

**UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE MEDICINA**

JULIANA BARRETO SALEM

**Autotransplante anorretal em suínos: padronização do modelo e avaliação
pós-operatória em trinta dias**

São Paulo

2023



JULIANA BARRETO SALEM

**Autotransplante anorretal em suínos: padronização do modelo e avaliação
pós-operatória em trinta dias**

Versão Corrigida

(Versão original encontra-se na unidade
que aloja o Programa de Pós-graduação)

Tese apresentada à Faculdade de Medicina da
Universidade de São Paulo para obtenção do título de
Doutora em Ciências

Programa de Ciências em Gastroenterologia

Orientador: Prof. Dr. Flávio Henrique Ferreira Galvão

São Paulo

2023

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

Preparada pela Biblioteca da
Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo

©reprodução autorizada pelo autor

Salem, Juliana Barreto
Autotransplante anorretal em suínos : padronização
do modelo e avaliação pós-operatória em trinta dias/
Juliana Barreto Salem. -- São Paulo, 2023.
Tese(doutorado)--Faculdade de Medicina da
Universidade de São Paulo.
Programa de Ciências em Gastroenterologia.
Orientador: Flávio Henrique Ferreira Galvão.

Descritores: 1.Transplante 2.Canal anal
3.Malformações anorretais 4.Modelos experimentais
5.Modelos animais 6.Suíno

USP/FM/DBD-250/23

Responsável: Erinalva da Conceição Batista, CRB-8 6755

Dedico esta tese à minha amada família que deu todo apoio para a realização deste trabalho, especialmente aos meus pais Robert e Rosa Salem. Meu pai, que sempre me estimulou a estudar, a ter curiosidade e que, ao longo desta trajetória, me tranquilizou inúmeras vezes com suas doces palavras e seu eterno otimismo; minha mãe, com seu amor incondicional e confiança plena na minha capacidade. Juntos, me deram forças nos momentos mais difíceis e suporte até o fim. Sem dúvida nenhuma, a minha maior torcida.

AGRADECIMENTOS

Ao Professor Flavio Henrique Ferreira Galvão, idealizador desta pesquisa e meu orientador, por todos os ensinamentos e pelas discussões, além de toda a paciência com as minhas dificuldades. Obrigada por me fazer crescer tanto como médica quanto como pessoa. Com o senhor, aprendi não só questões acadêmicas e técnicas, mas, também, a ser paciente, e a acreditar que nada é impossível.

Ao Professor Doutor Luiz Carneiro D'Albuquerque, diretor da Divisão de Transplante de Fígado e Órgãos do aparelho Digestivo do Hospital das Clínicas da FMUSP, que, ao estimular sempre novas ideias, deu todo o apoio para essa linha de pesquisa e permitiu que eu participasse como pós-graduanda, dando continuidade ao estudo do transplante anal com esta tese.

Ao Dr. Eduardo Pompeu, diretor do Centro de Bioterismo da FMUSP, que me abriu as portas do biotério e dos seus conhecimentos para a realização desta pesquisa inédita, sem o apoio do qual ela seria impossível.

Ao Dr. Daniel Waisberg, assistente do grupo de Transplante de Fígado e Órgãos do aparelho Digestivo do Hospital das Clínicas da FMUSP, auxiliar imprescindível durante as cirurgias e quem realizou quase todas as anastomoses vasculares.

Ao Dr. Amadeu Batista, veterinário anestesista competente e habilidoso, além de super prestativo. Sempre disponível para melhor cuidar dos animais, inclusive nos fins de semana, quando, inúmeras vezes, me auxiliou ou dividiu essa função comigo.

À Dra. Paola Sofia Espinoza, ex-residente e colaboradora da disciplina de Transplante de Fígado e Órgãos do Aparelho Digestivo do Hospital das Clínicas da FMUSP, que, com sua simplicidade e habilidade, nos salvou algumas vezes ao completar a equipe cirúrgica, colaborando nas melhores dissecções.

Ao Dr. Renato Lupinacci, mentor na vida profissional e que tanto me ensinou, sempre acreditando na minha capacidade e me aconselhando, inúmeras vezes, ao longo de toda essa trajetória.

Ao Departamento de Anatomia Patológica da FMUSP, especialmente ao Dr. Anderson Costa, que me ensinou a fazer cortes histológicos e teve paciência em me ensinar um pouco de uma área totalmente desconhecida por mim.

À equipe de suporte técnico do LIM 37, especialmente à Valcinéia de Souza (querida Val), responsável pela organização do centro cirúrgico e por deixar sempre o material impecável nos dias de cirurgia.

À Cinthia Lanchotte que, ao longo desses anos, se tornou uma grande amiga, me dando não só suporte técnico e auxílio na logística dos experimentos, mas, também, inúmeros conselhos e parte do seu tempo para me ouvir e ajudar.

A todos os funcionários do setor administrativo do LIM 37, que sempre me acolheram com muito carinho e possibilitaram meu acesso ao laboratório e ao material necessário sempre que precisei, inclusive, me ajudando em assuntos que não tinham responsabilidade oficial, especialmente aos secretários Roberto Pereira de Senna e ao Genilton Serejo Mesquita.

Aos funcionários do Biotério da FMUSP, especialmente ao senhor Clovis, que cuidou com tanta dedicação e tanto carinho dos suínos enquanto permaneceram no biotério, além de me ensinar a alimentar os animais sem medo, inclusive durante os finais de semana.

Ao pessoal da segurança da FMUSP, por me deixarem trabalhar nos fins de semana e ter acesso ao biotério para cuidar dos animais quando a faculdade se encontrava fechada.

À secretária da pós-graduação Vilma de Jesus Libério, que, com sua competência, nos facilita o caminho nas questões burocráticas.

À FMUSP, por ter me acolhido nesses anos e permitido que eu realizasse o sonho de, finalmente, ser Doutora por essa tão renomada instituição.

Aos meus amigos baianos, ambos doutores em Ciências em Gastroenterologia pela FMUSP, Bernardo Canedo e João Paulo Maciel. O primeiro por ter me indicado ao Dr. Flávio e me introduzir ao mundo incrível do transplante e cirurgia experimental. O segundo, por ter me ouvido tantas vezes em momentos de “desespero” e que, com seus conselhos, me ajudou a ter mais jogo de cintura e disciplina.

Aos meus irmãos Rodrigo e Daniela Salem e cunhada Livia Salem, sempre na minha torcida e com palavras de incentivo.

Aos meus pais, por tudo o que sou e fiz até hoje. Sem a base, o apoio e o amor incondicional que me deram não teria me tornado Doutora Juliana Salem. Pai, mãe, essa conquista é NOSSA!

NORMALIZAÇÃO ADOTADA

Esta tese está de acordo com as seguintes normas, em vigor no momento desta publicação:

Referências: adaptado de *International Committee of Medical Journals Editors* (Vancouver).

Universidade de São Paulo. *Diretrizes para apresentação de dissertações e teses da USP: parte IV (Vancouver) / Sistema Integrado de Bibliotecas da USP*; Vânia Martins Bueno de Oliveira Funaro, coordenadora; Maria Claudia Pestana; Maria Cristina Cavarette Dziabas; Eliana Maria Garcia; Maria Fatima dos Santos, Maria Marta Nascimento; Suely Campos Cardoso. 3a ed. ed. amp. mod. São Paulo: SIBI/USP. 2016. (Caderno de estudos).

Abreviaturas dos títulos dos periódicos de acordo com *List of Journals Indexed in Index Medicus*.

RESUMO

Salem JB. *Autotransplante anorretal em suínos: padronização do modelo e avaliação pós-operatória em trinta dias* [tese]. São Paulo: Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo; 2023.

Introdução: Incontinência fecal (IF) grave é uma condição incapacitante e que, muitas vezes, leva a realização de colostomia definitiva (CD). Ambas as condições causam grande impacto socioeconômico e na qualidade de vida do indivíduo, no entanto, nenhuma técnica cirúrgica, mecanismo ou dispositivo desenvolvido até hoje foi capaz de reproduzir a complexa função humana de controlar a evacuação, sendo o segmento anorretal insubstituível. Assim, o transplante anorretal (TAR), transferência de segmento anorretal saudável de doador falecido para receptor com segmento lesionado ou já ausente, torna-se proposta lógica de tratamento para defeitos pélvicos associados à IF grave e CD. Resultados da pesquisa básica com ratos e, mais recentemente, com cães foram promissores, contudo, ainda há carência de estudos pré-clínicos em animais de maior porte com seguimento longo o suficiente para avaliar a viabilidade do enxerto e sua função. **Objetivo:** Padronizar e descrever modelo de autotransplante anorretal em suíno com seguimento pós-operatório (PO) de trinta dias, incluindo avaliação pré-operatória, técnica cirúrgica e evolução clínica ao longo desse período. **Material e métodos:** Dezoito (18) suínos domésticos híbridos das raças Large White e Landrace foram submetidos a auto TAR no nosso laboratório (LIM 37) sobre anestesia geral. Via acesso abdominoperineal e dissecação cuidadosa, os segmentos anorretais contendo pele, subcutâneo, esfíncter, feixes pudendos, reto intraperitoneal e vasos mesentéricos foram retirados e, após perfusão fria com solução heparinizada, foram reimplantados em suas posições originais por meio das anastomoses dos vasos mesentéricos com a aorta e veia cava inferior, anastomose colorretal e reaproximação dos feixes pudendos via perineal. Os animais com enxerto viável ao fim da cirurgia foram submetidos a cuidados e à avaliação clínica pós-operatória por um período de 30 dias. Foram analisados duração total do procedimento, tempos cirúrgicos parciais, tempos de isquemia, extensão do enxerto e do esfíncter, diâmetros vasculares, aspecto anal ao final da cirurgia e no pós-operatório, complicações, aspecto e volume das fezes, padrão evacuatório, sobrevida e causas de óbito. As pressões anais foram avaliadas no pré-operatório e ao fim do seguimento por meio da manometria anorretal. No 30º dia PO, os suínos sobreviventes foram submetidos à cirurgia para retirada do enxerto e análise histopatológica, e, em seguida, sacrificados. **Resultados:** Foram concluídos 16 auto TAR. Dois suínos foram sacrificados no pós-operatório imediato (POI) por isquemia anal evidente secundária à trombose arterial devido à falha técnica e 14 foram levados ao biotério para seguimento. Nas condições do presente experimento, a sobrevida do TAR em 30 dias foi de 25% (n=4), não ocorrendo complicações pós-operatórias graves em nenhum dos suínos sobreviventes no período, que ainda apresentaram recuperação progressiva da função evacuatória ao longo do seguimento. **Conclusão:** O modelo de auto TAR com seguimento em trinta dias em suínos aqui descrito é inédito e mostrou-se factível, possibilitando a avaliação da evolução clínica dos animais e da viabilidade do enxerto sem os efeitos da rejeição, permitindo, ainda, avaliação funcional nesse período.

Descritores: Transplante, Canal anal, Malformações anorretais, Modelos experimentais, Modelos animais, Suíno.

SUMMARY

Salem JB. *Anorectal autotransplantation in swine: standardization of the model and postoperative evaluation in thirty days* [thesis]. São Paulo: “Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo”; 2023.

Introduction: Severe fecal incontinence (FI) is a disabling condition that often leads to permanent colostomy (PC). Both conditions cause great individual life distress and socioeconomic impact, however no surgical technique, mechanism, or device developed to date has been able to reproduce the complex function of controlling evacuation and the anorectal segment remains irreplaceable. Thus, anorectal transplantation (ART), transference of healthy anorectal segment from a deceased donor to a recipient with injured or already absent segment, becomes a logical proposal of treatment for pelvic defects associated with severe FI and PC. Results of basic research with rats and more recently with dogs were promising, but there is a lack of preclinical studies in larger animals with long-term follow-up to evaluate the viability of the graft and specially to evaluate its function. **Objective:** To standardize and describe a model of auto ART in swine with a thirty-day postoperative follow-up, including preoperative evaluation, surgical technique, and clinical evolution throughout this period. **Material and methods:** 18 hybrid domestic pigs of Large White and Landrace breeds were submitted to auto ART in our laboratory under general anesthesia. Via abdominoperineal access and careful dissection, anorectal segments containing skin, subcutaneous, sphincter, pudendal bundles, intraperitoneal rectum and mesenteric vessels were removed and after cold perfusion with heparinized solution, were reimplanted in their original positions through anastomosis of the mesenteric vessels with the aorta and inferior vena cava, colorectal anastomosis and approximation of the pudendal bundles via perineal access. Animals with viable graft at the end of the surgery were submitted to daily postoperative care and clinical evaluation for 30 days. Total duration of the procedure, partial surgical times, ischemia times, graft and sphincter extension, vascular dimensions, anal aspect at the end of surgery and in the postoperative period, complications, stool volume and consistency, evacuation pattern, survival and causes of death were analyzed. Anal pressures were evaluated preoperatively and at the end of follow-up using anorectal manometry. On the 30th postoperative day, the surviving pigs were submitted to surgery for graft removal and histopathological analysis and then sacrificed. **Results:** 16 auto ART were completed. Two animals were sacrificed in the immediate postoperative period presenting ischemia of the anus secondary to arterial thrombosis due to technical failure and 14 were taken for follow-up. Under the conditions of this experiment, the 30-day survival rate of ART was 25% (n=4), with no serious postoperative complications in any of the pigs surviving this period, who also presented progressive recovery of defecatory function. **Conclusion:** The auto ART model with a thirty-day follow-up in swine described here is unprecedented and proved to be feasible, allowing clinical evaluation of the animals and evaluation of the viability of the graft and its function in this period.

Keywords: Transplantation, Anal canal, Anorectal malformations, Experimental models, Animal models, Swine.

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1** - Centro cirúrgico para procedimentos experimentais em animais de médio e grande porte do Laboratório de Investigação Médica da Disciplina de Órgãos do Aparelho Digestivo da FMUSP (LIM 37) 28
- Figura 2** – Anatomia da aorta abdominal inferior, ilíacas e emergência da artéria mesentérica inferior ou caudal no suíno: a) terço distal da aorta e artéria mesentérica inferior dissecadas no transplante; b) desenho da aorta abdominal inferior no suíno 32
- Figura 3** – Assoalho pélvico no suíno masculino, em litotomia: esfíncter anal e músculo elevador do ânus contornados em azul; elevador do ânus destacado em rosa a esquerda e removido a direita para visualização do musculo coccígeo e da origem e trajeto do nervo pudendo, também destacado em rosa e contornado em azul 33
- Figura 4** – Relações anatômicas do canal anal e reto distal no suíno masculino (musculatura removida); aparelho geniturinário contornado em azul (glândula bulbouretral, parte da uretra, vesícula seminal e próstata passando atrás do púbis) 33
- Figura 5** – Suíno na posição supina em mesa cirúrgica própria para quadrúpede, com membros inferiores amarrados e fixados na lateral da mesa simulando posição de litotomia para melhor exposição perineal 36
- Figura 6** – Mesa cirúrgica do LIM 37, específica para procedimentos em quadrúpedes de médio porte: a) mesa aberta, para colocação do animal em decúbito lateral; b) mesa com laterais erguidas para estabilização do animal em decúbito dorsal 36
- Figura 7** - Tempo cirúrgico perineal: a) orifício anal ocluído por sutura em bolsa e incisão circular em torno do ânus com abertura da derme; b) isolamento do feixe pudendo (seta); c) segmento anorretal liberado, com visão da parede anterior do esfíncter e reto, cavidade abdominal acessada através do músculo elevador do ânus e feixes do pudendo reparados com fio de polipropileno 5-0 (setas)..... 38
- Figura 8** – Segmento anorretal liberado, fixo apenas pela artéria (seta amarela) 38
- Figura 9** – Dissecção vascular em dois ângulos: origem da artéria mesentérica inferior (seta branca) e veia mesentérica inferior dissecada ao longo do mesocólon (seta azul) 39
- Figura 10** – a) Enxerto anorretal com pedículos vasculares sobre compressa em solução salina gelada no procedimento de bandeja; b) preparo e medição da veia mesentérica; c) zoom dos pedículos vasculares (seta para a luz arterial) 40

Figura 11	– Anastomoses vasculares: a) anastomose arterial término-lateral na aorta (seta amarela), anastomose venosa término-lateral da VCI (seta branca) e sutura da aorta onde foi retirado o “patch” vascular (seta azul); b) anastomose arterial no mesmo local da retirada no patch aórtico (seta amarela) sem sutura na aorta.....	41
Figura 12	– Anastomose colorretal (setas azuis), anastomose arterial (seta amarela) e venosa (seta branca) concluídas, com reto distal já posicionado na pelve	41
Figura 13	– Enxerto anorretal de S9 dissecado mostrando duas artérias mesentéricas: a) patch arterial contendo a luz das duas artérias (setas azuis) e veia mesentérica inferior (seta branca); b) detalhe dos dois troncos arteriais emergindo da aorta	50
Figura 14	– Box Plot mostrando diminuição estatisticamente significativa na média do tempo cirúrgico dos últimos auto TAR realizados (2º grupo) em relação aos primeiros (1º grupo), com dados tabelados abaixo do gráfico.....	53
Figura 15	– Gráficos mostrando que não houve diminuição estatisticamente significativa nos tempos de isquemia quente nem de isquemia total nos últimos TAR concluídos	53
Figura 16	– Aspecto anal no POI determinando grau de lesão anal isquêmica aguda de acordo com a classificação da Tabela 1: a) cianose intensa (3) + hipotonia (1) = 4 ou lesão anal isquêmica grave (grau 3); b) cianose intensa (3) sem hipotonia (0) = 3 ou lesão anal isquêmica moderada (grau 2); c) cianose moderada (2) + hipotonia (1) = 3 ou lesão anal isquêmica moderada (grau 2); d) cianose moderada (2) sem hipotonia (0) = 2 lesão anal isquêmica moderada (grau 2); e) cianose leve (1) + hipotonia (1) = 2 lesão anal isquêmica moderada (grau 2); f) cianose leve (1) sem hipotonia (0) = 1 ou lesão anal isquêmica leve (grau 1); g) hipotonia (1) sem cianose (0) = 1 ou lesão anal isquêmica leve (grau 1); h) sem cianose (0) + ausência de hipotonia (0) = 0 ou lesão anal isquêmica ausente (grau 0).....	55
Figura 17	– Fluxograma de seguimento dos 18 suínos submetidos ao auto TAR.....	55
Figura 18	– Aspecto do ânus nos três suínos sacrificados no 2º dia PO, com necrose e congestão secundária a trombose venosa: a) S11; b) S12 e c) S18	56
Figura 19	– Aspecto do enxerto retirado dos suínos que evoluíram com congestão e necrose no 2º dia PO, representado por S11: a) enxerto necrótico retirado mostrando o pedículo venoso mesentérico dilatado e estreitamento na área da anastomose (trombose da anastomose) indicado pela seta vermelha; b) detalhe da artéria mesentérica inferior com <i>patch</i> aórtico e óstio cateterizado, sem trombo na luz arterial.....	56
Figura 20	– Anastomoses vasculares durante a necropsia de S15 realizada no 1º dia PO: a) AMI e VMI íntegras e aparentemente sem trombo (setas amarelas); b) visão intraluminal da anastomose da AMI com a luz do vaso pérvia (seta branca).....	57
Figura 21	– Aspecto anal de S13: a) POI e b) 2º dia PO	58

