha sido influenciado pela característica de marcação da sinaptofisina.

Na avaliação de quantidade de plexos imunoreativos, independente do escore alcançado, ambos anticorpos mostraram-se adequados na diferenciação dos dois grupos. Os valores encontrados tanto para NSE quanto para sinaptofisina foram estatisticamente inferiores no G1.

Semelhante ao proposto em nosso estudo, Khen et al. (2004) utilizaram painel imunoistoquímico para avaliar o sistema nervoso entérico de pacientes acometidos por atresia intestinal e mensurar a inervação em segmentos próximos à anastomose cirúrgica. Estes autores também optaram pelo uso de escores semiquantitativos para definir a marcação obtida. Para o diagnóstico de pseudo-obstrução intestinal crônica em um cão, Eastwood et al. (2005) avaliaram plexos mioentéricos imunohistologicamente para NSE, sinaptofisina, GFAP e S100 além de observar hipertrofia muscular importante. Neste estudo, recomendam a realização de biópsia completa na vigência de desordens motoras intestinais.

No que concerne ao período pós-operatório, apenas três animais vieram a óbito no período de até 12 horas após o procedimento cirúrgico. O intervalo de tempo associado à evolução do quadro clínico do paciente nos faz acreditar que a septicemia tenha sido a causa comum. Dos 10 animais avaliados no período pós-operatório tardio, todos possuem qualidade de vida satisfatória, porém, três apresentam aumento no número de defecações, alteração da consistência de fezes e períodos intermitentes de episódios diarreicos agudos.

Não é possível inferirmos a respeito do sucesso cirúrgico apenas com os dados da avaliação tardia. Isto porque, embora estas alterações possam ser conseqüências do procedimento, eventos como doença intestinal de base, manejo alimentar e sanitário podem estar envolvidos. Nesta pesquisa, foi diagnosticada enterite linfoplasmocítica eosinofílica em um dos animais que permaneceu com disfunção digestiva no pós-operatório e enterite neutrofílica nos outros dois. A manutenção de segmento intestinal com lesão de inervação pode levar a quadros de disfunção motora, porém a porção e extensão resseccionada também influenciam na homeostase intestinal. Em dois casos, houve a perda da válvula íleo-ceco-cólica, enquanto que no outro animal, retirou-se porção do segmento jejuno-íleo.

Na análise das variáveis quanto os resultados da avaliação tardia, apenas a densidade celular na camada muscular longitudinal mostrou diferença estatisticamente significativa entre os subgrupos G1S, G1D e G1O. Entretanto, a densidade celular da camada muscular circular do subgrupo G1D foi inferior e a relação média entre as camadas musculares foi superior ao grupo G1S, sugerindo uma maior hipertrofia do grupo com alterações tardias. Da mesma forma, o número médio de plexos mioentéricos do G1S foi superior ao observado no G1D. Ainda em relação a esta tendência de diferença entre os grupos G1S e G1D, notou-se que nenhum animal do grupo G1D apresentou imunoreatividade ao NSE grau 3, sendo a maioria dos segmentos analisados grau 2 (85,71%). Já no G1S, 38,46% dos animais tiveram escore 3. Comparando-se as amostras do grupo G1O e G1S, percebe-se que existe uma proximidade entre os valores médios das variáveis analisadas, o que contribui para a exclusão de óbitos relacionados à viabilidade intestinal.

As correlações entre as variáveis analisadas nos grupos G1 e G2 merecem destaque, pois estas análises nos permitem identificar parâmetros que predigam outros parâmetros. Neste caso, é possível selecionarmos métodos diagnósticos mais

simples ou menos onerosos que possam inferir a respeito de métodos considerados mais complexos. A mensuração da densidade celular dos plexos mioentéricos pode indicar uma possível hipertrofia da camada muscular circular do segmento afetado. Assim, detectou-se correlação do tipo positiva, ou seja, quanto maior a densidade celular dos plexos, maior a densidade celular da camada muscular e, conseqüentemente, menor o grau de hipertrofia.

A correlação observada entre densidade celular dos plexos e grau de vacuolização foi do tipo negativa ou inversa. Ou seja, existe um grau de associação entre elas, porém à medida que diminui o grau de vacuolização, aumenta a densidade dos plexos. Desta forma, notamos que animais com maior grau de vacuolização (maior lesão tecidual) apresentam menor densidade celular nos plexos.

A correlação negativa observada entre grau de vacuolização e imunoreatividade ao NSE é fundamental para caracterizar a importância do uso de técnicas histológicas para a análise da inervação intestinal. É possível inferir a respeito da imunoreatividade ao NSE a partir da quantificação de vacuolização dos plexos, técnica mais simples, menos onerosa e que necessita de menor infraestrutura laboratorial quando comparada a imunoistoquímica. Embora alguns autores acreditem que apenas as técnicas imunoistoquímicas apresentem validade, os resultados histológicos demonstraram correlação com achados imunoistoquímicos e da mesma forma podem contribuir de maneira significativa para a avaliação da inervação intestinal.

A análise crítica comparativa do painel de variáveis analisadas sugere que os segmentos intestinais macroscopicamente viáveis do G1 apresentam qualidade de inervação inferior a animais sem distúrbio gastrointestinal. Entretanto, deve-se atentar para a aparente ausência de tradução em alterações clínicas importantes. É possível que, embora existam alterações no momento do procedimento, estas não sejam suficientes para ocasionar manifestações clínicas graves. Além disso, deve-se ressaltar a possibilidade de adaptação intestinal tardia ao segmento lesado ou a ocorrência de regeneração nervosa. Belkind-Gerson, Graeme-Cook e Winter (2006) descrevem a ocorrência de plasticidade e regeneração em tecidos intestinais com disfunções do sistema nervoso entérico resultante de insulto genético ou ambiental, sendo plasticidade a capacidade celular ou tecidual de transformação morfológica em resposta a estímulo externo e regeneração, a habilidade de células ou

organismos de formar novas células em resposta a estas injúrias. Ambas são utilizadas pelos organismos para recuperar a homeostase. A adaptação nervosa intestinal é comandada por proteínas neurotróficas como o fator de crescimento de neurônios (NGF), interleucina IL-6 e fator neurotrófico derivado da glia (GDNF).

Chang et al. (2001) também descrevem o fenômeno de plasticidade e regeneração intestinal em camundongos submetidos experimentalmente à obstrução. Após a remoção do segmento obstruído, uma nova rede nervosa relacionada às células de Cajal foi desenvolvida e a atividade de ondas lentas restabelecida.

Outra explicação plausível para a relação entre os resultados histológicos e imunoistoquímicas e os achados clínicos deste estudo pode ser a existência de alteração prévia individual que contribua para a ocorrência de intussuscepção. Isto explicaria o desenvolvimento desta afecção em apenas alguns animais dentre muitos portadores de quadros de alteração de motilidade intestinal. Entretanto, não se encontra na literatura dados sobre possível predisposição individual à ocorrência de intussuscepções.

O presente trabalho teve por objetivo chamar a atenção no que diz respeito à margem cirúrgica preservada e avaliação tardia da função intestinal dos pacientes. Ele servirá de base para futuros estudos que contribuam com a caracterização da avaliação da inervação intestinal.

CONCLUSÕES

7 CONCLUSÕES

Com base nos resultados apresentados, podemos concluir que:

- A intussuscepção é uma afecção obstrutiva que pode cursar com alterações de motilidade intestinal no período pós-operatório tardio.
- A intussuscepção mostrou-se um modelo adequado para a análise de alterações de inervação intestinal decorrentes de processos de distensão e isquemia.
- A avaliação da viabilidade intestinal trans-operatória por métodos consagrados pode promover a manutenção de segmentos lesados quanto à inervação.

REFERÊNCIAS

REFERÊNCIAS

- ABASIYANIK, A.; DASCI, Z.; YOSUNKAYA, A.; KÖSEOGU, B.; KURU, N.; KAYMAKÇI, A.; GÜNDOĞAN, A. H. Laparoscopic-assisted pneumatic reduction of intussusception. **Journal of Pediatric Surgery**, v. 32, n. 8, p. 1147-1148, Aug. 1997.
- ABO, M.; LIANG, J.; QIAN, L.; CHEN, J. D. Z. Distension-induced myoelectrical dysrhythmia and effect of intestinal pacing in dogs. **Digestive Diseases and Sciences**, v. 45, n. 1, p. 129-125, Jan. 2000.
- APPLEWHITE, A.A.; HAWTHORNE, J. C.; CORNELL, K. K. Complications of enteroplication for the prevention of intussusception recurrence in dogs: 35 cases(1989-1999). **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 219, n. 10, p. 1415-1418, Nov. 2001.
- AROCH, I.; NYSKA, A.; GAL, R.; BARK, H. Functional intestinal hypomotility in association with neuronal damage in a dog. **Journal of Small Animal Practice**, v. 38, n. 3, p. 119-123, Mar. 1997.
- ARONSON, L. R.; BROCKMAN, D. J.; BROWN, D. C. Gastrointestinal emergencies. **Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice**, v. 30, n. 3, p. 555-579, May. 2000.
- BALSIGER, B. M.; HE, C. L.; ZYROMSKI, N. J.; SARR, M. G. Neuronal adrenergic and muscular cholinergic contractile hypersensitivity in canine jejunum after extrinsic denervation. **Journal of Gastrointestinal Surgery**, v. 7, n. 4, p. 572-582, May-Jun. 2003.
- BARKER, I. K.; VAN DREUMAL, A. A.; PALMER, N. The alimentary system. In: JUBB, V.F.; KENNEDY, P.C.; PALMER, N. **Pathology of domestic animal**. London: Academic Press, 1993. p.101
- BEILER, H. A.; SCHÄFER, K. H.; HAGL, C.; STEINORTH, J.; WITT, A.; ZACHARIOU, Z. Histologic changes in neuronal innervation of the ileum mucosa after autologic-allotopic ileum mucosa transplantation. **Pediatric Surgery International**, v. 20, n. 2, p. 96-100, Feb. 2004.
- BELKING-GERSON, J.; GRAEME-COOK, F.; WINTER, H. Enteric nervous system disease and recovery, plasticity and regeneration. **Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition**, v. 42, n. 4, p. 343-350, Apr. 2006.