Figura 22 – Evolução do enxerto de S6 de lesão isquêmica moderada no POI para necrose franca no 5º PO: a) aspecto anal no 5º dia PO; b) aspecto do enxerto durante a autópsia	58
Figura 23 – Prolapso total do reto no experimento S7: a) 2º dia PO; b) necrose do reto e da anoderme no 5º dia PO	59
Figura 24 – Evolução do aspecto anal de S16: a) lesão anal isquêmica grau 2 (cianose moderada sem hipotonia) no POI; b) lesão anal isquêmica grau 1 (cianose leve sem hipotonia) no 1º PO e c) lesão isquêmica grave (congestão e necrose) no 4º dia PO	60
Figura 25 – Evolução do experimento S5: a) 1º dia PO com ânus bem perfundido (rosa e com edema da reperfusão); b) suíno no 4º dia PO em bom estado geral, aceitando bem dieta e mantendo bom aspecto anal.....	60
Figura 26 – Achados da autópsia do experimento S5: a) anastomose colorretal íntegra (seta) e enxerto sem sinais de isquemia; b) dilatação, isquemia e necrose do intestino delgado	61
Figura 27 – Evolução do aspecto anal dos suínos que evoluíram bem (S1, S10, S14 e S17) no POI, no 2º dia PO, quando apresentam edema, e no 30º dia PO, com tônus aparente.....	62
Figura 28 – Aspecto do enxerto durante as autópsias nos suínos que evoluíram bem: a e b) reto reintegrado na pelve; c) área de transição do enxerto e cólon proximal (seta na área da anastomose colorretal); c) vasos mesentéricos (setas); d) anastomoses.....	62
Figura 29 – Evolução do enxerto anorretal em S17: a) aspecto anal no 3º dia PO com deiscência lateral da anoderme e tecido de granulação (na foto com spray de prata larvicida repelente que passamos a usar preventivamente); b) 7º dia PO com drenagem de fezes líquidas por orifício fistuloso perianal; c) exame clínico sob anestesia confirmando a presença de fístula anal transesfincteriana; d) 90º dia PO com orifício fistuloso fechado e ânus com bom tônus à inspeção	63
Figura 30 – Pressão anal de repouso média dos suínos no pré-operatório (N=17): gráfico de dispersão mostrando curva de distribuição normal (linha azul clara) e histograma com as ordenadas demonstrando a frequência de ocorrências e as abscissas os valores da pressão em mmHg	66
Figura 31 – a) S17 no 180º PO sendo submetido a manometria; b) traçado manométrico mostrando pressão anal de repouso média de 45,65 mmHg no minuto selecionado.....	67
Figura 32 – Análise comparativa pareada da pressão anal de repouso pré com a pós-TAR e análise de uma amostra considerando 14,62 mmHg (média das pressões medidas no pré-operatório) como valor de referência para pressão anal de repouso normal mostrando que não houve diferença estatística em nenhuma das análises (p= 0,375)	68

Figura 33 – Cortes histológicos da transição anorretal corados em hematoxilina-eosina e com aumento (HE 5x) do suíno controle (a) e de S14 trinta dias após auto TAR bem-sucedido (b). Nota-se em (b) a mesma arquitetura tecidual de (a), estando o revestimento epitelial preservado, mas com discreto edema (setas vermelhas apontando para epitélio colunar simples e glandular da mucosa e setas azuis apontando para epitélio estratificado não queratinizado da anoderme) e submucosa com infiltrado celular inflamatório mais intenso (★ amarela) e mínima congestão (*). Cortes com maior magnificação (HE 10x) do esfíncter interno não mostram diferença entre controle (c) e S14 (d) e do esfíncter externo mostra apenas discreto edema e maior vascularização (#) de S14 (f) em relação ao controle (e))

LISTA DE TABELAS

Tabela 1-	Classificação de lesão anal isquêmica aguda (Graus 0 a 3).....	43
Tabela 2-	Dimensões das estruturas anatômicas transplantadas no auto TAR em suíno.....	49
Tabela 3-	Complicações intraoperatórias do auto TAR em suínos	51
Tabela 4-	Tempos operatórios do auto TAR em suíno (em minutos)	52
Tabela 5-	Análise comparativa dos tempos operatórios entre os primeiros TAR concluídos (1º grupo) e os últimos (2º grupo).....	54
Tabela 6-	Causas de óbito após auto TAR em suínos	65
Tabela 7 -	Manometria pré e pós-TAR dos quatro suínos com seguimento \geq 30 dias.....	67

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

AAPR	Amputação Abdominoperineal do Reto
AMI	Artéria Mesentérica Inferior
Ao	Aorta
CCFIS	Cleveland Clinic Fecal Incontinence Score
CD	Colostomia Definitiva
CEUA	Comissão de Ética no Uso de Animais
CFMV	Conselho Federal de Medicina Veterinária
cm	Centímetro
cols.	Colaboradores
CONCEA	Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal
DC	Doença de Crohn
DP	Desvio Padrão
EA	Esfíncter Anal
EAA	Esfíncter Anal Artificial
EAE	Esfíncter Anal Esterno
EAI	Esfíncter Anal Interno
EM	Esfíncter Magnético
ENT	Estimulação do Nervo Tibial
EP	Erro Padrão
ETM	Excisão Total do Mesorreto
EUA	Estados Unidos da América
FIQL	Fecal Incontinence Quality of Life Scale
FMUSP	Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo
HC-FMUSP	Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da USP
HE	Hematoxilina-eosina
IF	Incontinência Fecal
IO	Intraoperatório
KCL	Cloreto de Potássio
kg	Quilograma
LARS	Low Anterior Ressection Syndrome
LIM	Laboratório de Investigação Médica
mg	Miligramas
min	Minutos

ml	Mililitro
mm	Milímetro
mmHg	Milímetro de Mercúrio
NMS	Neuromodulação Sacral
NP	Nervo Pudendo
PO	Pós-Operatório
POI	Pós-Operatório Imediato
SM	Sacral Média
SPF	<i>Specific Pathogen Free</i>
TAR	Transplante Anorretal
TI	Tronco Ilíaco
VCI	Veia Cava Inferior
VMI	Veia Mesentérica Inferior

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	17
2	OBJETIVOS	26
2.1	OBJETIVO PRIMÁRIO.....	26
2.2	OBJETIVOS SECUNDÁRIOS	26
3	MATERIAL E MÉTODOS	28
3.1	ESTRUTURA E BASE EXPERIMENTAL PRÉVIA	29
3.2	DELINEAMENTO.....	29
3.3	ESTUDO-PILOTO E ESTUDO DA ANATOMIA SUÍNA	29
3.4	CUIDADOS PRÉ-OPERATÓRIOS.....	34
3.5	PROCEDIMENTO ANESTÉSICO.....	34
3.6	PROCEDIMENTO CIRÚRGICO	35
3.7	SEGUIMENTO PO	42
3.8	AVALIAÇÃO FUNCIONAL DO ENXERTO	43
3.8.1	Avaliação clínica	43
3.8.2	Avaliação manométrica.....	44
3.9	AVALIAÇÃO HISTOPATOLÓGICA	44
3.10	COLETA E ANÁLISE DOS DADOS	45
4	RESULTADOS	47
4.1	ESTRUTURAÇÃO DO LIM 37 E COLABORAÇÃO COM O BIOTÉRIO CENTRAL DA FMUSP	47
4.2	MONTAGEM DAS EQUIPES CIRÚRGICA, ANESTÉSICA E DE APOIO	47
4.3	PADRONIZAÇÃO NA SELEÇÃO, NO FORNECIMENTO E NO PREPARO DOS SUÍNOS.....	48
4.4	AMOSTRA.....	48
4.5	PROCEDIMENTO CIRÚRGICO	49
4.5.1	Dimensões das estruturas transplantadas	49
4.5.2	Complicações intraoperatórias	49
4.5.3	Tempos operatórios	51
4.6	EVOLUÇÃO CLÍNICA	54
4.7	SOBREVIDA E PRINCIPAIS CAUSAS DE ÓBITO	64
4.8	AVALIAÇÃO FUNCIONAL	65
4.8.1	Avaliação clínica	65
4.8.2	Avaliação manométrica.....	65

4.9	AVALIAÇÃO HISTOPATOLÓGICA	68
5	DISCUSSÃO	73
6	CONCLUSÕES.....	88
	REFERÊNCIAS.....	90
	ANEXOS.....	106
	Anexo A - Aprovação da Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA)	106
	Anexo B - Prorrogação do Prazo para Execução do Projeto de Pesquisa.....	107
	Anexo C - Aprovação da Comissão Ético-Científica do Departamento de Gastroenterologia	108
	Anexo D - Fichas protocolares do Autotar em suínos	109

1 INTRODUÇÃO

1 INTRODUÇÃO

O transplante anorretal (TAR) é uma proposta de tratamento para defeitos pélvicos complexos associados à incontinência fecal (IF) grave e colostomia definitiva (CD) por meio da transferência de segmento anorretal saudável de doador falecido para receptor com segmento lesionado ou já ausente.^{1,2}

O TAR segue o conceito inovador de transplantes funcionais ou de tecidos compostos como os de face, laringe, mãos, membros e útero, indicados para promover o restabelecimento da função de tecidos irremediavelmente lesados e melhorar a qualidade de vida.³⁻⁸ Achados recentes da pesquisa básica e pré-clínica do TAR foram promissores⁹⁻¹¹ e tem inspirado possíveis futuras indicações deste procedimento para melhorar a qualidade de vida de pacientes com disfunção anorretal grave, em casos selecionados.

A IF é uma condição desagradável e constrangedora que gera isolamento social, diminuição da qualidade de vida e tem grande impacto socioeconômico.¹²⁻¹⁴ Quando grave, torna-se incapacitante e causa grande sofrimento, levando, muitas vezes, à indicação de colostomia definitiva (CD), que também tem efeitos negativos na vida do indivíduo associados à má aceitação da imagem corporal e sentimento de inadequação.^{15,16}

A prevalência global da IF é incerta e subestimada devido ao constrangimento dos pacientes em revelar essa condição,^{17,18} variando na literatura de 1,4% a 18%, a depender da definição usada e população-alvo estudada. Ela aumenta com a idade, chegando a dobrar após 70 anos e a superar 50% em pacientes institucionalizados, sendo causa comum de internação em casas de repouso.¹⁹⁻²² Estima-se que sejam gastos 26 bilhões de dólares por ano nos Estados Unidos da América (EUA) em pacientes com IF e que os custos indiretos relacionados à perda da produtividade desses pacientes cheguem a centenas de milhões de dólares por ano.^{23,24} O alto custo envolvido em seu controle associado aos transtornos provocados na vida do indivíduo e à sua alta prevalência fazem da IF um problema importante de saúde pública mundial.

O principal fator determinante da continência fecal é o funcionamento adequado do esfíncter anal (EA), estando as principais causas de incontinência relacionadas a seu comprometimento direto ou indireto e ao comprometimento de sua inervação. As causas mais comuns são lesões adquiridas por cirurgias anais e trans anais, tratamento cirúrgico e não cirúrgico (radioterapia) do câncer retal, trauma perineal complexo e trauma obstétrico, sendo a última a principal causa em mulheres.²⁵⁻²⁹ Ela pode ainda ter origem neurogênica idiopática ou secundária a doenças sistêmicas como diabetes mellitus e esclerodermia, alterações

degenerativas do sistema nervoso central, constipação e idade avançada. Outras causas importantes são radioterapia, Doença de Crohn e malformação congênita.^{30,31}

O tratamento da IF varia de acordo com sua gravidade e etiopatogenia, especialmente se ela é predominantemente muscular ou neurogênica. Para classificá-la, índices baseados em parâmetros clínicos e de qualidade de vida como o *Cleveland Clinic Fecal Incontinence Score* (CCFIS) e *Fecal Incontinence Quality of Life Scale* (FIQL) são utilizados.^{32,33} Manometria anorretal, ultrassom endoanal, ressonância magnética com “endo coil” e tempo de latência do pudendo (de menor utilidade hoje) auxiliam na classificação e no diagnóstico etiopatogênicos.³⁴⁻³⁸

Mas independente da causa, o tratamento da IF continua sendo desafiador, especialmente nos casos graves. A complexidade do aparelho esfíncteriano com suas características musculares únicas e os complexos mecanismos fisiológicos envolvidos na continência fecal e defecação tornam o reestabelecimento dessas funções muito difícil e praticamente impossível nos casos graves.^{12,39} Felizmente, a maioria dos casos é leve e responde de forma variável a uma abordagem clínica inicial com mudança comportamental, dieta, agentes formadores de bolo fecal e medicações (loperamida e antiespasmódico) associada ou não à fisioterapia pélvica ou *biofeedback*, sendo esta última recomendada universalmente como segunda linha terapêutica.³⁹⁻⁴⁵

Procedimentos ambulatoriais e pouco invasivos como estimulação do nervo tibial (ENT),⁴⁶⁻⁵¹ aplicação de radiofrequência (“*SECCA procedure*”),⁵²⁻⁵⁴ injeção de agentes de preenchimento⁵⁵⁻⁵⁷ e de cilindros de *poliacrilonitrila*⁵⁸⁻⁶¹ vêm sendo estudados, porém sem vantagens comprovadas em estudos controlados ou apresentam resposta discreta e não sustentada ao longo do seguimento. Eles são aplicados em casos selecionados com lesão esfíncteriana pequena e em protocolos de pesquisa.⁶²

Casos que não respondem à abordagem inicial podem ser considerados para tratamento paliativo de suporte, que, hoje, inclui dispositivos de barreira mecânica não invasivos, como *plugs* anais e o *plug* vaginal. Esses dispositivos podem melhorar a qualidade de vida quando acessíveis e tolerados pelos pacientes,⁶³⁻⁶⁵ no entanto, grande parte desses casos (especialmente quando há lesão da musculatura esfíncteriana) terá indicação de cirurgia que varia desde procedimentos menos invasivos, como a esfíncteroplastia e neuromodulação sacral (NMS), a procedimentos extensos e mutilantes, como técnicas de substituição de esfíncter e CD.⁶⁶⁻⁶⁸

Esfíncteroplastia, com ou sem sobreposição dos feixes esfíncterianos, vem sendo realizada desde 1971, quando preconizada por Parks para reparo tardio de lesões esfíncterianas pós-cirúrgica ou pós-parto.⁶⁹ No entanto, os trabalhos com seguimento prolongado mostraram

queda nas taxas de sucesso de 70-86% em um ano para 10-46% em 5-10 anos. Esses resultados são ainda piores em mulheres acima de 50 anos, portadoras de defeitos antigos e extensos, fazendo com que a esfinteroplastia seja, hoje, mais recomendada para reparo imediato ou precoce de lesões esfinterianas até 180°. ⁷⁰⁻⁷⁷

A NMS tem sido o tratamento cirúrgico mais popular para IF moderada a grave nos últimos anos. Grandes séries exibiram taxas de sucesso em torno de 70% em curto prazo, de 50% em 5 anos e continência fecal completa mantida em 20 a 30% dos pacientes neste período. ⁷⁸⁻⁸¹ Ela teve sua indicação ampliada para casos com lesão esfinteriana ⁸²⁻⁸⁴ e, mais recentemente, para os casos de *LARS (Low Anterior Resection Syndrome)* ou *Síndrome da Ressecção Anterior Baixa* (IF grave pós-anastomose colorretal baixa). ⁸⁵ Hoje, vem sendo estudada para outras causas de IF, como malformação congênita e Doença de Crohn (DC). ⁸⁶

Apesar da indicação crescente da NMS, abordagens cirúrgicas repetidas para revisão e troca do aparelho ou por outras complicações são necessárias em 36 a 42% dos casos, sendo dor e infecção local as complicações mais comuns, levando à retirada definitiva do dispositivo em 3-6 % casos. ^{87,88} A necessidade do uso prolongado desses aparelhos associada a complicações acumuladas e diminuição da eficácia comprovada ao longo dos anos de uso tornam o tratamento com NMS extremamente caro e de baixa relação custo-benefício. ⁸⁹⁻⁹¹ Além disso, não serve para IF grave com lesões musculares extensas e não tem utilidade quando ocorre perda ou ressecção completa do EA.

Para casos de IF grave que não respondem aos tratamentos anteriores e casos com deformidade extensa do EA (por traumas, cirurgias, malformações congênitas complexas, entre outros), a CD pode ser o último recurso. Ela é alternativa de tratamento dramática para esses pacientes, pois, apesar de melhorar alguns aspectos da qualidade de vida e permitir que exerçam suas principais atividades, causa alto grau de restrição social. Muitos sofrem efeitos psicossociais extremamente negativos relacionados à dificuldade de aceitação da autoimagem, chegando a pensamentos suicidas e recusa de tratamento. ⁹²⁻⁹⁴

A CD é a única alternativa nos casos de ressecção do segmento anorretal, indicada, principalmente, por câncer e DC anorretal grave. ⁹⁴ A amputação abdominoperineal do reto (AAPR) ainda é realizada em 21 a 40% dos casos de tumor de reto distal ⁹⁵⁻⁹⁸, mesmo após os avanços da radio e quimioterapia, das técnicas cirúrgicas e do conhecimento da fisiopatogenia da doença terem possibilitado a realização de cirurgias com preservação do esfíncter e tratamento oncológico clínico exclusivo. ⁹⁹⁻¹⁰³ Além disso, 25% dos pacientes submetidos à retossigmoidectomia com anastomose colorretal baixa por câncer

acabam ficando com CD, seja por deiscência, seja por recidiva da doença, ou por *Síndrome da Ressecção Anterior Baixa*, IF grave associada à má qualidade de vida após anastomose colorretal baixa.¹⁰⁴⁻¹⁰⁷ Quanto aos pacientes com DC, apesar das taxas de ressecção cirúrgica terem diminuído nos últimos anos e de alguns trabalhos mostrarem diminuição das taxas de CD na era da terapia biológica, estudos de coorte recentes mostram que os índices dessas últimas têm se mantido estáveis.¹⁰⁸⁻¹¹⁰

Visando evitar os efeitos deletérios da colostomia, técnicas de reconstrução anal utilizando outros feixes musculares vêm sendo estudadas há anos e dispositivos artificiais com finalidade de substituir o ânus foram criados, estudados e alguns até lançados no mercado. Das técnicas de reconstrução, a graciloplastia simples ainda é realizada em centros muito especializados e em casos super selecionados, apesar da maioria das séries demonstrarem resultados pouco duradouros e altas taxas de complicação como infecção e obstrução por impactação fecal.¹¹¹⁻¹¹⁴

A graciloplastia dinâmica, com estimulação elétrica para transformar as células musculares estriadas em células de contração lenta semelhantes às do esfíncter anal externo (EAE), apresentou resultados frustrantes somados às complicações graves relacionadas ao dispositivo implantado (erosão, infecção), sendo praticamente proscrita.^{62,115-118} Outras técnicas como colostomias perineais continentes e reconstrução anal com o glúteo máximo com e sem anastomose do pudendo foram isoladamente descritas.¹¹⁹⁻¹²¹

Em 1987, foi criado o primeiro esfíncter anal artificial (EAA), adaptado a partir de um dispositivo para incontinência urinária.¹²² Apesar dos bons resultados iniciais, as séries apresentaram altas taxas de infecção e taxa de exteriorização de até 50%. O seu altíssimo custo associado às complicações infecciosas e diminuição progressiva da eficácia nos dispositivos retidos levou, finalmente, ao fim de sua produção e comercialização.^{62,123-127} Dispositivos de mecanismo semelhante foram lançados no mercado europeu com taxas de complicação equivalentes e de sucesso inferiores ao modelo pioneiro.^{128,129}

Outros dispositivos com mecanismos diversos vêm sendo estudados em nível experimental.^{130,131} O esfíncter magnético (EM), após resultados iniciais animadores, foi o último dispositivo liberado para uso clínico,^{132,133} no entanto, em 5 anos de seguimento, ocorreram dor e erosão desse em mais de 50% dos casos, com remoção por complicação grave em 20%.¹³⁴ Um estudo grande recente comparando NMS com EM mostrou resultados frustrantes para ambos os tratamentos além de complicações graves do EM que não justificavam sua implantação, sendo sua produção descontinuada e o estudo interrompido.^{135,136}

Em síntese, apesar de todos os avanços tecnológicos na Medicina, ainda não foi encontrado nenhum dispositivo, seja biológico seja sintético, que substitua efetivamente o EA. A colostomia continua sendo a única alternativa para casos de IF grave com defeitos anatômicos extensos e para casos de disfunção total ou necessidade de ressecção do segmento anorretal. Neste contexto, o TAR surge como uma alternativa lógica e possível para restaurar a função evacuatória, evitando a realização de CD e todas as repercussões psicossociais e econômicas negativas relacionadas a ela.^{1,2}

A possibilidade de realizar um TAR em humanos vem sendo favorecida no cenário atual após surgimento do transplante funcional ou de tecidos compostos, que como já mencionamos, são indicados para a melhorar a qualidade de vida dos transplantados. O sucesso de séries de transplante de face,⁸ laringe,³ mãos,⁴ membros⁵ e útero^{6,7} modificou conceitos e impôs novo paradigma ao transplante de órgãos, respaldando a realização do TAR em casos selecionados de IF grave e CD, visto que este compartilha a mesma indicação de melhorar a qualidade de vida.