- BILELLO, J. F.; PETERSON, W. M. Retrograde jejunojejunal intussusception secondary to metastatic melanoma. **Mayo Clinic Proceedings**, v. 80, n. 8, p. 1098, Aug. 2005.
- BOLEKEN, M.; DEMIRBILEK, S.; KIRIMILOGLU, H.; KANMAZ, T.; YUCESAN, S.; CELBIS, O.; UZUN, I. Reduced neuronal innervation in the distal end of the proximal esophageal atretic segment in cases of esophageal atresia with distal tracheoesophageal fistula. **World Journal of Surgery**, v. 31, n. 7, p. 1512-1517, Jul. 2007.
- BROLIN, R. E.; SEMMLOW, J. L.; SEHONANDA, A.; KOCH, R. A.; REDDELL, M. T.; MAST, B. A.; MACKENZIE, J. W. Comparison of five methods of assessment of intestinal viability. **Surgery, gynecology & obstetrics**, v. 168, n. 1, p. 6-12, Jan. 1989.
- BROWN, D. C. Small intestines. In: SLATTER, D. **Textbook of small animal surgery**. Philadelphia: W.B. Saunders Company, 2003. p. 644-664.
- CHANG, I. Y.; GLASGOW, N. J.; TAKAYAMA, I.; HORIGUCHI, K.; SANDERS, K. M.; WARD, S. M. Loss of interstitial cells of Cajal and development of electrical dysfunction in murine small bowel obstruction. **Journal de Physiologie**, v. 536, p. 555-568, Oct. 2001.
- CODE, C. F.; MARLETT, J. A. The interdigestive myoelectric complex of the stomach and small bowel of dogs. **The Journal of Physiology**, v. 246, n. 2, p. 289-309, Mar. 1975.
- COLLURE, D. W.; HAMMER, H. R. Loss of ganglion cells and marked attenuation of bowel wall in cecal dilatation. **The Journal of Surgical Research**, v. 60, n. 2, p. 385-388, Feb. 1996.
- COOLMAN, B. R.; EHRHART, N.; MARRETTA, S. M. Healing of intestinal anastomoses. **Compendium on Continuing Education for the Practicing Veterinarian**, v. 22, n. 4, p. 363-371, Apr. 2000.
- CORFIELD, G. S.; CONNOR, L. M.; SWINDELLS, K. L.; JOHNSON, V. S.; RAISIS, A. L. Intussusception following methiocarb toxicity in three dogs. **Journal of Veterinary Emergency and Critical Care**, v. 18, n. 1, p. 68-74, 2008.

CUMMINGS, J. F.; SELLERS, A. F.; LOWE, J. E. Distribution of substance P-like immunoreactivity in the enteric neurons of the large colon of normal and amitraz-treated ponies: An immunocytochemical study. **Equine Veterinary Journal**, v. 17, n. 1, p. 23-29, Jan. 1985.

DAKO CYTOMATION. **Monoclonal mouse anti-human neuron-specific enolase clone BBS/NC/VI-H14**. Dinamarca: [s.n.], [2003]a.

DAKO CYTOMATION. **Monoclonal mouse anti-synaptophysin clone SY38**. Dinamarca: [s.n.], [2003]b.

DENOBILO, J.; GUZZETTA, P.; PATTERSON, K. Pulse oximetry as a means of assessing bowel viability. **The Journal of Surgical Research**, v. 48, n. 1, p. 21-23, Jan. 1990.