O TAR pode ser especialmente interessante para pacientes com DC anorretal grave candidatos à proctocolectomia total, já que a preocupação com a imunossupressão é minimizada por fazer parte do tratamento da doença. Registros nacionais de transplante dos EUA apontam para a DC como a segunda principal indicação de transplante intestinal e multivisceral.¹³⁷ Assim, os primeiros casos selecionados para TAR poderiam ser de pacientes com DC candidatos a transplante intestinal e que não possuem o segmento anorretal, ou apresentam este gravemente comprometido pela doença, com múltiplas fístulas, fibrose, deformidade e estenose. A associação do segmento anorretal ao enxerto poderá, inclusive, melhorar a função do intestino delgado transplantado e a absorção de nutrientes.

O TAR poderá ser indicado também para casos selecionados de pacientes submetidos à ressecção anorretal por câncer, como já ocorre para alguns casos de câncer de outros órgãos, como fígado^{138,139} e pulmão.¹⁴⁰ Avanços da terapia neoadjuvante e excisão total do mesorreto levaram à queda da taxa de recorrência do tumor de reto de 20% para 1,7-5,0%,⁹⁹⁻¹⁰³ o que aumenta a chance de alguns desses pacientes se tornarem um dia elegíveis para o tratamento com TAR.

Mas a ideia do TAR em seres humanos para tratar IF grave associada a defeitos pélvicos complexos não é inédita. A primeira descrição de TAR foi publicada no *Annals of Surgery*, em 1901, por Dr. John D. Rushmore, professor de cirurgia do *Long Island College Hospital* em Nova York, nos EUA.¹⁴¹ Nela, Rushmore descreve um paciente de 39 anos em péssimo estado geral, nutricional e emocional devido à IF grave secundária a um trauma perineal (chifrada)

com laceração anorretal extensa e submetido a seis abordagens cirúrgicas malsucedidas. Em uma época em que os conhecimentos sobre anestesia, cirurgia, infecções e terapia antimicrobiana eram incipientes, ele ofereceu ao paciente o auto TAR como uma opção de tratamento definitivo no lugar da colostomia. Como, na época, a colostomia também tinha manutenção precária e alta rejeição por preconceito, foi recusada pelo próprio paciente que acabou autorizando a realização do TAR em caráter experimental.

Na descrição da técnica, após a incisão ao redor do ânus ser estendida para a articulação sacrococcígea, o segmento anorretal foi liberado via perineal e, em seguida, retirado o cóccix, sendo os terços distal e médio do reto dissecados e liberados em toda a sua circunferência. O reto foi dobrado no sentido posterior formando uma válvula e o ânus foi reimplantado no ângulo posterior da ferida operatória, cerca de quatro polegadas acima da sua posição original. Apesar da preocupação do autor com a vascularização do reto distal, completamente interrompida durante a sua dissecação, não houve isquemia do reto. O paciente evoluiu com infecção da ferida operatória que foi efetivamente tratada durante as semanas de internação, recebendo alta em bom estado geral e evacuando duas vezes por dia, e retornando às suas atividades habituais.

Sete décadas após o relato acima, o auto TAR (mobilização do reto distal e reimplantação perineal) foi realizado em 94 crianças do sexo feminino com malformação congênita distal em dois relatos de série,^{142,143} mostrando resultados funcionais aceitáveis em longo prazo. No entanto, não foram encontradas mais publicações sobre TAR em humanos após esses relatos.

Em 2000, foi publicado o primeiro modelo experimental de TAR no *British Journal of Surgery*, por O'Bichere e cols. do *Hospital Saint Marks* de Londres, local de referência histórica no tratamento de doenças anorretais.¹⁴⁴ Neste estudo, eles realizaram quatro TAR halogênicos (entre indivíduos da mesma espécie) ortotópicos em suínos do sexo masculino com o enxerto retirado de suínos do sexo feminino, após a retirada da vagina e útero em procedimento de bandeja. Os animais foram sacrificados 24 horas após o transplante, sendo observado sucesso (enxerto com bom aspecto e bem vascularizado) em três casos e insucesso (isquemia franca) em um caso no período estudado. Esse experimento foi pioneiro em demonstrar a viabilidade técnica do TAR halogênico, contudo, o número pequeno de casos e o curto período de observação o limitaram a apenas uma descrição da técnica. Infelizmente, seus autores não continuaram com novas pesquisas para avaliar a evolução e função do segmento anorretal transplantado, provavelmente devido à complexidade da estrutura necessária para a realização desses experimentos e ao custo que eles envolvem.

Avanços no transplante de intestino e multivisceral para pacientes com falência intestinal e de múltiplos órgãos¹⁴⁵⁻¹⁴⁷ inspiraram outros pesquisadores para a possibilidade do uso clínico do TAR. Em nossa instituição, o sucesso dos transplantes intestinal e multivisceral clínico baseou-se na pesquisa translacional realizada no Laboratório de Investigação Médica (LIM) 37 da Disciplina de Transplante de Órgãos do Aparelho Digestivo.¹⁴⁸⁻¹⁵⁰ A partir dela, começamos a questionar os possíveis efeitos da associação da válvula ileocecal e de segmentos mais distais do cólon ao enxerto de intestino delgado sobre a sua função. Isso levou nosso grupo a descrever, em 2006, um modelo simplificado de transplante de intestino delgado e cólon em ratos com anastomose porto-portal avaliando a influência da válvula ileocecal e cólon na evolução do enxerto.¹⁵¹

Após o sucesso da pesquisa acima, o mesmo grupo desenvolveu, em 2009, um modelo inédito de auto TAR em ratos.¹⁵² Nesse modelo, foi realizada desconexão total do segmento anorretal e reimplante do mesmo de modo ortotópico e heterotópico (com implantação do ânus na parede abdominal), sem secção e anastomose do segmento retal nem interrupção do fluxo vascular mesentérico. Observou-se recuperação precoce da função anorretal no auto TAR ortotópico e heterotópico em contraste com uma evolução desfavorável dos animais submetidos à ressecção do segmento anorretal e colostomia distal, que apresentaram mortalidade de 40%.¹⁵² Tal achado motivou a continuação dessa linha de pesquisa em nossa instituição, aspirando a aplicação clínica do TAR, e, em 2012, foi descrito um modelo de transplante intestino delgado, cólon e segmento anorretal em bloco, em ratos, para estudar a importância da preservação da inervação intrínseca do intestino na função do enxerto e a capacidade de regeneração da inervação do segmento anorretal.¹⁵³

Poucos anos depois, descrevemos um novo modelo de auto TAR em ratos, simulando isquemia por meio do clampeamento transitório dos vasos mesentéricos, com seguimento de 14 dias, no qual foi observada recuperação parcial da função anorretal em uma semana e total em duas semanas do procedimento, aferida pela manometria.⁹ Mais recentemente, em colaboração multicêntrica envolvendo as universidades de São Paulo, Tóquio, Pittsburgh e Oxford, nosso grupo publicou os resultados de um modelo mais sofisticado de TAR isogênico (entre ratos de uma mesma cepa) e halogênico (entre ratos de cepas diferentes) por meio de anastomose microvascular de manguito contendo os vasos mesentéricos. Com este modelo, foi observado de forma inédita, o perfil da rejeição celular do segmento anorretal.¹⁰

Paralelamente, no Japão, Araki e cols. da Universidade de Tóquio publicaram um modelo de auto TAR extraperitoneal em ratos com restauração da vascularização do reto e do nervo pudendo com auxílio de ultramicrocirurgia, enfatizando a relação da anastomose do nervo e vasos distais com a boa evolução do enxerto.¹⁵⁴ Posteriormente, esse grupo desenvolveu

um modelo de auto TAR em cães e um estudo angiográfico do suprimento sanguíneo do ânus nesses animais, mostrando que as artérias pudendas proporcionavam maior fluxo ao segmento anorretal do que a artéria mesentérica inferior (AMI).¹⁵⁵ O mesmo grupo também demonstrou a viabilidade da técnica em humanos usando um modelo em cadáver.¹⁵⁶

Com base em seus resultados iniciais, Araki e cols. publicaram o primeiro modelo de auto TAR em cães no qual realizaram o autotransplante do segmento extraperitoneal sem acesso à cavidade abdominal, com anastomoses microcirúrgicas da artéria e veia pudendas assim como o nervo pudendo (NP) bilateralmente¹⁵⁷ e, recentemente, com nossa colaboração, descreveu o primeiro modelo de TAR halogênico em cães da raça Beagle com seguimento de 2 anos.¹¹

Com base no experimento de O'Bichere, Galvão e cols. descreveram, detalhadamente, a técnica do auto TAR em cinco suínos com reaproximação do nervo pudendo (NP) e anastomoses da AMI e veia mesentérica inferior (VMI) na aorta (Ao) e veia cava inferior (VCI), sem reconstrução da vascularização distal.¹⁵⁸ Neste modelo, observaram os animais transplantados por período de duas horas, avaliando apenas o estresse cirúrgico e os efeitos imediatos da denervação, isquemia e reperfusão do enxerto.

Atualmente, ainda há carência de estudos pré-clínicos de TAR, especialmente, com seguimento prolongado para avaliar as complicações clínicas, a evolução do enxerto anorretal e sua função. Sendo o nosso grupo pioneiro no estudo desse transplante em ratos e suínos, procuramos dar continuidade a essa pesquisa translacional iniciando outro estudo em suínos, mas com avaliação pós-operatória prolongada. No presente estudo, padronizamos a técnica operatória do auto TAR nesses animais e construímos um modelo de seguimento pós-operatório de trinta dias para avaliar as complicações do procedimento e a evolução do enxerto, avaliando assim, exclusivamente, os efeitos da isquemia, reperfusão e denervação sobre a viabilidade e função do segmento anorretal transplantado. Ele servirá de controle negativo para avaliação dos efeitos da rejeição desse transplante no futuro.

2 OBJETIVOS

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO PRIMÁRIO

Padronizar modelo de autotransplante anorretal com seguimento pós-operatório em suíno e observar a evolução clínica ao longo de trinta dias.

2.2 OBJETIVOS SECUNDÁRIOS

- Avaliar a função do segmento anorretal trinta dias após o transplante autólogo em modelo suíno;
- Criar modelo para treinamento da técnica do transplante anorretal;
- Estruturar o LIM 37 em colaboração com o Biotério Central da FMUSP para realização de pesquisa em transplante com seguimento pós-operatório prolongado.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3 MATERIAL E MÉTODOS

Este estudo foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (FMUSP) sob número 057/15 em 21.02.2017 com extensão até agosto de 2022 (Anexos A e B) após ter sido aprovado pelo Comitê de Ética e Pesquisa do Departamento de Gastroenterologia do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da USP (HC-FMUSP) (Anexo C).

Os experimentos foram realizados na sala de cirurgia LIM 37 (Figura 1) da Disciplina de Transplante de Órgãos do Aparelho Digestivo da FMUSP em parceria com o Centro de Bioterismo da própria faculdade.

Figura 1 - Centro cirúrgico para procedimentos experimentais em animais de médio e grande porte do Laboratório de Investigação Médica da Disciplina de Órgãos do Aparelho Digestivo da FMUSP (LIM 37)



Fonte: Produção da autora (2023)

Todos os animais obtidos foram manipulados na FMUSP de acordo com os preceitos da Lei nº 11.794, de 8 de outubro de 2008, do Decreto nº 6.899, de 15 de julho de 2009, com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA) e com a resolução no 714 de 20 de julho de 2002 do Conselho Federal de Medicina Veterinária (CFMV) que regulamenta os procedimentos de eutanásia.

3.1 ESTRUTURA E BASE EXPERIMENTAL PRÉVIA

O LIM 37 é composto por um complexo de laboratórios e biotérios que realizam pesquisa translacional de alta complexidade para dar suporte científico ao programa clínico de transplante de órgãos e cirurgia do aparelho digestivo do Departamento de Gastroenterologia do HC-FMUSP. Sua estrutura inclui ambientes especializados na manutenção e experimentação com ratos isogênicos SPF (*Specific Pathogen Free*), sala de microcirurgia, sala de cultura e manipulação de células, sala de biologia molecular, laboratório de bioquímica, sala de material e sala cirúrgica para animais de médio porte. Os modelos desenvolvidos no LIM 37 objetivam resolver os problemas da prática clínica, desenvolvendo novas propostas terapêuticas. A experiência prévia do LIM 37 com modelos sofisticados envolvendo transplante de fígado, pâncreas, intestino e multivisceral utilizando ratos, cães e suínos¹⁵⁹⁻¹⁶² alicerçaram a realização deste projeto e facilitaram o entendimento da equipe cirúrgica, anestésica e de suporte técnico para a sua realização.

3.2 DELINEAMENTO

Trata-se de um estudo experimental descritivo do auto TAR em suínos envolvendo o pré-operatório, a técnica cirúrgica e o seguimento clínico pós-operatório (PO) ao longo de 30 dias. Devido à complexidade do projeto e à necessidade de envolvimento multiprofissional especializado, todas as etapas foram planejadas antecipadamente por meio de reuniões com as equipes médica, veterinária, de apoio técnico do LIM 37, do biotério da FMUSP, do setor de laboratório de análise bioquímica e da patologia. Por se tratar de um modelo experimental inédito de avaliação pós-operatória prolongada, seu delineamento se deu com base na literatura existente e a partir de um estudo-piloto iniciado em 2017 que descreveremos a seguir.

3.3 ESTUDO-PILOTO E ESTUDO DA ANATOMIA SUÍNA

Para detectarmos as principais dificuldades logísticas e técnicas dentro da estrutura já disponível e corrigi-las antes de iniciarmos os experimentos com seguimento prolongado, foi realizado um estudo-piloto. Ele foi determinante para a escolha e fornecimento dos animais, montagem e treinamento da equipe anestésica e cirúrgica e para estruturação do ambiente de segmento pós-operatório. Também permitiu adaptações na técnica cirúrgica antes de iniciarmos a pesquisa, além do estudo da anatomia abdominal, pélvica e perineal do suíno.

Apesar de relatos prévios sugerirem que os cães são animais mais adequados para o estudo do TAR por apresentarem mecanismo de continência fecal voluntária,^{155,157} o uso desses animais em experimentos científicos é inviável em nosso meio devido à legislação do estado de São Paulo (Lei Nº 11.977, de 25 de agosto de 2005, seção II, artigo 31) e a ausência de fornecedores que se enquadrem na lei estadual. Optamos, então, pelo modelo suíno, por ser um animal de médio porte com anatomia semelhante à dos seres humanos, por ser amplamente utilizado em pesquisas pré-clínicas e treinamentos cirúrgicos e pela técnica do TAR já ter sido descrita nesse animal.^{144,158,163}

No estudo-piloto, cinco suínos foram submetidos ao auto TAR sob anestesia geral realizada por veterinário anestesista e sacrificados ao final da cirurgia. As cirurgias foram realizadas por dois cirurgiões, um responsável pelo tempo perineal e outro pelo tempo abdominal do procedimento. Todos os procedimentos foram realizados com a participação e supervisão do orientador, que ensinou a técnica do auto TAR, tornando-a reprodutível pela mesma equipe.

Os dois primeiros experimentos foram realizados com suínos híbridos das raças Large White e Landrace, pesando 47 e 48kg e fornecidos pela Granja RG, fornecedora oficial de suínos da FMUSP para treinamento cirúrgico de alunos e residentes. Ao constatarmos problemas de saúde nesses animais (pneumonia e diarreia), decidimos procurar suínos de melhor qualidade para pesquisa. Assim, prosseguimos o estudo com três Minipigs pesando $33,3 \pm 3,0$, da empresa Minipig Pesquisa & Desenvolvimento Ltda., especializada na produção dessa raça.

Apesar dos Minipigs se apresentarem saudáveis e com boa qualidade sanitária, encontramos algumas dificuldades. Devido as suas proporções anatômicas, especialmente na pelve, esses animais apresentavam uma área de campo cirúrgico exíguo, dificultado o acesso e a dissecação adequada das estruturas do transplante. Além disso, os vasos mesentéricos apresentavam calibre menor, o que tornou a realização do procedimento mais difícil. Por essas limitações, optamos em voltar a utilizar os suínos híbridos fornecidos pela Granja RG, mas com preparo clínico pré-operatório específico que padronizamos e descreveremos adiante.

Tirando a dificuldade maior em trabalhar com as pequenas dimensões nos Minipigs, não encontramos maiores dificuldades técnicas na dissecação abdominal e pélvica do reto, nem na dissecação da Ao, VCI ou dos vasos mesentéricos, visto que a anatomia dos suínos é semelhante à anatomia humana, fazendo do modelo uma boa simulação clínica do procedimento.^{164,165} Diferenças anatômicas, como cólon e bexiga sem fixação

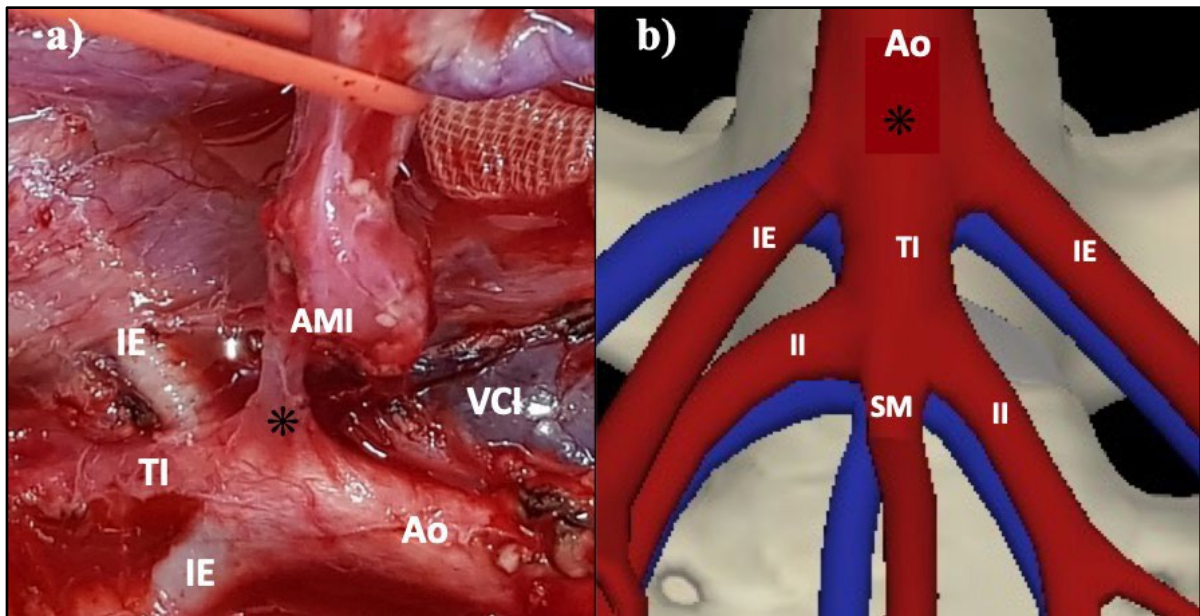
abdominal e um intestino delgado extenso, determinaram adaptações para melhorar a apresentação cirúrgica, mas sem comprometer a dissecação do enxerto.

A extensão do intestino do suíno, especialmente do intestino delgado, é cerca de três vezes maior do que o intestino dos humanos,¹⁶⁵ o que dificultou, inicialmente, a exposição da área de dissecação abdomino-pélvica posterior, onde ficam o reto e os grandes vasos. Isso levou à aquisição de uma mesa cirúrgica específica para quadrúpedes que nos permitiu posicionar melhor o animal, mantendo-o estável em posição de *Trendelenburg* e proporcionando a manutenção das viscerais abdominais na região superior do abdômen. Além disso, foi necessário manter, ao longo do procedimento, duas válvulas maleáveis envolvidas com compressas úmidas e fixadas sobre leve pressão na parede abdominal lateral interna de cada lado, o que ajudou a manter o intestino fora do campo operatório sem promover isquemia e permitiu uma melhor exposição da região dissecada.

Outra diferença anatômica em relação ao humano refere-se à origem da AMI, que, no suíno, é conhecida como artéria mesentérica caudal ou posterior. Os suínos não possuem artéria ilíaca “comum” e a aorta termina em uma “trifurcação”, emitindo os ramos ilíacos externos direito e esquerdo e o tronco ilíaco (TI) interno, que, por sua vez, origina as artérias ilíacas internas (II) direita e esquerda e a artéria sacral mediana (SM). A AMI do suíno tem origem na aorta abdominal muito próxima da trifurcação (a 1,0 cm) (Figura 2),¹⁶³⁻¹⁶⁵ o que dificultou o reimplante deste vaso na aorta. Não havendo espaço suficiente para o implante entre a sutura da aorta (saída original da AMI) e a emergência das ilíacas externas (IE) e sendo essas e o tronco ilíaco interno muito finos para isso, a anastomose arterial só podia ser realizada mais cranialmente na aorta abdominal, o que implicava em maior tensão sobre ela. Por este motivo, a partir do nono experimento, optamos por realizar a anastomose arterial no mesmo local da aortotomia realizada durante a remoção do enxerto.

A anatomia da pelve, do assoalho pélvico e perianal suína são semelhantes à humana, com algumas diferenças importantes. Além da bexiga, que se encontra solta na pelve, o reto possui poucas fixações, ficando preso apenas pelo pedículo vascular e um peritônio fino que cobre o mesorreto quase ausente, ficando praticamente solto no oco pélvico. O EA e os músculos elevadores do ânus são bem desenvolvidos no suíno e a origem da irrigação distal do reto e canal anal (ramos retais inferiores das II) são equivalentes à origem nos humanos, assim como a origem do NP (Figura 3), no entanto, os glúteos são proporcionalmente mais desenvolvidos, deixando a área do assoalho menor para trabalhar e, provavelmente, suas estruturas menos desenvolvidas, o que dificultou a identificação e o isolamento dos feixes pudendos neste modelo.

Figura 2 – Anatomia da aorta abdominal inferior, ilíacas e emergência da artéria mesentérica inferior ou caudal no suíno: a) terço distal da aorta e artéria mesentérica inferior dissecadas no transplante; b) desenho da aorta abdominal inferior no suíno



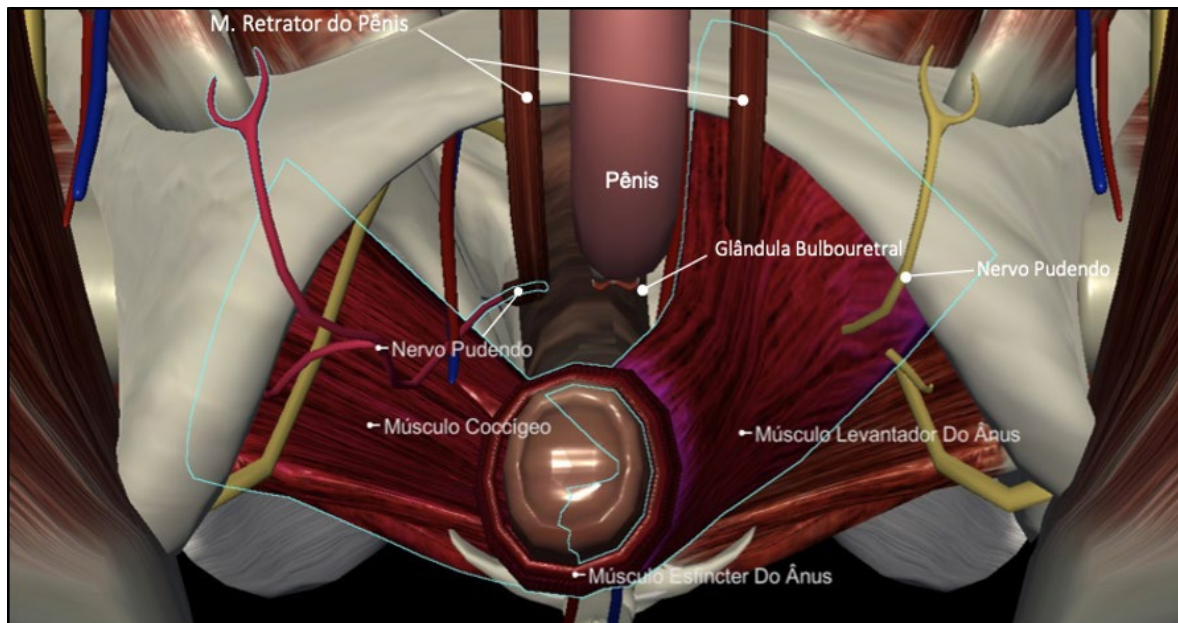
Fonte: Produção da autora (2023) e captura de tela com imagem do *software 3d-Pig Anatomy da Biosphera*,¹⁶⁵ editada pela autora, com autorização da empresa.

Nota: AMI= artéria mesentérica inferior IE = ilíaca externa; TI= tronco ilíaco comum; II= ilíaca interna; Ao= aorta; SM= sacral média; VCI= veia cava inferior; * = local de emergência da AMI.

A presença da cauda e da artéria e veia caudal, ao contrário do que imaginávamos, não dificultou a dissecação posterior do ânus e serviu inclusive como referência anatômica antes de aprofundarmos na dissecação da pelve. Já no plano anterior, houve maior dificuldade devido à grande proximidade e quase ausência de plano entre canal anal e reto distal com a base do pênis, uretra, músculo e glândulas bulbouretrais e próstata nos machos, e vagina na fêmea, o que aumenta o risco de lesão da parede do reto e dessas estruturas na dissecação distal (Figura 4).

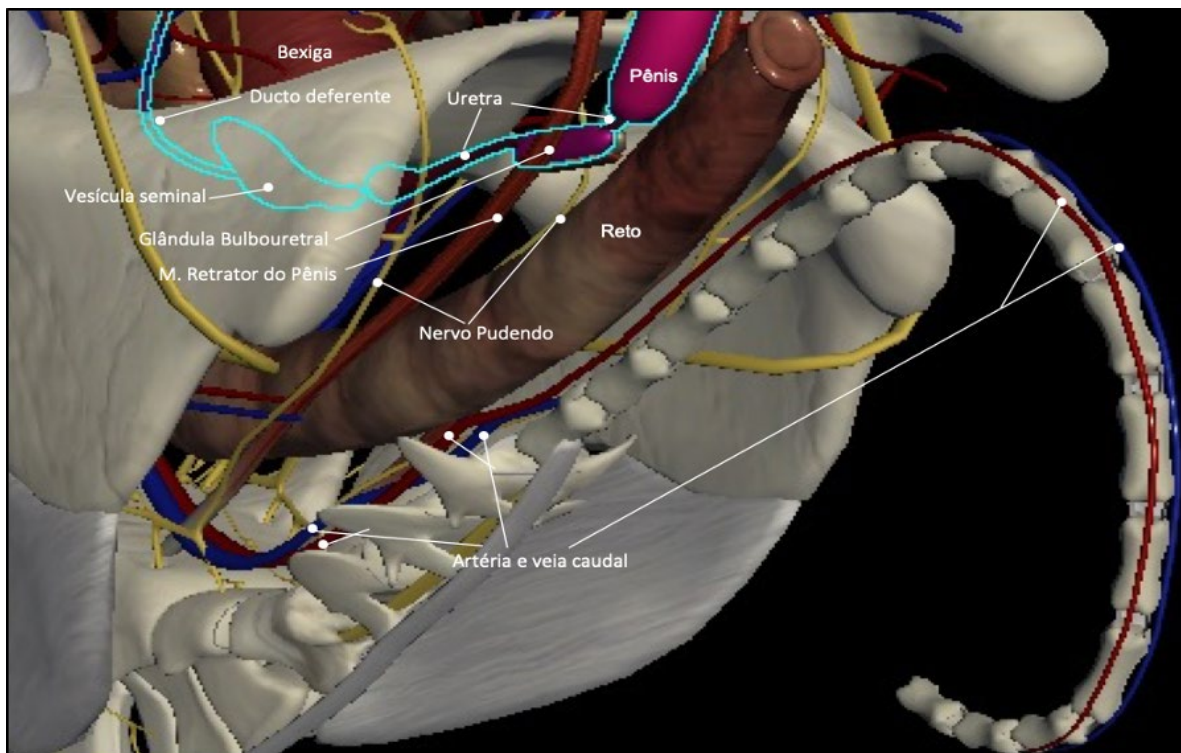
Nos cinco experimentos do estudo-piloto, observamos boa pulsação arterial após reperusão e boa coloração do enxerto até o término da anastomose colorretal e reposicionamento da peça na pelve, no entanto, um deles evoluiu com isquemia até o fim da cirurgia, com o ânus apresentando coloração muito arroxeadada. Isso nos levou a ter maior cuidado na manipulação e no reposicionamento do enxerto na pelve para não tracionar as anastomoses vasculares. Também nos levou a observar a evolução da coloração do ânus por um período de 60 minutos (min) antes de acordar o animal da anestesia e prosseguir com o seguimento PO, o que ficou padronizado no desenho do estudo.

Figura 3 – Assoalho pélvico no suíno masculino, em litotomia: esfíncter anal e músculo elevador do ânus contornados em azul; elevador do ânus destacado em rosa a esquerda e removido a direita para visualização do músculo coccígeo e da origem e trajeto do nervo pudendo, também destacado em rosa e contornado em azul



Fonte: Captura de tela com imagem do *software 3d-Pig Anatomy da Biosphera*,¹⁶⁵ editada pela autora, com autorização da empresa.

Figura 4 – Relações anômicas do canal anal e reto distal no suíno masculino (musculatura removida); aparelho geniturinário contornado em azul (glândula bulbouretral, parte da uretra, vesícula seminal e próstata passando atrás do púbis)



Fonte: Captura de tela com imagem do *software 3d-Pig Anatomy da Biosphera*,¹⁶⁵ editada pela autora, com autorização da empresa.

3.4 CUIDADOS PRÉ-OPERATÓRIOS

Os suínos foram entregues no Centro de Bioterismo da FMUSP, higienizados e mantidos em baias adequadas e isoladas por um período de três a sete dias (quarentena) para avaliação clínica, laboratorial (hemograma) e detecção de patologias. Somente animais considerados hígidos nessa avaliação clínica (realizada por veterinário anestesista) foram considerados elegíveis para o experimento.

Durante o período de observação pré-operatória, foram mantidos no Biotério Central com oferta de ração específica para a espécie e água. Depois, foram mantidos em jejum para sólidos e com acesso restrito à água por 24 horas antes do transplante.

3.5 PROCEDIMENTO ANESTÉSICO

Os mesmos dois veterinários anestesistas realizaram todos os procedimentos anestésicos dessa casuística e, em colaboração com a equipe cirúrgica, padronizaram as etapas do procedimento anestésico que será descrito a seguir.

Os animais foram sedados com administração intra muscular (IM) de Ketamina (Ketamin-S[®], Cristália) na dose de 10 mg/kg e Midazolam (Dormire[®], Cristália) na dose de 0,25 mg/kg (ambos colocados em mesma seringa) em região cervical. A sedação inicial foi feita no biotério, antes do transporte do animal. Com o animal sedado, já no centro cirúrgico do LIM 37, a veia marginal da orelha foi cateterizada com cateter calibre 20 (BD Insytetm) para a indução anestésica com Propofol (Provine[®] 1% – Cláris) na dose de 5,0 mg/kg e Fentanil (Citrato de Fentanila – Cristália[®]) na dose de 0,5 mg/kg intra venosos (IV).

Após a indução, os animais foram posicionados em decúbito ventral e intubados com sonda endotraqueal de diâmetro 7,5, sendo mantidos em ventilação mecânica com o aparelho anestésico Siemens[®] modelo SV900C, em modo controlado a volume (8 ml/kg) com frequência respiratória ajustada para manter a PaCO₂ entre 35 e 45 mm Hg. Em seguida, reposicionados para decúbito dorsal.

A manutenção anestésica foi realizada com Isoflurano 1,5% (Isoforine[®], Cristália) associada à infusão contínua de Pancurônio (Pancuron[®], Crisália), na dose de 0,04 mg/kg/min para o bloqueio neuromuscular e infusão contínua de Fentanil na dose de 0,075 mg/kg/min para complementação analgésica. Logo após estabilização da anestesia, foi realizada antibiótico profilaxia com 1,0 g de Ceftriaxone (Rocefin[®], Roché) e 500 mg Metronidazol IV (Flagyl[®], Baxter). O controle da diurese foi realizado por sonda vesical, passada via cistostomia logo no

início da cirurgia. No decorrer do ato cirúrgico, a temperatura central foi mantida entre 36-37°C com a utilização de um colchão térmico. Ringer Lactato 20 ml/kg/h foi administrado para compensar as perdas relacionadas ao ato cirúrgico.

Após a cirurgia, foi realizada fixação e manutenção de um acesso venoso, central ou periférico, por período de 1 a 3 dias para administração da analgesia PO constituída por Dipirona 50mg/kg (Dipirona injetável Ibase[®], uso veterinário) e 100 mg de Cloridrato de Tramadol (Tramal injetável 100mg/2ml[®], Grunethal) aplicadas duas vezes ao dia do 1º ao 3º dia. Na perda do acesso venoso, as medicações foram aplicadas na forma IM. A administração das medicações do pós-operatório foi realizada com o auxílio da equipe de apoio do Biotério Central e supervisão do veterinário anestesista. Analgesia por demanda foi realizada conforme orientações do último quando necessária.

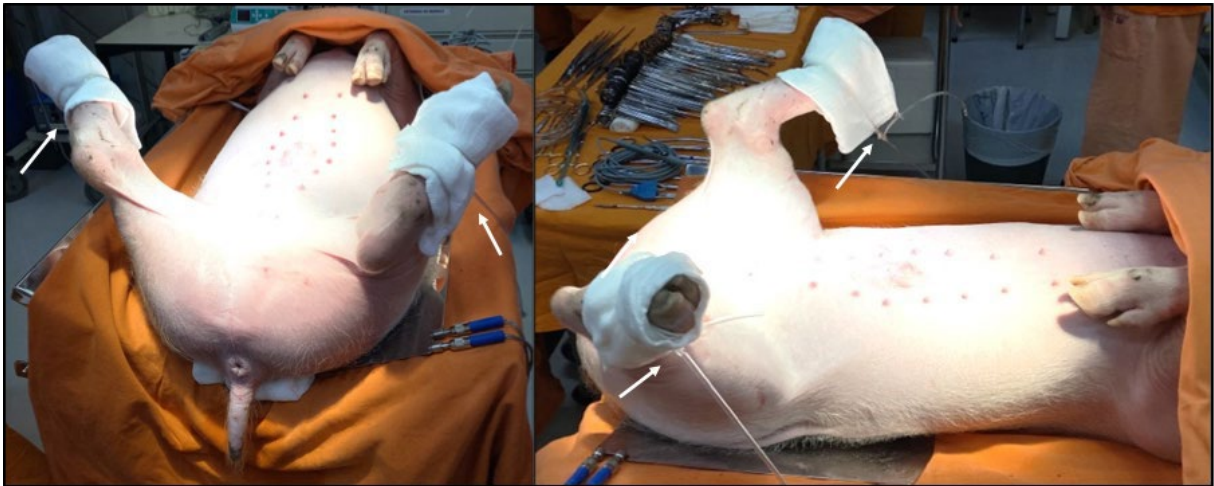
A cirurgia para a retirada do enxerto no ponto final do experimento ou para a autópsia na presença de complicação importante foi efetuada após anestesia geral semelhante à descrita acima. Os animais foram eutanasiados após a retirada da peça com de injeção endovenosa de 20ml de Cloreto de Potássio (KCL) a 10 % e aumento da concentração de Isoflurano (Isoforine[®], Cristália) para 5% durante 5 minutos. Após o óbito, os animais foram colocados em saco plástico branco e freezer para descarte de material biológico e incinerados em local apropriado por empresa terceirizada pela FMUSP.

3.6 PROCEDIMENTO CIRÚRGICO

Todos os procedimentos foram realizados com técnica antisséptica, sendo todo o instrumental cirúrgico utilizado separado e esterilizado previamente. Os animais foram colocados na mesa cirúrgica em posição supina, com os membros inferiores levemente tracionados posteriormente e em discreta abdução com auxílio de equipamentos amarrados aos mesmos, protegidos com faixas, e às laterais da mesa, permitindo boa exposição perineal (Figura 5). Posteriormente, foram submetidos à antisepsia da região abdominoperineal e cobertos com campos cirúrgicos estéreis.

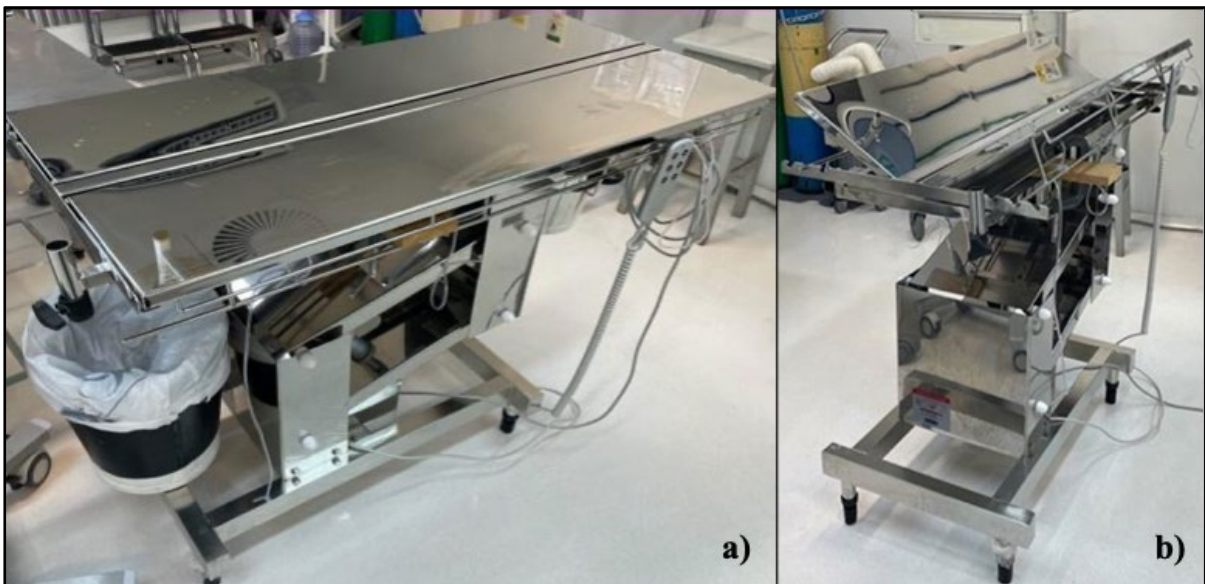
Utilizamos mesa cirúrgica eletrônica específica para esses animais, o que possibilitou estabilizar a posição, regular a altura e inclinação da mesa, melhorando a exposição do campo e o posicionamento para os cirurgias (Figura 6).

Figura 5 – Suíno na posição supina em mesa cirúrgica própria para quadrúpede, com membros inferiores amarrados e fixados na lateral da mesa simulando posição de litotomia para melhor exposição perineal



Fonte: Produção da autora (2023)

Figura 6 – Mesa cirúrgica do LIM 37, específica para procedimentos em quadrúpedes de médio porte: a) mesa aberta, para colocação do animal em decúbito lateral; b) mesa com laterais erguidas para estabilização do animal em decúbito dorsal



Fonte: Produção da autora (2023)

As equipes foram compostas por seis membros conforme planejado no estudo-piloto, incluindo os dois cirurgiões principais, uma instrumentadora e três auxiliares, dois para o tempo abdominal e um para o tempo perineal, com abordagem quase simultânea. As anastomoses vasculares foram todas executadas pelo cirurgião de transplante com uso de lupa com magnificação de 3,5 vezes (campo estendido). A técnica cirúrgica padronizada foi a descrita previamente pelo orientador,¹⁵⁸ adaptada durante o estudo-piloto.