DRASKOVIC, M.; MISOVIC, S.; KRONJA, G.; TOMIC, A.; SARAC, M. Jejuno-jejunal intussusception in adults secondary to submucosal leiomyoma. **Medicinski Pregled**, v. 58, n. 7-8, p. 405-409, Jul-Aug. 2005.

DU TOIT, D. F.; HOMAN, W. P.; REECE-SMITH, H.; MCSHANE, P.; FRENCH, M. E.; DENTON, T. G.; MORRIS, P. J. Canine intestinal intussusception following renal and pancreatic transplantation. **Veterinary Records**, v. 108, n. 2, p. 34-35, Jan. 1981.

DYESS, D. L.; BRUNER, B. W.; DONNELL, C. A.; FERRARA, J. J.; POWELL, R. W. Intraoperative evaluation of intestinal ischemia: a comparison of methods. **Southern Medical Journal**, v. 84, n. 8, p. 966-969, Aug. 1991.

DZIENIS-KORONKIEWICZ, E.; DEBEK, W.; CHYCZEWSKI, L. Use of synaptophysin immunohistochemistry in intestinal motility disorders. **European Journal of Pediatric Surgery**, v. 15, n. 6, p. 392-398, Dec. 2005.

EASTWOOD, J. M.; MCINNES, E. F.; WHITE, R. N.; ELWOOD, C. M.; STOCK, G. Caecal impaction and chronic intestinal pseudo-obstruction in a dog. **Journal of Veterinary Medicine. A, Physiology, Pathology, Clinical Medicine**, v. 52, n. 1, p. 43-44, Feb. 2005.

- ERIKOGLU, M.; KAYNAK, A.; BEYATLI, E. A.; TOY, H. Intraoperative determination of intestinal viability: a comparison with transserosal pulse oximetry and histopathological examination. **The Journal of Surgical Research**, v. 128, n. 1, p. 66-69, Sep. 2005.
- FINTL, C.; HUDSON, N. P.; MAYHEW, I. G.; EDWARDS, G. B.; PROUDMAN, C. J.; PEARSON, G. T. Interstitial cells of Cajal (ICC) in equine colic: an immunohistochemical study of horses with obstructive disorders of the small and large intestines. **Equine Veterinary Journal**, v. 36, n. 6, p. 474-479, Sep. 2004.
- FURLAN, M. M. D. P.; MOLINARI, S. L.; MIRANDE NETO, M. H. Morphoquantitative effects of acute diabetes on the myenteric neurons of the proximal colon of adult rats. **Arquivos de neuropsiquiatria**, v. 60, n. 3-A, p. 576-581, Sep. 2002.
- GABELLA, G. Hypertrophy of visceral smooth muscle. **Anatomy and embryology**, v. 182, n. 5, p. 409-424, 1990.
- GARCIA-CASADO, J.; MARTINEZ-DE-JUAN, J. L.; PONCE, J. L. Noninvasive measurement and analysis of intestinal myoelectrical activity using surface electrodes. **IEEE Transactions on Bio-Medical Engineering**, v. 52, n. 6, p. 983-991, Jun. 2005.
- GUILFORD, W. G.; STROMBECK, D. R. Intestinal Obstruction, pseudo-obstruction and foreign bodies. In: GUILFORD, W. G.; CENTER, S. A.; STROMBECK, D. R., WILLIAMS, D. A.; MEYER, D.J. (Ed) **Strombeck's Small Animal Gastroenterology**. 3. ed. Philadelphia: W.B.Saunders, 1996. p. 487-502.
- HEDLUNG, C.S. Cirurgia do intestino delgado. In: FOSSUM, T.W. (Ed.). **Cirurgia de pequenos animais**. São Paulo: Roca, 2002. p. 322-349.
- HOLMES, N. J.; CAZI, G.; REDDELL, M. T.; GORMAN, J. H.; FEDORCIW, B.; SEMMLOW, J. L.; BROLIN, R. E. Intraoperative assessment of bowel viability. **Journal of Investigative Surgery**, v. 6, n. 2, p. 211-221, Mar-Apr. 1993.
- HUDSON, N. P.; PEARSON, G. T.; KITAMURA, N.; MAYHEW, I. G. An immunohistochemical study of interstitial cells of cajal (ICC) in the equine gastrointestinal tract. **Research in Veterinary Science**, v. 66, n. 3, p. 265-271, Jun. 1999.

JAIN, D.; MOUSSA, K.; TANDON, M.; CULPEPPER-MORGAN, J.; PROCTOR, D. D. Role of interstitial cells of Cajal in motility disorders of the bowel. **The American Journal of Gastroenterology**, v. 98, n. 3, p. 618-624, Mar. 2003.