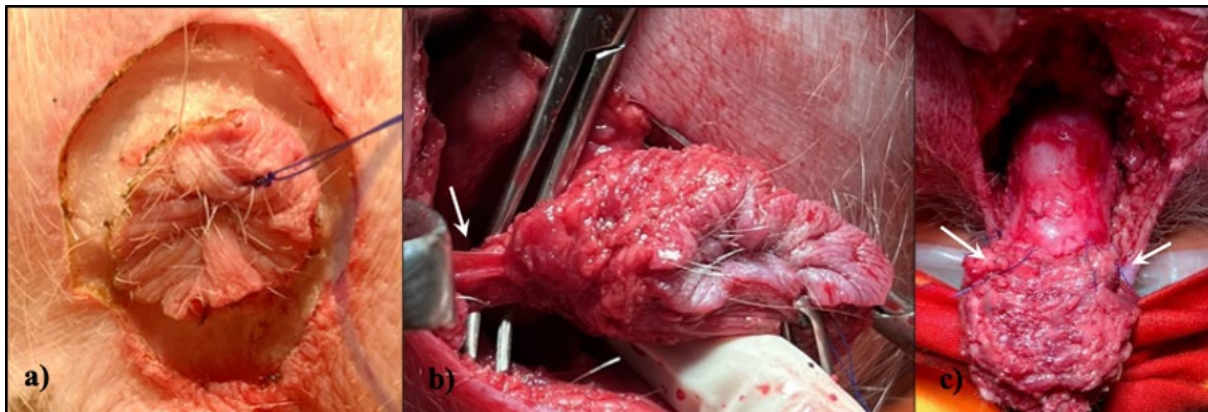
O acesso à cavidade foi por meio de laparotomia mediana ampla partindo da sínfise púbica, seguida por cistostomia e exteriorização da sonda vesical por contra abertura. A cistostomia foi realizada devido à impossibilidade de se cateterizar a uretra do suíno (uretra fina em pênis localizado no subcutâneo da parede abdominal) para monitorização da diurese no intraoperatório. Ela serviu também, para melhorar a apresentação do campo cirúrgico ao suspender e manter a bexiga (que fica solta na pelve do suíno) rente à parede abdominal. O afastamento da parede abdominal com um afastador autoestático e cuidadoso afastamento das alças intestinais com auxílio de compressas e afastadores maleáveis associado à posição de *Trendelenburg* proporcionaram boa exposição da retrocavidade abdominal e da pelve.

Com uma leve tração do segmento colorretal e abertura do peritônio posterior, foi iniciada dissecação do mesentério no sentido caudal desde o ponto proximal de fixação, com liberação do reto das estruturas do retroperitônio (ureteres, grandes vasos, vasos gonadais e linfáticos) e das aderências peritoneais, seguida da liberação circunferencial das estruturas pélvicas do reto distal. Em seguida, a equipe se dividiu para realização simultânea do tempo perineal e finalização da dissecação dos pedículos vasculares.

No tempo perineal, foi realizada uma sutura em bolsa ocluindo o orifício anal com fio de Polipropileno 3-0 (Prolene[®] 3-0, Ethicon – Brasil), seguida de incisão circular na pele circundando o esfíncter e dissecação circunferencial do canal anal e reto extraperitoneal no sentido cranial envolvendo todo o aparelho esfíncteriano. Os feixes vasculares e nervosos do pudendo, quando identificados nos pontos em que incidem no EA (às 2 e 10 horas) foram isolados e seccionados entre ligaduras de polipropileno 5-0 (Prolene[®], Ethicon – Brasil). A seguir, foram seccionadas as paredes laterais do músculo elevador do ânus incluindo o máximo de fibras musculares, realizada liberação da parede posterior do canal anal da cauda e vasos caudais e do reto distal da face anterior dos músculos coccígeos, acessando a cavidade pélvica via posterior com secção do peritônio pélvico. Por fim, foi realizada a dissecação anterior com liberação cuidadosa para evitar lesão da base do pênis (bulbocavernoso e músculos retratores do pênis), do músculo bulboglandular (com a glândula bulbouretral), da uretra, da próstata e dos ductos deferentes (Figura 7).

Enquanto parte da equipe realizava a abordagem perineal, outra prosseguia a dissecação abdominal com isolamento da Ao e VCI infrarrenal. Uma vez totalmente liberado, o segmento anorretal distal foi tracionado pela equipe no campo abdominal e posicionado cuidadosamente sobre o púbis (Figura 8). A AMI teve sua dissecação concluída em sua origem na aorta e a VMI proximalmente, até um calibre satisfatório para anastomose (Figura 9).

Figura 7 - Tempo cirúrgico perineal: a) orifício anal ocluído por sutura em bolsa e incisão circular em torno do ânus com abertura da derme; b) isolamento do feixe pudendo (seta); c) segmento anorretal liberado, com visão da parede anterior do esfíncter e reto, cavidade abdominal acessada através do músculo elevador do ânus e feixes do pudendo reparados com fio de polipropileno 5-0 (setas)



Fonte: Produção da autora (2023)

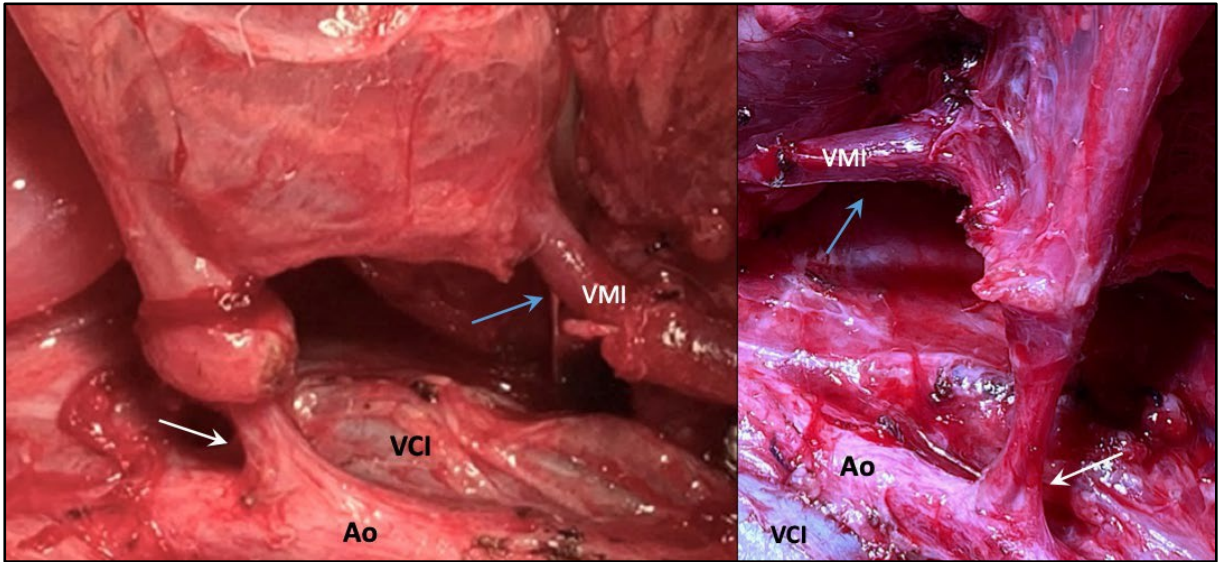
Figura 8 - Segmento anorretal liberado, fixo apenas pela artéria (seta amarela)



Fonte: Produção da autora (2023)

Nota: Ao = aorta; VCI = veia cava inferior; VMI = veia mesentérica inferior; AMI = artéria mesentérica inferior.

Figura 9 – Dissecção vascular em dois ângulos: origem da artéria mesentérica inferior (seta branca) e veia mesentérica inferior dissecada ao longo do mesocólon (seta azul)



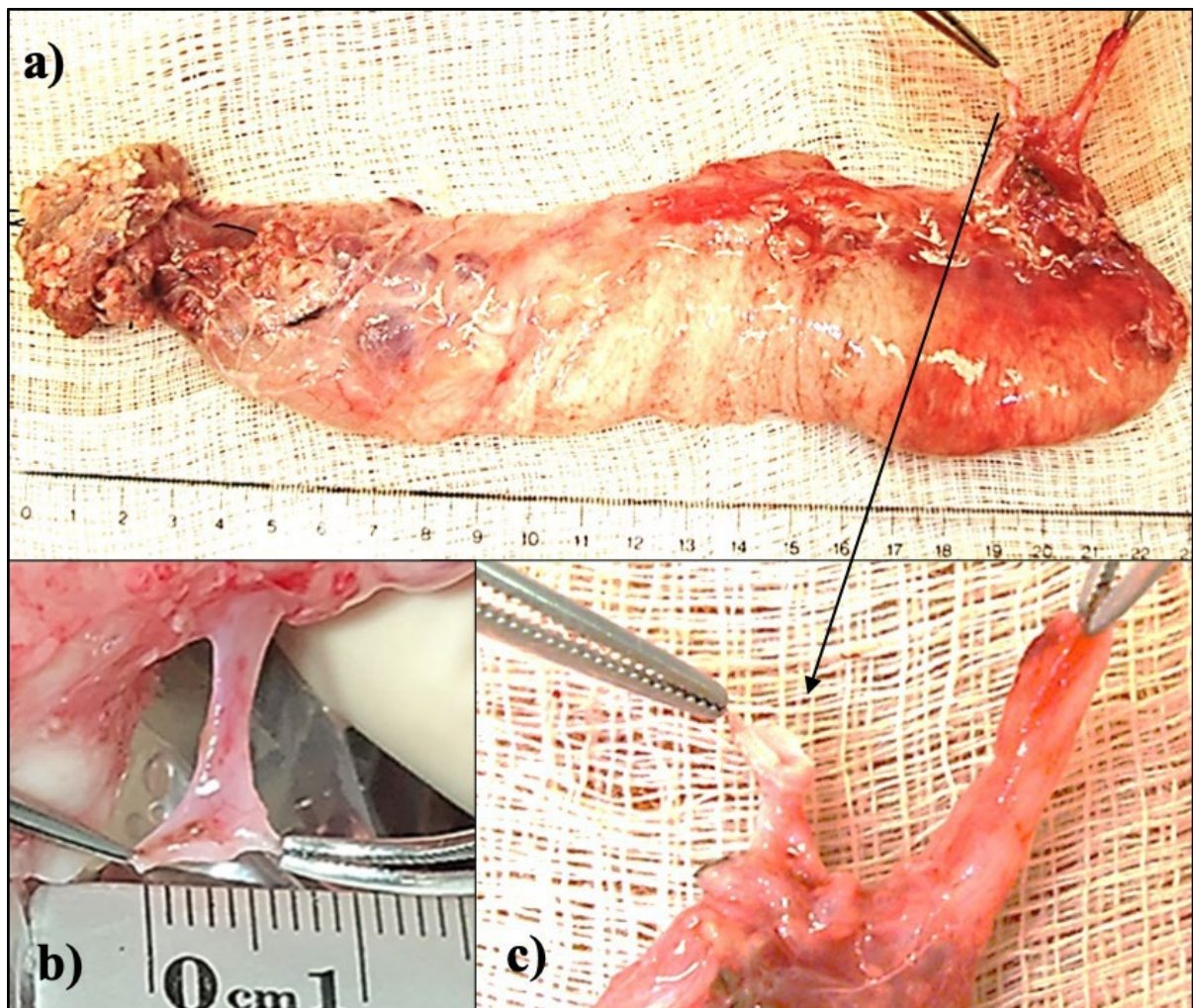
Fonte: Produção da autora (2023)

Nota: Ao = aorta; VCI = veia cava inferior; VMI = veia mesentérica inferior.

Com o segmento anorretal liberado, pedículos vasculares dissecados e grandes vasos isolados, o reto proximal foi seccionado entre ligaduras com fita cardíaca. Neste momento, realizou-se a infusão de Heparina Sódica na dose de 200 UI/kg (Hemofol[®] 5.000 UI/mL 5ml, Cristália) e em seguida, a Ao foi parcialmente clampeada com uma pinça *Satinsky* na emergência da AMI, sendo sua parede anterior seccionada em continuidade com a artéria mesentérica, formando um *patch* vascular. Na sequência, a VMI foi clampeada em nível proximal e seccionada, sendo a peça removida e colocada em recipiente contendo solução de Ringer Lactato (Equiplex[®]) a 4°C. No procedimento de mesa, a AMI foi imediatamente cateterizada, dando início à perfusão com solução de preservação contendo 5000 UI de heparina (Hemofol[®] 5.000 UI/ml 5 ml, Cristália) por 1000 ml de Ringer Lactato até total substituição do sangue pela solução (Figura 10).

Após o procedimento de mesa, o enxerto foi reposicionado ortotopicamente e foram realizadas anastomoses vasculares: término-lateral entre o path arterial e parede anterior da aorta com sutura contínua de Polipropileno 7-0 (Prolene[®], Ethicon – Brasil) e término-lateral entre a VMI e VCI com sutura contínua de Polipropileno 8-0 (Prolene[®], Ethicon – Brasil) e realização de fator de crescimento (Figura 11).

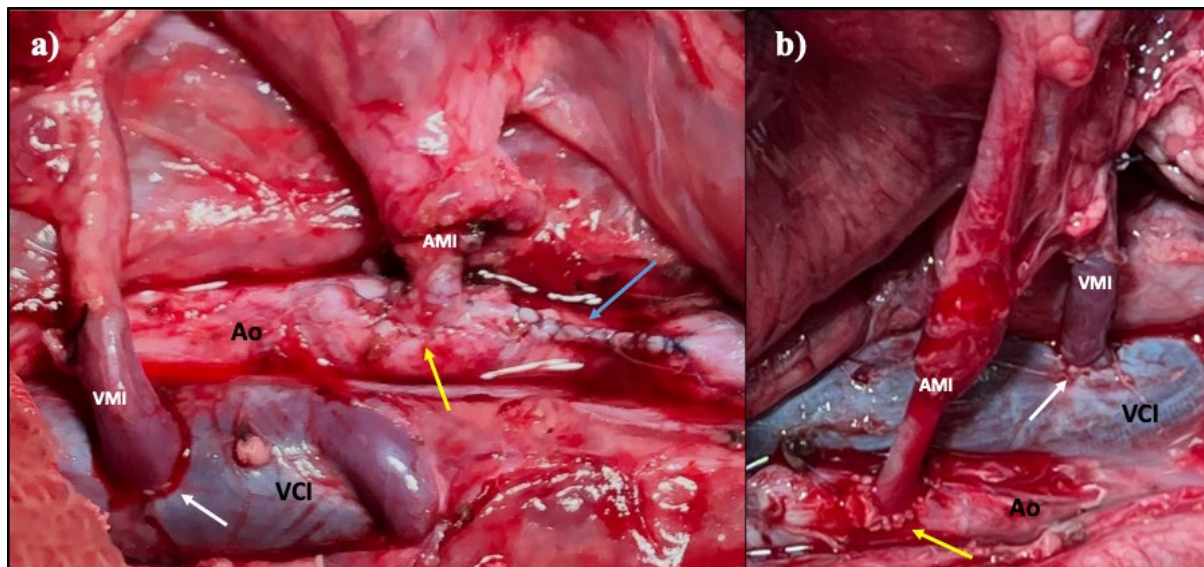
Figura 10 – a) Enxerto anorretal com pedículos vasculares sobre compressa em solução salina gelada no procedimento de bandeja; b) preparo e medição da veia mesentérica; c) zoom dos pedículos vasculares (seta para a luz arterial)



Fonte: Produção da autora (2023)

Ao término das anastomoses vasculares, foram retirados os clampes para a reperfusão do enxerto. Após revisão da hemostasia, na presença de boa pulsação do mesentério e coloração adequada do enxerto, prosseguiu-se com a anastomose colorretal em plano único, contínuo e extramucoso, com fio de poliéster polidioxanona 4-0 (PDS[®], Ethicon – Brasil) (Figura 12). O canal anal foi reposicionado na pelve, sendo aproximadas as extremidades dos feixes do NP com Polipropileno 5-0 (Prolene[®], Ethicon – Brasil), realizadas suturas com pontos separados de Polipropileno 4-0 (Prolene[®], Ethicon – Brasil) entre o reto e fibras musculares do elevador do ânus nas laterais e entre o reto com a fáscia sacrococcígea posteriormente, sutura com pontos separados em “U” de Polipropileno 2-0 e 3-0 (Prolene[®], Ethicon – Brasil) entre o EAE e o músculo elevador do ânus e sutura do subcutâneo e pele com pontos separados de Polipropileno 3-0 ou 4-0 (Prolene[®], Ethicon – Brasil).

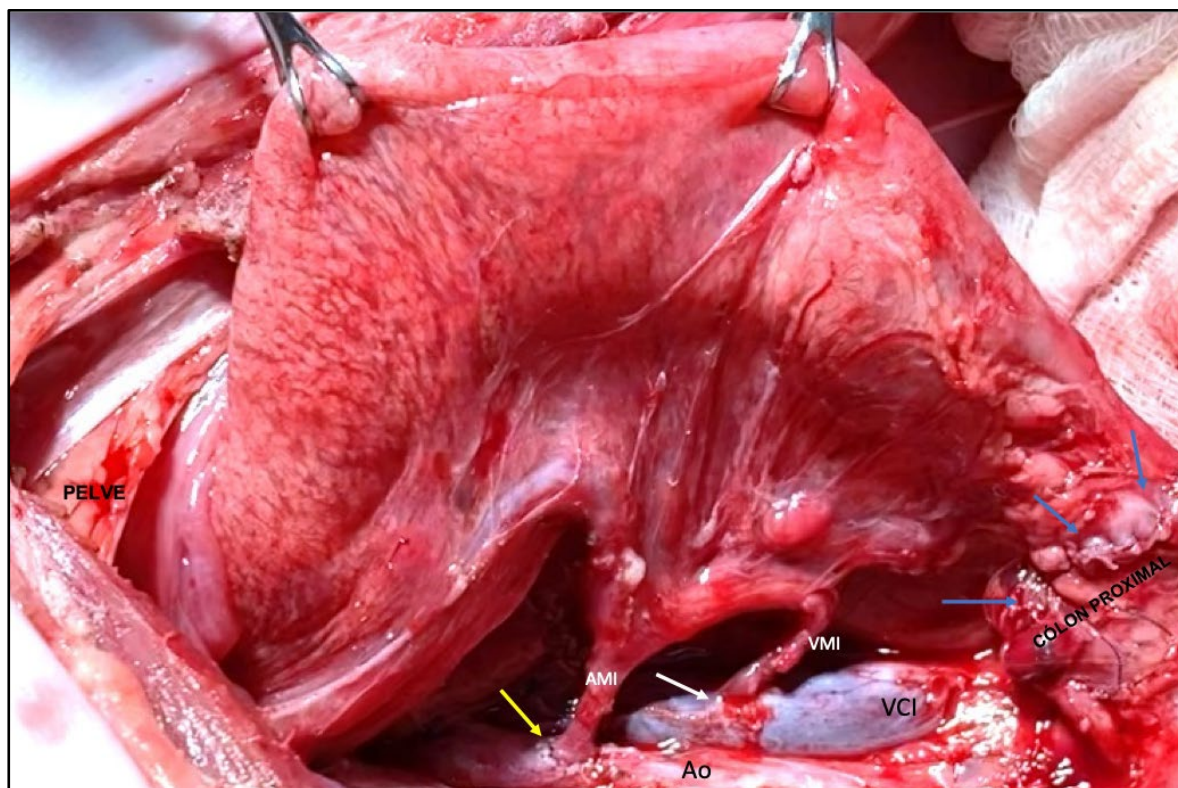
Figura 11 – Anastomoses vasculares: a) anastomose arterial término-lateral na aorta (seta amarela), anastomose venosa término-lateral da veia cava inferior (seta branca) e sutura da aorta onde foi retirado o “patch” vascular (seta azul); b) anastomose arterial no mesmo local da retirada no patch aórtico (seta amarela) sem sutura na aorta



Fonte: Produção da autora (2023)

Nota: Ao = aorta; VCI = veia cava inferior; VMI = veia mesentérica inferior; AMI = artéria mesentérica inferior.

Figura 12 - Anastomose colorretal (setas azuis), anastomose arterial (seta amarela) e venosa (seta branca) concluídas, com reto distal já posicionado na pelve



Fonte: Produção da autora (2023)

Nota: Ao = aorta; VMI = veia mesentérica inferior; AMI = artéria mesentérica inferior; VCI = veia cava inferior.

Após revisão da hemostasia, lavagem da cavidade abdominal com soro fisiológico morno e fechamento da cistostomia, foi realizado o fechamento da parede abdominal em dois planos contínuos interrompidos com fio de poliglactina 1-0 (Vicryl™ Ethicon – Brasil) na aponeurose e camada muscular e com fio de nylon 2-0 (Mononylon Ethilon®, Ethicon – Brasil) na pele.

Ao longo do procedimento, foram registrados os tempos cirúrgicos parciais, tempo de isquemia fria e quente, tempo total, dimensões dos vasos mesentéricos, comprimento do enxerto e do EA, intercorrências intraoperatórias, presença de pulso após reperusão, aspecto final do enxerto e coloração final do ânus.