JAREMKO, J. L.; RAWAT, B. Colo-colonic intussusception caused by a solitary Peutz-Jeghers polyp. **The British Journal of Radiology**, v. 78, n. 935, p. 1047-1049, Nov. 2005.

JUNQUEIRA, I. C.; CARNEIRO, J. **Histologia básica**. Rio de Janeiro: Guanabara-Koogan, 2004. 488 p.

KALFF, J. C.; SCHRAUT, W. H.; SIMMONS, R. L.; BAUER, A. J. Surgical manipulation of the gut elicits an intestinal muscularis inflammatory response resulting in post-surgical ileus. **Annals of Surgery**, v. 228, n. 5, p. 652-663, Nov. 1998.

KAMO, R.; ISHINA, K.; HIRATA, C.; DOI, K.; NAKANISH, T.; HARADA, T.; ISHII, M. A case of ileoileal intussusception caused by metastatic pedunculated tumor of cutaneous angiosarcoma. **The Journal of Dermatology**, v. 32, n. 8, p. 638-640, Aug. 2005.

KHEN, N.; JAUBERT, F.; SAUVAT, F.; FOURCADE, L.; JAN, D.; MARTINOVIC, J.; VEKEMANS, M.; LANDAIS, P.; BROUSSE, N.; LEBORGNE, M.; NIHOUL-FÉKÉTÉ, C.; CERF-BENSUSSAN, N.; SARNACKI, S.; Group for the study of intestinal atresia. Fetal intestinal obstruction induces alteration of enteric nervous system development in human intestinal atresia. **Pediatric Research**, v. 56, n. 6, p. 975-980, Jan. 2004.

KLINGER, M.; COOPER, J.; MCCABE, R. The use of butorphanol tartrate for the prevention of canine intussusception following renal transplantation. **Journal of Investigative Surgery**, v. 3, n. 3, p. 229-233, 1990.

KOBAYASHI, H.; MIYANO, T.; YAMATAKA, A.; LANE, G. .; FUJIMOTO, T.; PURI, P. Use of synaptophysin polyclonal antibody for the rapid intraoperative immunohistochemical evaluation of functional bowel disorders. **Journal of Pediatric Surgery**, v. 32, n. 1, p. 38-40, Jan. 1997.

KOHN, C. W. Intestinal ostruction. In: ANDERSON, N. V.; SHERDING, R. G.; MERRITT, A. M.; WHITLOCK, R. H. **Veterinary gstroenterology**, Pennsylvania: Lea & Febiger, 1992. p. 173-210.

- KUBOTA, M.; KANDA, E.; IDA, K.; SAKAKIHARA, Y.; HAYASHI, M. Severe gastrointestinal dysmotility in a patient with congenital myopathy: causal relationship to decrease of interstitial cells of Cajal. **Brain & Development**, v. 27, n. 6, p. 447-450, Set. 2005.
- KYLES, E. ; SCHNEIDER, T. ; CLARE, A. Foreign body intestinal perforation and intra-abdominal abscess formation as a complication of enteroplication in a dog. **The Veterinary Record**, v. 143, n. 4, p. 143-144, Jul. 1998.
- LA HEI, E. R.; SHUN, A. Intra-operative pulse oximetry can help determine intestinal viability. **Pediatric surgery international**, v. 17, n. 2-3, p. 120-121, Mar. 2001.
- LAMB, C. R.; MANTIS, P. Ultrasonographic features of intestinal intussusception in 10 dogs. **Journal of Small Animal Practice**, v. 39, n. 9, p. 437-441, Set. 1998.
- LEVITT, L.; BAUER, M. S. Intussusception in dogs and cats: A review of thirty-six cases. **The Canadian Veterinary Journal**, v. 33, n. 10, p. 660-664, Oct. 1992.
- LEWIS, D. D.; ELLISON, G. W. Intussusception in dogs and cats. **Compendium on Continuing Education for the Practicing Veterinarian**. v. 9, n. 5, p. 523-534, May. 1987.
- LIN, Z.; GAO, N.; HU, H. Z.; LIU, S.; GAO, C.; KIM, G.; REN, J.; XIA, Y.; PECK, O. C.; WOOD, J. D. Immunoreactivity of Hu proteins facilitates identification of myenteric neurones in guinea-pig small intestine. **Neurogastroenterology and motility**, v. 14, n. 2, p. 197-204, Apr. 2002.
- LOPASSO, F. P. Função motora. In: GAMA-RODRIGUES, J. J.; GRANDE, J. C. D.; MARTINEZ, J. C. **Tratado de clinica cirúrgica do sistema digestório – intestino delgado**. São Paulo: Atheneu, 2004. p. 937-941.
- MACPHAIL, C. Gastrointestinal obstruction. **Clinical Techniques in Small Animal Practice**, v. 17, n. 4, p. 178-183, Nov. 2002.
- MACNAULTY, J. F.; SOUTHARD, J. H.; BELZER, F. O. Prevention of postoperative intestinal intussusception by prophylactic morphine administration in dogs used organ transplantation research. **Surgery**, v. 105, n. 4, p. 494-495, Apr. 1989.

MATSUDA, H.; HIRATO, J.; KUROIWA, M.; NAKAZATO, Y. Histopathological and immunohistochemical study of the enteric innervations among various types of aganglionoses including isolated and syndromic Hirschsprung disease. **Neuropathology**, v. 26, n. 1, p. 8-23, Feb. 2006.

MEIER-RUGE, W. A.; BRUNNER, L. A. Morphometric assessment of Hirschsprung's disease: associated hypoganglionosis of the colonic myenteric plexus. **Pediatric and Developmental Pathology**, v. 4, n. 1, p. 53-61, Jan-Feb. 2001.

MEYER, D. J. **Strombeck's small animal gastroenterology**. 3. ed. Philadelphia: W. B. Saunders, 1996. 978 p.

MOORE, S. W.; LAING, D.; MELIS, J.; CYWES, S. Secondary effects of prolonged intestinal obstruction on the enteric nervous system in the rat. **Journal of Pediatric Surgery**, v. 28, n. 9, p. 1196-1199, Set. 1993.

MUNAKATA, K.; TOMITA, R.; KUROSU, Y. Preliminary immunohistochemical new findings in the myenteric plexus of patients with intestinal neuronal dysplasia type B. **European Journal of Pediatric Surgery**, v. 7, n. 1, p. 21-29, Feb. 1997.

NASH, J. M.; BELLENGER, C. R. Enteroplications in cats, using suture of N-butyl cyanoacrylate adhesive. **Research in Veterinary Science**, v. 65, n. 3, p. 253-258, Nov-Dec. 1998.

NEELY, J.; CATCHPOLE, B. N. An analysis of the autonomic control of the gastrointestinal motility in the cat. **Gut**, v.8, n. 3, p. 230-241, Jun. 1967.

NEUNLIST, M.; AUBERT, P.; TOQUET, C.; ORESHKOVA, T.; BAROUK, J.; LEHUR, P.A.; SCHEMANN, M.; GALMICHE, J. P. Changes in chemical coding of myenteric neurons in ulcerative colitis. **Gut**, v. 52, n. 1, p. 84-90, Jan. 2003.

OLIVEIRA, S. M. **Estudo radiográfico das afecções do intestino delgado em cães**. 1995. 62 f. Dissertação (Mestrado em Cirurgia) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 1995.

ORLAND, P. J.; CAZI, G. A.; SEMMLOW, J. L.; REDDELL, M. T.; BROLIN, R. E. Determination of small bowel viability using quantitative myoelectric and color analysis. **Journal of Surgical Research**, v. 55, n. 6, p. 581-587, Dec. 1993.

PASSOS, R. R.; VALLE, P. V.; NETTO, A. P. **Obstrução intestinal**. Rio de Janeiro: Editora Rubio, 2001. 116 p.

PATRÍCIO, F. R. S.; LANZONI, V. P. Histopatologia do intestino delgado. In: GAMA-RODRIGUES, J. J.; GRANDE, J. C. D.; MARTINEZ, J. C. **Tratado de clínica cirúrgica do sistema digestório – intestino delgado**. São Paulo: Atheneu, 2004. p.937-941.

PATSIKAS, M. N.; JAKOVLJEVIC, S.; MOUSTARDAS, N.; PAPAZOGLU, L. G.; KAZAKOS, G. M.; DESSIRIS, A. K. Ultrasonographic signs of intestinal intussusception associated with acute enteritis or gastroenteritis in 19 young dogs. **Journal of the American Animal Hospital Association**, v. 39, n. 1, p. 57-66, Jan-Feb. 2003.

PATSIKAS, M. N.; PAPAZOGLU, L. G.; ADAMAMA-MORAITOU, K. K. Spontaneous reduction of intestinal intussusception in five young dogs. **Journal of the American Animal Hospital Association**, v. 44, n. 1, p. 41-47, Jan-Feb. 2008.

PATSIKAS, M. N.; PAPAZOGLU, L. G.; JAKOVLJEVIC, S.; DESSIRIS, A. K. Color Doppler ultrasonography in prediction of the reducibility of intussuscepted bowel in 15 young dogs. **Veterinary Radiology & Ultrasound**, v. 46, n. 4, p. 313-316, Jul-Aug. 2005.