3.7 SEGUIMENTO PO

Ao término do procedimento, foram coletados novo hemograma e gasometria arterial. Os animais que sofreram intercorrência grave no intraoperatório, clinicamente instáveis e com sinais evidentes de isquemia do enxerto nos primeiros 60 minutos após a cirurgia, foram eutanasiados ainda na sala cirúrgica. Os que se mantiveram clinicamente estáveis e com o enxerto considerado viável (de acordo com a classificação do grau de isquemia ou lesão anal isquêmica determinada e descrita abaixo) foram extubados e transportados ao Biotério Central pelo anestesista veterinário, sendo colocados nas respectivas baias higienizadas e isoladas.

No biotério, foram mantidos sobre constantes cuidados de um único funcionário, com disponibilidade de água à vontade e ofertada dieta de acordo com a evolução: no 1º PO, apenas água e, do 2º ao 3º PO, dieta pastosa industrializada em seringa (Papinha Naturenes® diversos sabores, Nestlé), evoluindo para ração padronizada para espécie (Ração Ricos Suíno Engorda®, Rico Nutrição Animal), até o máximo de 2,0 kg por dia, à medida que demonstrassem boa aceitação. Foram programadas aplicações diárias de Dipirona 50mg/kg (Dipirona injetável uso veterinário, Ibasá®,) e 100 mg de Cloridrato de Tramadol (Tramal injetável® 100mg/2 ml, Grunethal) nos primeiros três dias de PO para analgesia, sendo o intervalo diminuído de acordo com a evolução e orientação do veterinário. Ceftriaxona 1g/dia (Rocefin IV®, Roche Químicos e Farmacêuticos S.A.) passou a ser aplicada até o 2º PO assim como a Heparina Sódica (Hemofol® 5.000 UI/ml 5ml, Cristália) na dose de 200 UI/kg/dia via IM ou EV.

Os porcos foram submetidos à avaliação clínica diária para observação do comportamento, deambulação, aceitação de dieta, diurese, hábito intestinal, aspecto das fezes, aspecto da parede e incisão abdominal, e, principalmente, do aspecto macroscópico do ânus. Determinamos o grau de isquemia anal a partir da coloração da anoderme, do tônus anal à

inspeção, da presença de edema e de necrose anal (Tabela 1), especialmente no período crítico entre o pós-operatório imediato (POI) e o 4º dia PO: grau 0- normal (sem cianose, sem edema e com tônus aparente); grau 1-isquemia leve (cianose leve, hipotonia ou edema); grau 2 – isquemia moderada (cianose moderada ou cianose leve com hipotonia ou edema) e grau 3 - isquemia grave (cianose intensa com hipotonia e/ou necrose).

Tabela 1- Classificação de lesão anal isquêmica aguda (Graus 0 a 3)

CIAANOSE/EDEMA ausente (0); leve (1); mod. (2); intensa (3)	HIPOTONIA ausente (0); presente (1)	NECROSE ausente (0); presente (4)	ESCORE	LESÃO ANAL ISQUÊMICA
0	0	0	0	GRAU 0 (Ausente)
0	1	0	1	GRAU 1 (Leve)
1	0	0		
1	1	0	2	GRAU 2 (Moderado)
2	0	0		
2	1	0	3	GRAU 2 (Moderado)
3	0	0		
3	1	0	≥ 4	GRAU 3 (Grave)
0-3	0-1	4		

Fonte: Produção da autora (2023)

Os suínos com aspecto anal macroscópico sugestivo de lesão isquêmica grave ou que evoluíram com necrose anal, deterioração clínica e/ou perda de peso maior que 25% do peso inicial foram sacrificados. Os que se mantiveram hemodinamicamente estáveis e sem sinais de isquemia anal ou que apresentaram isquemia leve a moderada transitória com boa evolução clínica foram seguidos até o 30º dia PO, quando submetidos à eutanásia conforme descrito anteriormente e autópsia, com verificação do sítio operatório e posterior retirada do enxerto para análise histológica.

3.8 AVALIAÇÃO FUNCIONAL DO ENXERTO

3.8.1 Avaliação clínica

A avaliação clínica funcional foi realizada, principalmente, a partir da avaliação do tônus anal por inspeção e sua documentação fotográfica, especialmente a partir do 5º dia PO, quando observada regressão do edema secundário à lesão de isquemia e reperfusão. Além do

tônus anal, alguns aspectos da evacuação dos suínos foram documentados ao longo do seguimento para serem comparados ao padrão observado no período de avaliação pré-operatória, como: volume das fezes (0- normal, 1- aumentado), consistência fecal (0- normal, 1- pastosa, 2- diarreica), distribuição das fezes na baia (0- um terço da baia, 1- dois terços, 2- toda a baia) e extravasamento de fezes pelo orifício anal (0- ausente, 1- pouco, 2- abundante). Para melhor avaliar os aspectos da evacuação, os animais foram alimentados apenas uma vez ao dia e sempre com a mesma quantidade de ração (2,0 kg) após aceitação plena de dieta sólida.

3.8.2 Avaliação manométrica

A avaliação manométrica foi realizada por meio de equipamento específico (Dynamed[®]: sistema de infusão DUAL[®], São Paulo, SP) e um cateter de oito canais com infusão contínua de água sob pressão calibrada a 1,0 milibar, com captação de forma contínua e concomitante das pressões anais transmitidas nos oito canais. Esse sistema foi conectado a um computador com *software* específico (Proctomaster[®] versão 6.3) que registrou e armazenou as curvas de pressão do canal anal em milímetros de mercúrio (mmHg).

As manometrias foram realizadas no pré-operatório, no POI e no 30º dia PO. Os suínos foram sedados com Midazolam e Ketamina IM, conforme descrito acima e na dose orientada pela literatura.¹⁶⁶ Os cateteres foram introduzidos no canal anal após a calibragem desse com os animais sedados e mantidos em decúbito lateral na mesa operatória. Após identificada a área de maior pressão (entre 1,0-1,5 cm da margem anal), mantivemos o cateter estático, procurando evitar ao máximo interferência na medição, sempre com o cuidado de manter o direcionamento uniforme dos canais radiais de medida de pressão em todos os exames. As pressões foram capturadas no sistema de forma contínua durante 10 minutos, definindo as curvas da pressão de repouso nesse período.

3.9 AVALIAÇÃO HISTOPATOLÓGICA

Após sacrifício dos animais e retirada da peça, essas foram colocadas em solução de Formol a 10% para fixação. Posteriormente, foram realizados cortes da transição do segmento anorretal, porção média do reto e da anastomose colorretal. Estes foram embebidos em parafina para confecção de lâminas coradas por hematoxilina-eosina.

Durante a análise histológica, foram avaliados: 1- presença de edema, 2- presença de infiltrado celular inflamatório, 3- atrofia muscular esfinteriana e 4- presença de tecido

conjuntivo (cicatriz), além da presença de sinais de necrose e hemorragia. Os parâmetros foram graduados em ausente (0), leve (1), moderado (2) e intenso (3). O patologista avaliou as lâminas sem saber o desfecho clínico dos suínos transplantados. Os achados foram comparados aos achados histológicos do segmento anorretal retirado de um suíno controle normal.

3.10 COLETA E ANÁLISE DOS DADOS

Todos os dados relevantes do experimento foram anotados em fichas específicas (Anexo D), arquivados em banco de dados e formatados em planilha *Excel*. A estatística descritiva foi realizada com o auxílio do programa Jamovi versão 2.3.21.0. Com o mesmo programa, foram realizados testes estatísticos específicos: 1- teste de Mann-Whitney, para comparação dos tempos operatórios entre os grupos de suínos separados de acordo com o tempo do estudo (primeiro grupo e segundo grupo); 2- testes de Kolmogorov-Smirnov e Shapiro-Wilk, para avaliar se as variáveis quantitativas analisadas tiveram distribuição normal, especialmente a pressão anal de repouso aferida no pré-operatório e 3- teste de Wilcoxon, para avaliar a diferença entre a pressão anal de repouso aferida no pré-operatório e a aferida no pós-operatório nos suínos que sobreviveram ao período determinado. Valores de $p < 0,05$ foram considerados estatisticamente significativos para todas as análises.

As variáveis descritas e analisadas foram: peso, duração total do procedimento e tempos operatórios parciais em minutos, tempo de isquemia quente e total, dimensões das estruturas vasculares (AMI, *patch* da AMI, VMI), tamanho do enxerto, extensão do esfíncter anal, presença de reperfusão imediata (pulso evidente na AMI imediatamente após liberação dos clampes vasculares), coloração anal no final da cirurgia, aspecto anal no PO, complicações relacionadas e não relacionadas ao enxerto, mortalidade e causa do óbito. Todas as complicações foram registradas.

4 RESULTADOS

4 RESULTADOS

4.1 ESTRUTURAÇÃO DO LIM 37 E COLABORAÇÃO COM O BIOTÉRIO CENTRAL DA FMUSP

Após várias reuniões com a equipe do Biotério Central da FMUSP, foi estruturado o ambiente para seguimento prolongado desses animais. Foram usadas baias de tamanhos adequados, com programa regular de higienização e oferta de dieta para a manutenção dos suínos no período pré-operatório e pós-operatório da referida pesquisa, e, assim, reforçada a parceria com os profissionais do biotério. Ter esta estrutura com o apoio técnico e veterinário do Biotério Central da FMUSP no cuidado dos animais foi de importância decisiva para a realização do projeto, e será mantida para futuras pesquisas pré-clínicas em transplante de órgãos do aparelho digestivo.

4.2 MONTAGEM DAS EQUIPES CIRÚRGICA, ANESTÉSICA E DE APOIO

Visando diminuir o tempo operatório, padronizou-se que a equipe cirúrgica a realizar os procedimentos deverá ser sempre composta por seis membros, sendo dois cirurgiões principais: um com formação em coloproctologia (a atual aluna dessa tese, Especialista pela Sociedade Brasileira de Coloproctologia) e o outro com formação em transplante de órgãos (assistente do grupo de transplante de fígado, intestino, pâncreas e multivisceral do HC-FMUSP com experiência de TAR em ratos com uso de microanastomose vascular.^{9,10}

O roteiro da cirurgia ficou assim estabelecido: a coloproctologista responsável pela dissecação e mobilização do segmento anorretal extra e intraperitoneal, dissecação e síntese do nervo pudendo, coparticipação no procedimento de bandeja (perfusão intravascular e limpeza dos tecidos indesejados do enxerto), anastomose colorretal, fixação do segmento anorretal extraperitoneal e reconstrução perineal. O cirurgião de transplante ficou responsável pela dissecação da AMI e da VMI, pelo procedimento de bandeja (perfusão intravascular e preparo dos pedículos vasculares) e pelas anastomoses dos vasos mesentéricos.

Os experimentos só foram possíveis devido à anestesia de excelência por profissionais com experiência em procedimentos de grande porte nesses animais. Padronizamos, assim, que a equipe anestésica deverá ser constituída sempre por dois médicos veterinários com formação em anestesia e com experiência prévia em anestesia do transplante hepático em suínos.

Determinamos ainda, a equipe técnica necessária do LIM 37 ao longo estudo, que constou de biólogos biomédicos, técnicos de enfermagem e funcionários da administração que foram envolvidos em todas as etapas do experimento, desde a obtenção e cuidado pré-operatório do animal até o apoio durante a cirurgia e os cuidados pós-operatórios.

4.3 PADRONIZAÇÃO NA SELEÇÃO, NO FORNECIMENTO E NO PREPARO DOS SUÍNOS

A obtenção de animais com boa qualidade de saúde para esse estudo foi difícil devido à carência em nosso meio de empresas que forneçam animais de qualidade adequada para pesquisa científica. Ao constatarmos que os suínos habitualmente usados na FMUSP apresentavam problemas de saúde que comprometeriam a pesquisa, testamos os *Minipigs* da linhagem Br1, por serem de melhor qualidade genética e sanitária, no entanto, constatamos que eles eram inadequados para o nosso experimento devido às suas peculiaridades anatômicas, conforme já descrito.

Assim, para melhoria da qualidade dos animais fornecidos, realizamos protocolo com a colaboração do fornecedor oficial da FMUSP. Este se comprometeu em selecionar os animais duas semanas antes para observação clínica, avaliação laboratorial e tratamento de eventuais doenças antes de enviá-los ao Biotério Central da FMUSP. No biotério, os animais permaneceram em quarentena por três a sete dias e somente os considerados com boa qualidade de saúde, segundo avaliação veterinária, foram utilizados na pesquisa. Também padronizamos o uso de animais de maior porte (mais desenvolvidos e pesando acima de 40 kg) visando à maior dimensão das estruturas vasculares e melhor campo operatório, além da preferência pelo sexo masculino para melhor padronização metodológica.

4.4 AMOSTRA

Dezoito suínos (S1-S18) híbridos das raças *Large White e Landrace*, adultos, do sexo masculino, pesando entre 41 e 66 kg ($51,39 \pm 8,15$) foram submetidos ao auto TAR pela técnica descrita previamente.

4.5 PROCEDIMENTO CIRÚRGICO

4.5.1 Dimensões das estruturas transplantadas

O comprimento do enxerto anorretal foi, em média, 33,8 cm ($\pm 4,4$) e do esfíncter anal, 2,4 cm ($\pm 0,3$). O diâmetro da AMI variou entre 0,8 mm e 2,0 mm ($1,1 \pm 0,4$), sendo de 1,0 mm em 50% dos casos. Em um dos casos, houve uma variação anatômica com duas artérias, uma de dois e outra de um milímetro, ambas incluídas no *patch* aortomesentérico. O diâmetro da VMI variou de 1,8 mm a 8,0 mm ($3,7 \pm 1,6$), com um caso de cada valor extremo. A medida mais frequente foi de 5,0 mm (em seis casos). A medida do *path* da aorta variou entre 4,0 e 9,0 mm em seu maior eixo ($5,7 \pm 1,5$) e 3,0 e 5,0 mm no menor eixo ($3,3 \text{ mm} \pm 0,3$), sendo de 5,0 x 3,0 mm em sete casos (Tabela 2).

Tabela 2- Dimensões das estruturas anatômicas transplantadas no auto TAR em suíno

N=18						
Dimensões anatômicas (mm)	Mín.	Máx.	Moda	Média	DP	Mediana
Comprimento do enxerto	285,0	480,0	300,0	338,0	44,0	330,0
Esfíncter anal	20,0	30,0	25,0	24,0	3,0	25,0
VMI	1,8	8,0	5,0	3,7	1,6	3,0
AMI*	0,8	2,0	1,0	1,1	0,4	1,0
Patch arterial/y	4,0	9,0	5,0	5,7	1,5	5,0
Patch arterial/x	3,0	5,0	3,0	3,3	0,7	3,0

Fonte: Produção da autora (2023)

*Mais uma variação anatômica com dois troncos mesentéricos irrigando o enxerto, de 1,0 e de 2,0 mm.

NOTA: AMI= artéria mesentérica inferior; VMI= veia mesentérica inferior; mm= milímetro; Mín.= valor menor; Máx.= valor maior; x= eixo transversal do *patch* arterial; y= eixo longitudinal do *patch* arterial; DP= desvio padrão.

4.5.2 Complicações intraoperatórias

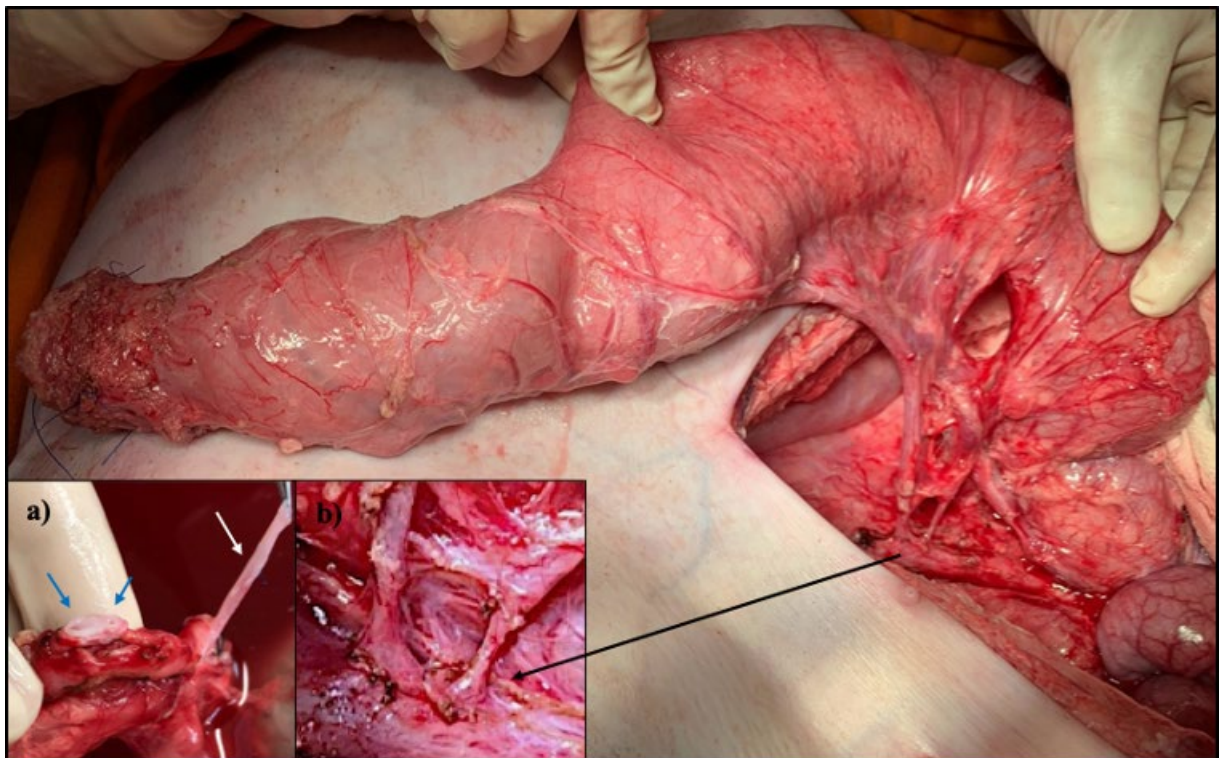
Uma ou mais intercorrências intraoperatórias ocorreram em oito (44,44%) dos 18 auto TAR realizados, sendo a maioria resolvidas durante o procedimento. Lesão da parede do reto ocorreu em três (16,67%) casos, duas (S8 e S11) na parede anterior durante a dissecação perineal

e uma (S9) na posterior. As lesões foram suturadas durante o procedimento de mesa com fio de polidioxonona número 4-0 (PDS[®], Ethicon) e não afetaram o desfecho final das cirurgias.

Sangramento foi a complicação intraoperatória mais frequente, ocorrendo em sete (38,89%) casos, sendo seis (33,3%) de origem arterial e um (5,56%) de origem venosa. Quatro casos (22,22%) foram provenientes da AMI após o desclampamento vascular durante a reperfusão, dois (11,1%) da sutura da aorta e o venoso foi proveniente da anastomose da VMI. A maioria dos casos foi controlada durante a cirurgia sem causar repercussão hemodinâmica ao animal.

Sangramento intraoperatório (IO) grave e de difícil controle ocorreu em três (16,67%) dos 18 procedimentos realizados, levando à interrupção da cirurgia e ao sacrifício do animal em dois deles (11,1%). O primeiro caso de sangramento grave (S8) foi na sutura da aorta, causando choque hipovolêmico refratário que motivou a eutanásia intraoperatória do animal. O segundo ocorreu na anastomose arterial do suíno que continha a variação anatômica descrita anteriormente (S9), duas AMI, de 1,0 e 2,0 mm de diâmetro, envolvidas no mesmo *patch* arterial. (Figura 13)

Figura 13 - Enxerto anorretal de S9 dissecado mostrando duas artérias mesentéricas: a) patch arterial contendo a luz das duas artérias (setas azuis) e veia mesentérica inferior (seta branca); b) detalhe dos dois troncos arteriais emergindo da aorta



Fonte: Produção da autora (2023)

O sangramento foi controlado após clampeamento da aorta e sutura nos pontos sangrantes da anastomose, no entanto, após segunda tentativa de reperfusão, não houve pulsação do enxerto, sendo optado em não prosseguir com o experimento. Após o sacrifício do suíno e retirada da peça, observamos trombo no tronco arterial principal.

O terceiro caso de sangramento grave (S2) também foi proveniente da anastomose arterial, no entanto, ela foi refeita e, após a segunda tentativa de reperfusão, observou-se pulsação forte no enxerto sem persistência do sangramento, sendo o procedimento finalizado. Assim, foram concluídos 16 auto TAR nos quais os enxertos apresentaram boa pulsação da AMI após reperfusão e mantiveram coloração normal até o final da cirurgia. A Tabela 3 resume a frequência das complicações intraoperatórias observadas do auto TAR em nossa série.

Tabela 3- Complicações intraoperatórias do auto TAR em suínos

AMOSTRA TOTAL	N = 18	%
1 OU MAIS COMPLICAÇÕES	8	44,4
LESÃO DO RETO	3	16,67
SANGRAMENTO	7	38,89
Aorta	2	11,11
Anastomose da AMI	4	22,22
Anastomose da VMI	1	5,56
ÓBITO	2	11,11
Choque refratário	1	5,56
Trombose da AMI	1	5,56

Fonte: Produção da autora (2023)

Nota: TAR= transplante anorretal; AMI= artéria mesentérica inferior; VMI= veia mesentérica inferior.

4.5.3 Tempos operatórios

Os casos não concluídos por sangramento e trombose foram excluídos da análise descritiva dos tempos operatórios. Nos 16 auto TAR concluídos, o tempo operatório total variou de 246 a 413 ($332,0 \pm 48,9$) minutos (min.). O tempo de dissecação do enxerto até a retirada da peça foi de 83,0 a 185,0 min. ($136,3 \pm 28,3$), sendo o tempo de dissecação anorretal perineal de 25,0 a 67,0 min. ($45,7 \pm 12,8$). A anastomose arterial durou de 12,0 a 41,0 min. ($24,4 \pm 9,2$) e a venosa de 16,0 a 53,0 min. ($30,4 \pm 9,4$). O tempo de isquemia quente foi de 49,0 a 116,0 min.

($87,5 \pm 18,5$) e de isquemia total variou de 79,0 a 151,0 min. ($121,8 \pm 18,8$) (Tabela 4). O NP foi identificado, dissecado e reaproximado em 11 casos (68,8%).

Tabela 4- Tempos operatórios do auto TAR em suíno (em minutos)

N = 16					
Tempos operatórios (min.)	Mín.	Máx.	Média	DP	Mediana
Dissecção abdominal	83,0	185,0	136,3	28,34	134,0
Dissecção anorretal	25,0	67,0	45,7	12,8	44,5
Anastomose arterial	12,0	41,0	24,4	9,24	24,5
Anastomose venosa	16,0	53,0	30,4	9,39	30,0
Anastomose colorretal	9,0	35,0	20,1	7,72	18,0
Reconstrução perineal	35,0	84,0	50,1	13,21	45,0
Tempo de isquemia quente	49,0	116,0	87,2	18,52	87,5
Tempo de isquemia total	79,0	151,0	121,8	18,53	126,0
Tempo total	246,0	413,0	332,0	48,87	330,0

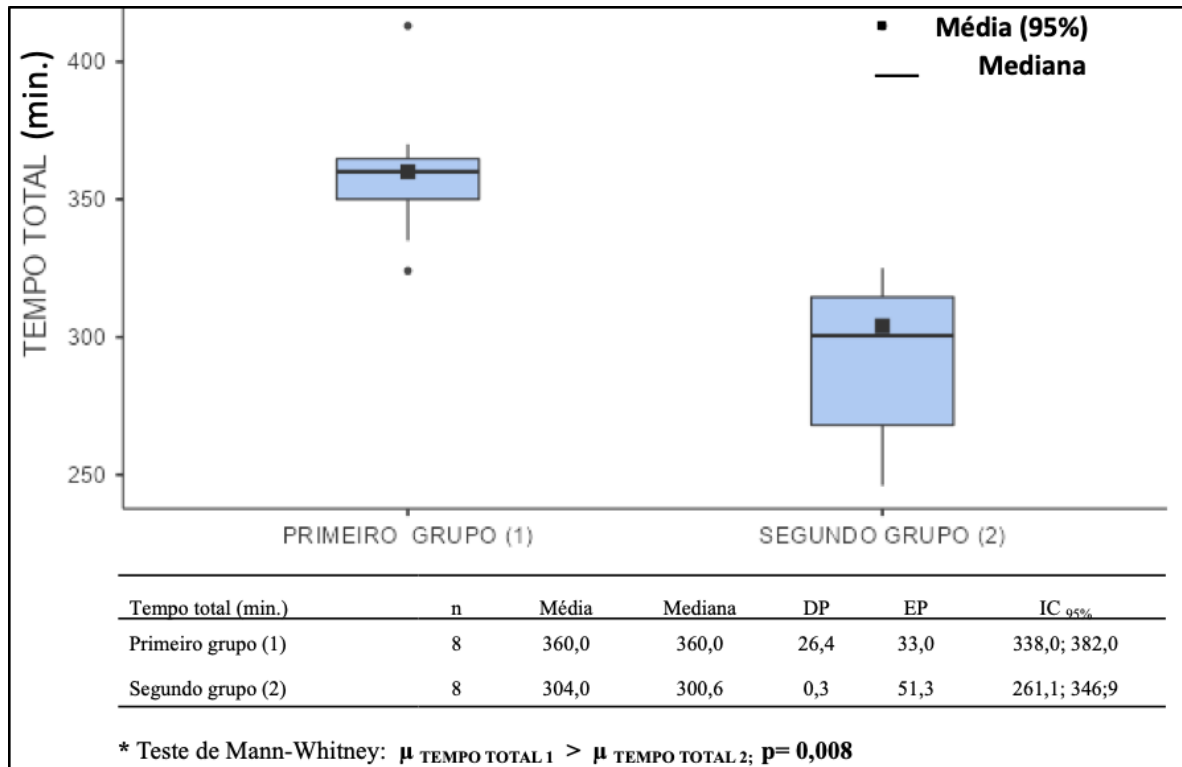
Fonte: Produção da autora (2023)

Nota: Mín.= mínimo; Máx= máximo; min. = minutos; DP= desvio padrão.

Ao separarmos os procedimentos de acordo com o período realizado, observamos que houve uma diminuição no tempo de realização de quase todas as etapas cirúrgicas nos últimos oito experimentos concluídos em relação aos primeiros oito do presente estudo, especialmente nos tempos de dissecção abdominal e de reconstrução perineal. Isso impactou na diminuição do tempo cirúrgico total e coincidiu com diminuição no tempo de isquemia quente e total.

A diminuição da média do tempo cirúrgico total de 360,0 ($\pm 26,4$) min. nos primeiros oito TAR concluídos para 304,0 ($\pm 51,3$) min. nos últimos foi estatisticamente significativa pelo teste de Man-Whitney ($p=0,008$), usado pelo “n” ser menor que dez nos dois grupos (Figura 14), porém, não houve diminuição estatisticamente significativa nos tempos de isquemia quente e total (Figura 15). A diminuição do tempo cirúrgico total ocorreu, principalmente, por diminuição nos tempos de dissecção abdominal e de reconstrução perineal, que também foram estatisticamente significativas ($p=0,002$ e $p=0,001$). No entanto, esses tempos, de fato, não interferem nos tempos de isquemia, pois são tempos durante os quais o enxerto se encontra perfundido. Não houve diferença estatística entre os demais tempos cirúrgicos dos primeiros oito TAR concluídos e dos últimos. (Tabela 5).

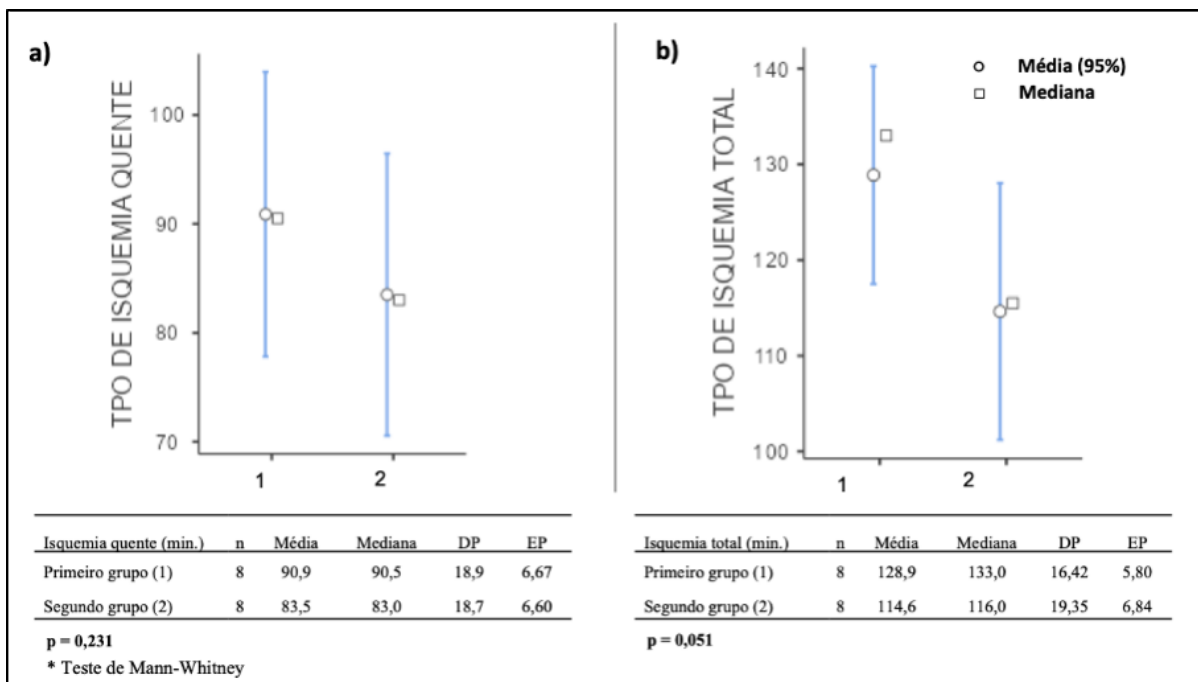
Figura 14 - Box Plot mostrando diminuição estatisticamente significativa na média do tempo cirúrgico dos últimos auto TAR realizados (2º grupo) em relação aos primeiros (1º grupo), com dados tabelados abaixo do gráfico



Fonte: Produção da autora (2023)

Nota: min. = minutos; DP= desvio padrão; EP= erro padrão; IC= intervalo de confiança.

Figura 15- Gráficos mostrando que não houve diminuição estatisticamente significativa nos tempos de isquemia quente nem de isquemia total nos últimos TAR concluídos



Fonte: Produção da autora (2023)

Nota: min.= minutos; DP= desvio padrão; EP= erro padrão.

Tabela 5- Análise comparativa dos tempos operatórios entre os primeiros TAR concluídos (1º grupo) e os últimos (2º grupo)

TEMPOS (min)	1º GRUPO (n = 8)		2º GRUPO (n = 8)		TESTE P
	Média ± DP	Mediana	Média ± DP	Mediana	
Dissecção abdominal	155 ± 20,9	164,5	117,5 ± 21,8	119,0	0,002
Dissecção anorretal	46,0 ± 10,00	44,5	45,4 ± 15,8	46,5	0,479
Backtable	30,9 ± 12,8	30,5	27,3 ± 5,6	29,0	0,264
Em solução	36,3 ± 11,7	37,0	30,5 ± 5,9	31,0	0,159
Anastomose arterial	22,9 ± 10,6	18,5	26,0 ± 8,1	26,0	0,800
Anastomose venosa	32,8 ± 11,6	33,5	28,1 ± 6,5	26,5	0,172
Anastomose colorretal	18,4 ± 6,3	17,0	21,8 ± 9,0	18,0	0,719
Reconstrução perineal	59,5 ± 12,3	60,0	40,6 ± 4,3	40,5	0,001
Isquemia quente	90,9 ± 18,9	90,5	83,5 ± 18,7	83,0	0,231
Isquemia total	128,9 ± 16,4	133,0	114,6 ± 19,4	115,5	0,051
Tempo total	360,0 ± 26,4	360,0	304,0 ± 51,3	300,6	0,008

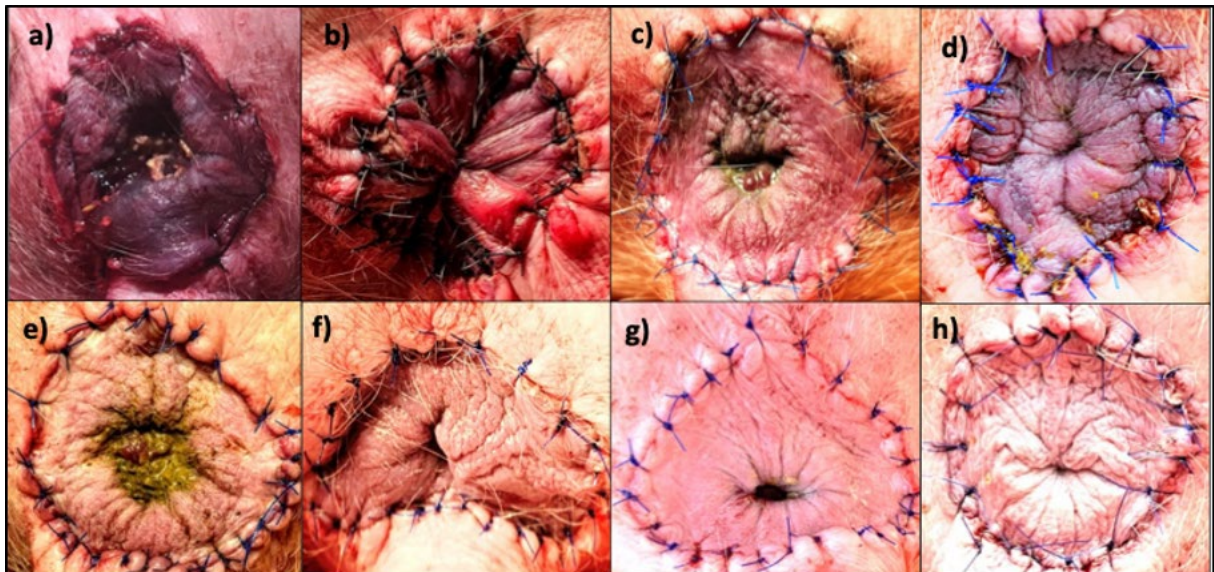
Fonte: Produção da autora (2023)

Nota: min.= minutos; DP= desvio padrão.

4.6 EVOLUÇÃO CLÍNICA

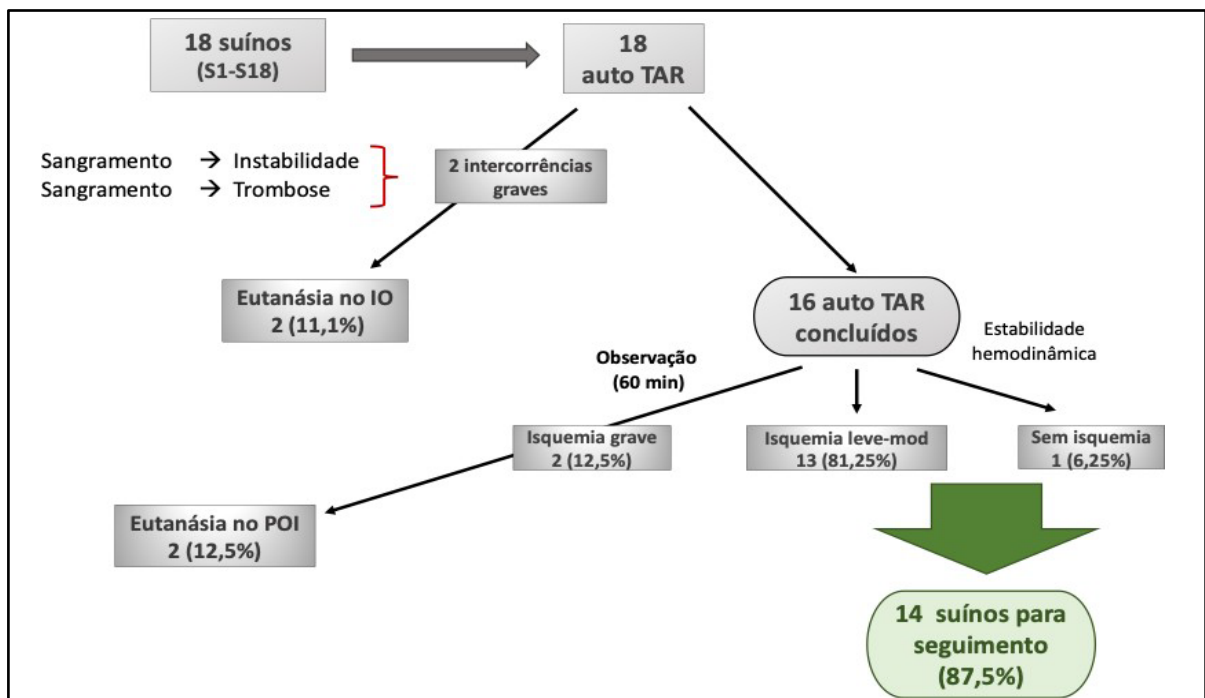
Além da estabilidade hemodinâmica, o grau de lesão anal isquêmica aguda definido pelo aspecto macroscópico do ânus nos primeiros 60 minutos de observação (Tabela 1) foi critério determinante para continuidade do seguimento dos suínos transplantados (Figura 16). Assim, dos 16 suínos que permaneceram estáveis neste período inicial, dois (S2 e S4) foram eutanasiados ainda no centro cirúrgico por evoluírem com lesão anal isquêmica grave ou grau 3 (Figura 16a). A perfusão anal foi considerada satisfatória nos demais 14 (87,5%) suínos, 13 (81,25%) com lesão anal isquêmica leve a moderada (Figuras 16b – 15g) e um (6,25%) sem lesão isquêmica aparente ou com lesão grau zero (Figura 16h). Esses suínos foram extubados e encaminhados para seguimento no Biotério Central após recuperação anestésica, como podemos visualizar no fluxograma descrito na Figura 17.

Figura 16 – Aspecto anal no POI determinando grau de lesão anal isquêmica aguda de acordo com a classificação da Tabela 1: a) cianose intensa (3) + hipotonia (1) = 4 ou lesão anal isquêmica grave (grau 3); b) cianose intensa (3) sem hipotonia (0) = 3 ou lesão anal isquêmica moderada (grau 2); c) cianose moderada (2) + hipotonia (1) = 3 ou lesão anal isquêmica moderada (grau 2); d) cianose moderada (2) sem hipotonia (0) = 2 lesão anal isquêmica moderada (grau 2); e) cianose leve (1) + hipotonia (1) = 2 lesão anal isquêmica moderada (grau 2); f) cianose leve (1) sem hipotonia (0) = 1 ou lesão anal isquêmica leve (grau 1); g) hipotonia (1) sem cianose (0) = 1 ou lesão anal isquêmica leve (grau 1); h) sem cianose (0) + ausência de hipotonia (0) = 0 ou lesão anal isquêmica ausente (grau 0)



Fonte: Produção da autora (2023)

Figura 17 – Fluxograma de seguimento dos 18 suínos submetidos ao auto TAR

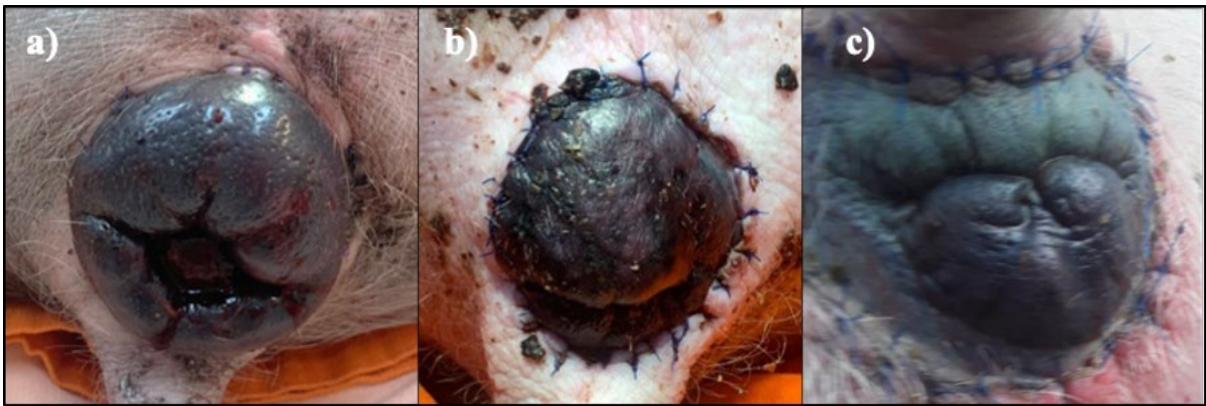


Fonte: Produção da autora (2023)

Nota: IO= intraoperatório; POI= pós-operatório imediato; S1-S18= suínos 1 a 18.