PATSIKAS, M. N.; PAPAZOGLU, L. G.; PAPAIOANNOU, N. G.; DESSIRIS, A. K. Normal and abnormal ultrasonographic findings that mimic small intestinal intussusception in the dog. **Journal of the American Animal Hospital Association**, v. 40, n. 2, p. 147-151, Mar-Apr. 2004.

POGETTI, R. S.; PORTA, R. M. P.; FONTES, B. Obstrução. In: GAMA-RODRIGUES, J. J.; GRANDE, J. C. D.; MARTINEZ, J. C. **Tratado de clínica cirúrgica do sistema digestório – intestino delgado**. São Paulo: Atheneu, 2004. p.1159-1170.

RASSLAN, S. Efeitos secundários das ressecções intestinais extensas. In: _____. **Ressecções intestinais extensas e síndrome do intestino curto**. São Paulo: Atheneu, 2007a. p.19-34.

RASSLAN, S. Motilidade intestinal após enterectomias extensas. In: _____. **Ressecções intestinais extensas e síndrome do intestino curto**. São Paulo: Atheneu, 2007b. p.35-38.

RASSLAN, S. Tratamento cirúrgico complementar. In: _____. **Ressecções intestinais extensas e síndrome do intestino curto**. São Paulo: Atheneu, 2007c. p.51-58.

ROCHA, P. R. S.; DINIZ, M. T. C.; CLEMENTE, W. T. Aguda. In: GAMA-RODRIGUES, J. J.; GRANDE, J. C. D.; MARTINEZ, J. C. **Tratado de clínica cirúrgica do sistema digestório – intestino delgado**. São Paulo: Atheneu, 2004. p.1131-1151.

ROCHA, M. M. B.; MARTINS, J. L.; PATRICIO, F. Histological and immunohistochemical study of a jejunal segment undergoing neovascularization by omentopexy. **Transplantation Proceedings**, v. 34, n. 3, p. 900-902, May. 2002.

ROCHA, M. M. B.; MARTINS, J. L.; PATRICIO, F.; TUBINO, P. Are there any structural alterations in a neovascularized jejunal segment by omentoenteropexy? A histologic and immunohistochemistry study. **Journal of Pediatric Surgery**, v. 38, n. 8, p. 1141-1146, Aug. 2003.

RUCKEBUSCH, Y. Motor functions of the intestine. **Advances in Veterinary Science and Comparative Medicine**, v. 25, p. 345-369, 1981.

RUTGERS, L. J.; KUIPER, R.; VAN DER VELDEN, M. A. Effects of experimental duodenal occlusion on electrical activity of the proximal duodenum in cattle. **Research in Veterinary Science**, v. 45, n. 2, p. 186-193, Sep. 1988.

SCHOENBERG, R. A.; KLUTH, D. Experimental small bowel obstruction in chick embryos: effects on the developing enteric nervous system. **Journal of Pediatric Surgery**, v. 37, n. 5, p. 735-740, May. 2002.

SCHUSSER, G. E.; WHITE, N. A. Morphologic and quantitative evaluation of the myenteric plexuses and neurons in the large colon of horses. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 210, n. 7, p. 928-934, Apr. 1997.

SHEHADEH, Z.; PRICE, W. E.; JACOBSON, E. D. Effects of vasoactive agents on intestinal blood flow and motility in the dog. **The American Journal of Physiology**, v. 216, n. 2, p. 386-392, Feb. 1969.

SHIMIZU, K.; KODA, K.; KASE, Y.; SATOH, K.; SEIKE, K.; NISHIMURA, M.; KOSUGI, C.; MIYAZAKI, M. Induction and recovery of colonic motility/defecatory disorders after extrinsic denervation of the colon and rectum in rats. **Surgery**, v. 139, n. 3, p. 395-406, Mar. 2006.

SILVA, M. A.; MEIRELLES, L. R.; BUSTOFF-SILVA, J. M. Changes in intestinal motility and in the myenteric plexus in a rat model of intestinal ischemia-reperfusion. **Journal of Pediatric Surgery**, v. 42, n. 6, p. 1062-1065, Jun. 2007.

STORKHOLM, J. H.; ZHAO, J.; VILLADSEN, G. E.; GREGERSEN, H. Spontaneous and bolus-induced motility in the chronically obstructed guinea-pig small intestine in vitro. **Digestive diseases and sciences**, v. 53, n. 2, p. 413-420, Feb. 2008.

STORKHOLM, J. H.; ZHAO, J.; VILLADSEN, G. E.; HAGER, H.; JENSEN, S. L.; GREGERSEN, H. Biomechanical remodeling of the chronically obstructed guinea pig small intestine. **Digestive diseases and sciences**, v. 52, n. 2, p. 336-346, Feb. 2007.

SUNG, T. S.; LA, J. H.; KIM, T. W.; YANG, I. S. Alteration of nitrgenic neuromuscular transmission as a result of acute experimental colitis in rat. **Journal of Veterinary Science**, v. 7, n. 2, p. 143-150, 2006.

TOLLEFSON, D. F.; WRIGHT, D. J.; REDDY, D. J.; KINTANAR, E. B. Intraoperative determination of intestinal viability by pulse oximetry. **Annals of Vascular Surgery**, v. 9, n. 4, p. 357-360, Jul. 1995.

TÜRKYILMAZ, Z.; KARABULUT, R.; GÜLEN, S.; DEMIROGULLARI, B.; OZEN, I. O.; SÖNMEZ, K.; BASAKLAR, A. C.; KALE, N. Role of nitric oxide and cyclooxygenase pathway in lipopolysaccharide-induced intussusception. **Pediatric Surgery International**, v. 20, n. 8, p. 598-601, Aug. 2004.

TÜRKYILMAZ, Z.; SÖNMEZ, K.; BASAKLAR, A. C.; DEMIROGULLARI, B.; NUMANOGLU, V.; EKINGEN, G.; DURSUN, A.; ALTIN, M. A.; KALE, N. Assessment of anastomotic reliability with pulse oximetry in graded intestinal ischemia: an experimental study in dogs. **Journal of Pediatric Surgery**, v. 32, n. 12, p. 1728-1731, Dec. 1997.

UENOYAMA, S.; KOBAYASHI, T.; TAKEUCHI, Y.; YAMASHITA, K.; KOIDE, Y.; KAZUI, T. Improvement of intestinal motility using S-methylisothiurea in postoperative ileus. **American Journal of Surgery**, v. 187, n. 1, p. 93-97, Jan. 2004.

VENTO, P.; SOINILA, S. Quantitative comparison of growth-associated protein GAP-43, Neuron-specific Enolase, and Protein Gene Product 9.5 as neuronal markers in mature human intestine. **The Journal of Histochemistry & Cytochemistry**, v. 47, n. 11, p. 1405-1415, Nov. 1999.

VIEBIG, R. G. Alterações motoras do aparelho digestivo. In: DANI, R. **Gastroenterologia essencial**. Rio de Janeiro: Guanabara-Koogan, 2006. p. 42-53.

WANG, Z. Q.; WATANABE, Y.; TOKI, A.; KOHNO, S.; HASEGAWA, S.; HAMAZAKI, M. Involvement of endogenous nitric oxide and c-kit-expressing cells in chronic intestinal pseudo-obstruction. **Journal of Pediatric Surgery**, v. 35, n. 4, p. 539-544, Apr. 2000.

WASHABAU, R. J. Gastrointestinal motility disorders and gastrointestinal prokinetic therapy. **The Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice**, v. 33, n. 5, p. 1007-1028, Sep. 2003.

WIEDENMANN, B.; RIEDEL, C.; JOHN, M.; AHNERT-HILGER, G.; STOLTENBURG, G.; WALDSCHMIDT, J.; VON DEIMLING, K.; RIECKEN, E. O.; SCHIER, F. Qualitative and quantitative analysis of synapses in Hirschsprung's disease. **Pediatric Surgery International**, v. 13, n. 7, p. 468-473, Sep. 1998.

WILSON, D. E.; KAYMAKCALAN, H. Prostaglandins: gastrointestinal effects and peptic ulcer disease. **The Medical Clinics of North America**, v. 65, n. 4, p. 773-787, Jul. 1981.

WON, K. J.; SUZUKI, T.; HORI, M.; OZAKI, H. Motility disorder in experimentally obstructed intestine: relationship between muscularis inflammation and disruption of the ICC network. **Neurogastroenterology & Motility**, v. 18, n. 1, p. 53-61, Jan. 2006.

YAMATAKA, A.; OHSHIRO, K.; KOBAYASHI, H.; LANE, G. J.; YAMATAKA, T.; FUJIWARA, T.; SUNAGAWA, M.; MIYANO, T. Abnormal distribution of intestinal pacemaker (C-KIT-positive) cells in an infant with chronic idiopathic intestinal pseudoobstruction. **Journal of Pediatric Surgery**, v. 33, n. 6, p. 859-862, Jun. 1998.

YANAGIDA, H.; YANASE, H.; SANDERS, K. M.; WARD, S. M. Intestinal surgical resection disrupts electrical rhythmicity, neural responses and interstitial cell networks. **Gastroenterology**, v. 127, p. 1748-1759, 2004.