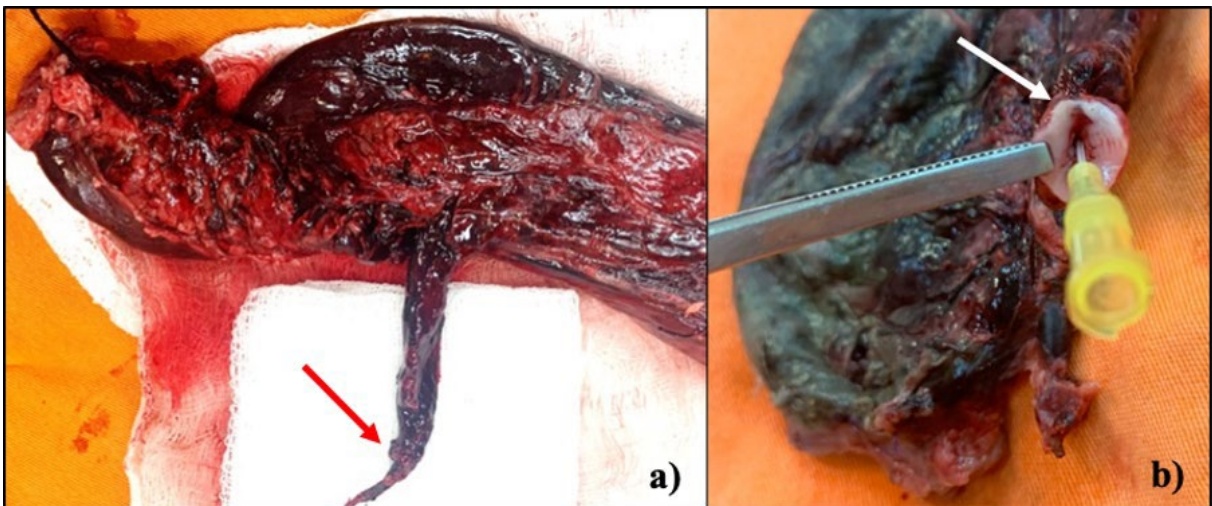
Dos 14 suínos encaminhados para seguimento no biotério com estabilidade hemodinâmica e lesão anal isquêmica ausente a moderada (grau ≤ 3), três (S11, S12, S18) evoluíram com congestão e necrose do ânus até o 2º PO, sendo sacrificados no mesmo dia (Figura 18). Eles foram submetidos à anestesia geral e autópsia durante a qual observamos congestão e necrose de todo o enxerto, ausência de deiscência livre ou bloqueada da anastomose colorretal e ausência de líquido livre na cavidade. Após a retirada da peça, foi observado trombo na VMI, estando a AMI pérvia em todos os enxertos (Figura 19).

Figura 18 – Aspecto do ânus nos três suínos sacrificados no 2º dia PO, com necrose e congestão secundária a trombose venosa: a) S11; b) S12 e c) S18



Fonte: Produção da autora (2023)

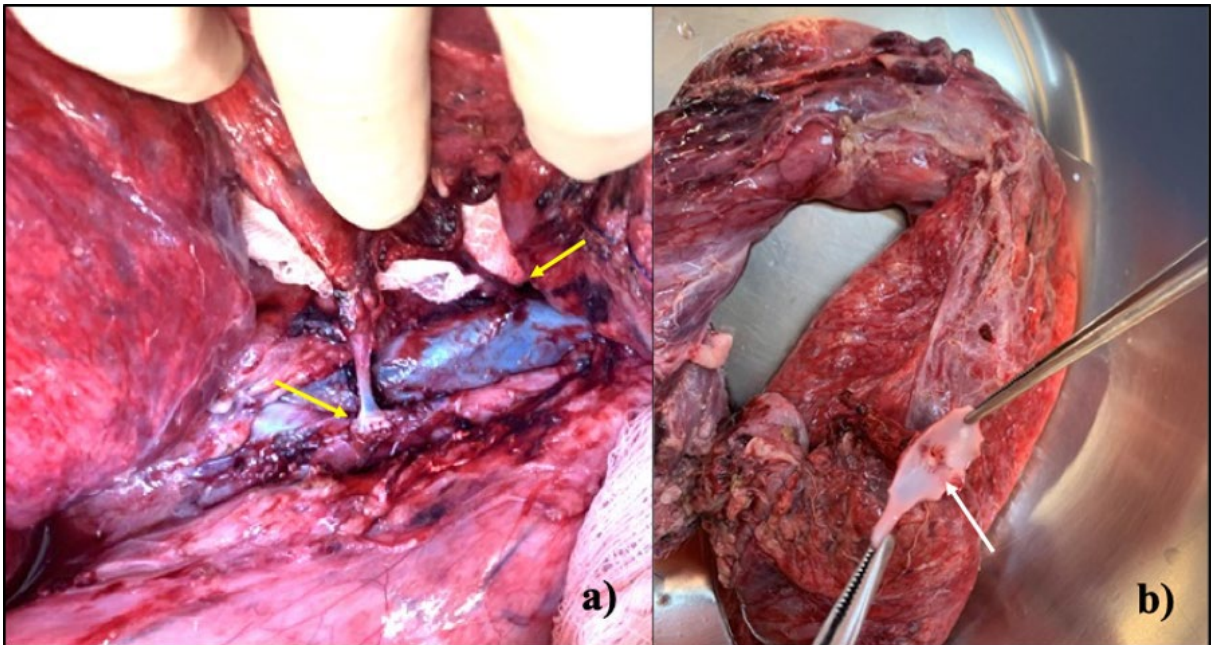
Figura 19 – Aspecto do enxerto retirado dos suínos que evoluíram com congestão e necrose no 2º dia PO, representado por S11: a) enxerto necrótico retirado mostrando o pedículo venoso mesentérico dilatado e estreitamento na área da anastomose (trombose da anastomose) indicado pela seta vermelha; b) detalhe da artéria mesentérica inferior com *patch* aórtico e óstio cateterizado, sem trombo na luz arterial



Fonte: Produção da autora (2023)

Um suíno (S15) foi a óbito espontâneo no 1º dia PO sem apresentar sinais de isquemia anal. Durante a necropsia, não observamos necrose isquêmica ou congestão venosa do enxerto e as anastomoses arterial e venosa encontravam-se pèrvias (Figura 20). Ao avaliarmos os demais órgãos e sistemas, observamos muita secreção e condensação pulmonar sendo realizadas biópsias do parênquima pulmonar para estudo histopatológico que confirmou sinais de processo inflamatório agudo (pneumonia lobar). Atribuímos, então, o óbito à sepse respiratória secundária à infecção pulmonar previamente adquirida.

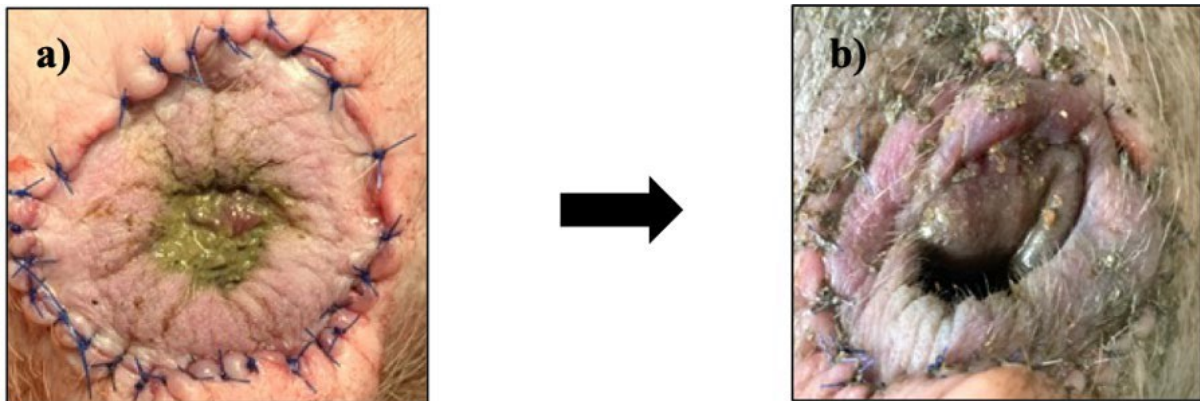
Figura 20 – Anastomoses vasculares durante a necropsia de S15 realizada no 1º dia PO: a) AMI e VMI íntegras e aparentemente sem trombo (setas amarelas); b) visão intraluminal da anastomose da AMI com a luz do vaso pèrvia (seta branca)



Fonte: Produção da autora (2023)

O suíno do 13º experimento (S13) apresentou no 1º dia PO discreto escurecimento periférico na anoderme e hipotonia com exposição e palidez da mucosa. Por estar em bom estado geral, optamos por observar sua evolução. Ele manteve-se bem, deambulando e aceitando bem dieta, porém evoluiu com necrose da mucosa (Figura 21), sendo sacrificado também no 2º dia PO. No procedimento de retirada da peça, constatamos necrose de todo segmento anorretal transplantado, com exceção da anoderme, associada à trombose da AMI, sem deiscência da anastomose ou líquido livre na cavidade.

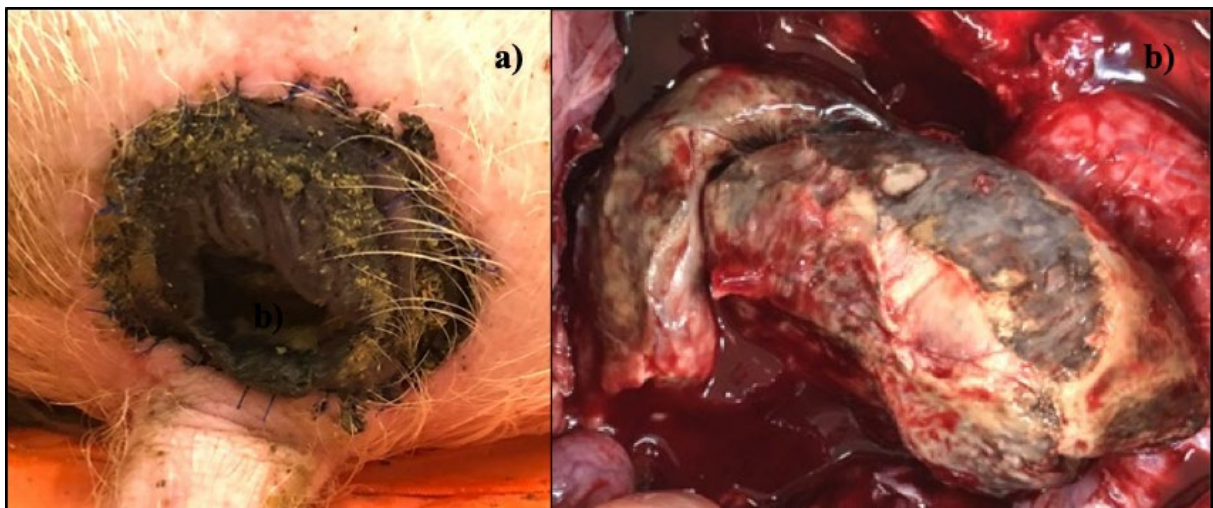
Figura 21 – Aspecto anal de S13: a) POI e b) 2º dia PO



Fonte: Produção da autora (2023)

Dos demais nove suínos, dois (S3 e S6) evoluíram com isquemia progressiva do ânus até necrose, sendo sacrificados entre o 4º e 5º PO. Apesar de evoluírem com isquemia progressiva, não apresentaram deterioração do estado clínico e mantiveram-se em regular a bom estado geral até o procedimento de autópsia. Ao inventário da cavidade, observamos necrose de todo o segmento enxertado devido à trombose da AMI, também sem deiscência livre ou bloqueada da anastomose colorretal e sem líquido livre na cavidade (Figura 22).

Figura 22 – Evolução do enxerto de S6 de lesão isquêmica moderada no POI para necrose franca no 5º PO: a) aspecto anal no 5º dia PO; b) aspecto do enxerto durante a autópsia

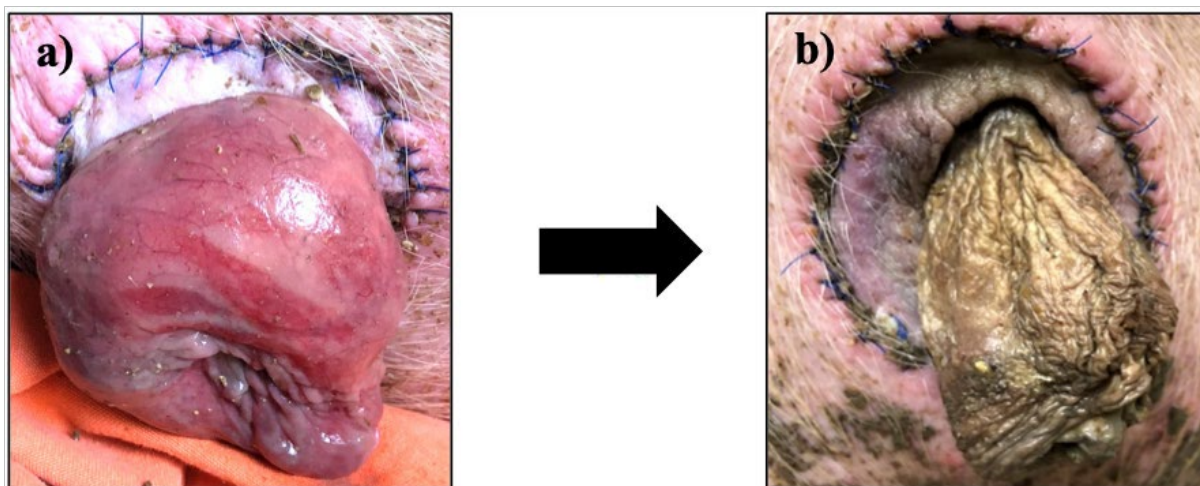


Fonte: Produção da autora (2023)

Três suínos apresentaram evolução um pouco diferente dos que evoluíram com necrose do enxerto por trombose venosa ou arterial. O sétimo suíno submetido ao auto TAR (S7), apesar de apresentar boa perfusão anal à inspeção inicial, apresentou prolapso total do reto no 2º dia PO, sendo submetido a exame sob sedação no centro cirúrgico do LIM 37, quando foi observada

viabilidade do enxerto e o prolapso reduzido. Como o animal se encontrava em bom estado geral, aceitando bem dieta e com enxerto viável, optamos em manter o seguimento, no entanto, houve recidiva do prolapso no 4º dia PO, evoluindo com necrose do reto, sendo o animal sacrificado e submetido à autópsia no 5º dia PO (Figura 23).

Figura 23 – Prolapso total do reto no experimento S7: a) 2º dia PO; b) necrose do reto e da anoderme no 5º dia PO

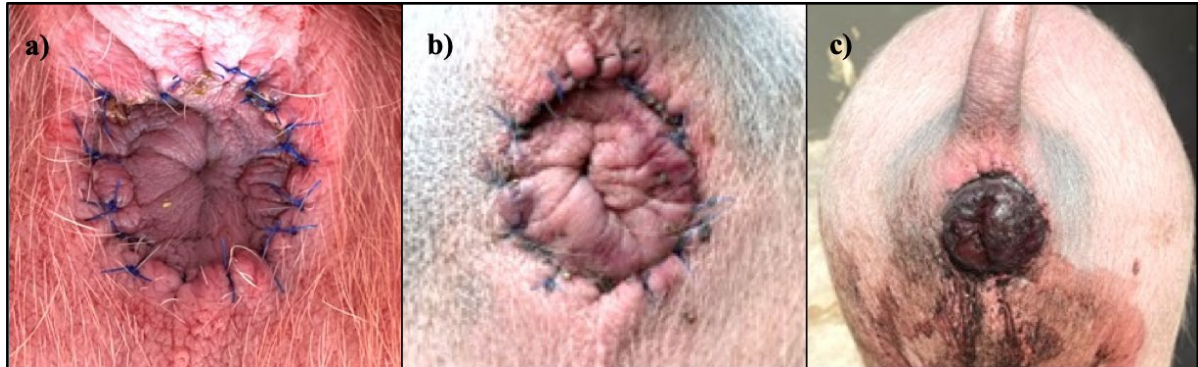


Fonte: Produção da autora (2023)

O suíno do 16º experimento (S16) evoluiu bem e com o ânus de bom aspecto do POI ao 2º dia PO, porém, no 3º dia, passou a apresentar queda do estado geral, má aceitação da dieta e congestão anal que em 24 horas evoluiu para necrose (Figura 24), sendo eutanasiado no 4º PO. Durante a necropsia, observamos líquido livre na cavidade, bexigoma volumoso e necrose com congestão venosa do enxerto. As anastomoses vasculares encontravam-se pèrvias. Foi confirmada, em análise histopatológica, trombose dos pequenos ramos venosos do mesentério.

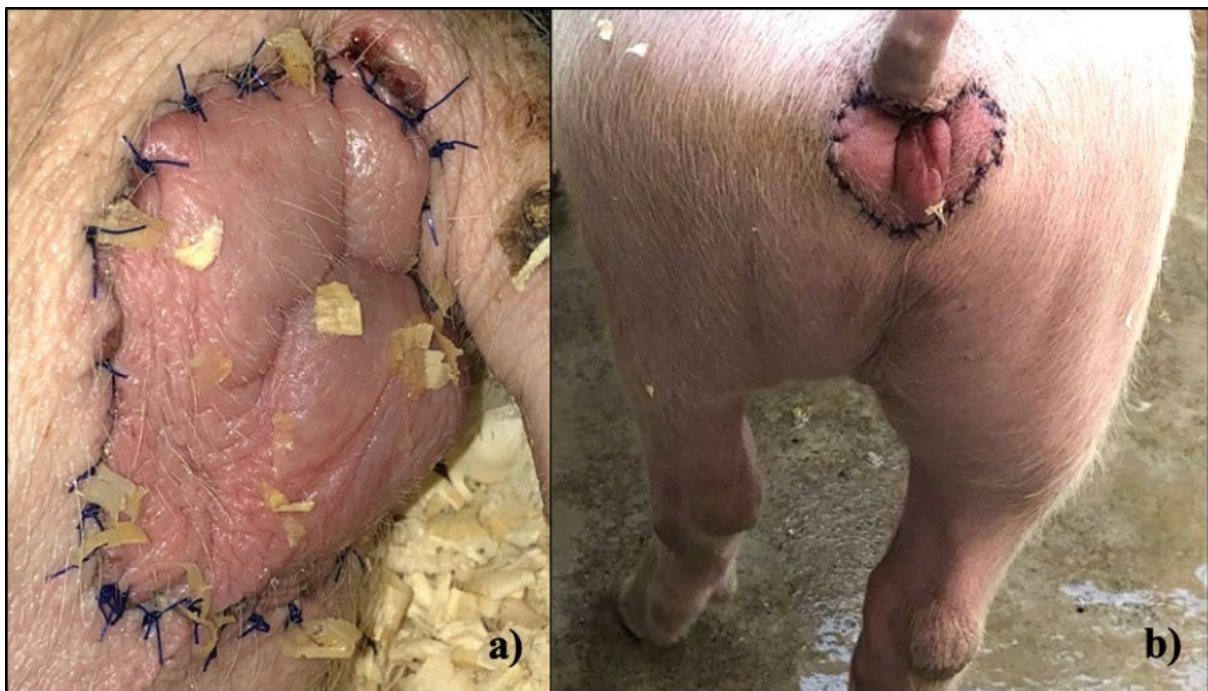
Além do experimento S15, que foi a óbito no 1º dia PO, apenas mais um suíno (S5) evoluiu com óbito não induzido ao longo do seguimento. Ele manteve o ânus com bom aspecto (lesão anal isquêmica leve ou grau 1) até o 4º PO, além de bom apetite e bom estado geral. Porém, do 3º para o 4º dia PO, começou a apresentar vômitos e evoluiu para o óbito no 5º dia PO. Durante a necropsia, observamos que o enxerto se encontrava bem perfundido, no entanto, encontramos dilatação e necrose extensa do intestino delgado associadas à torção de mesentério (quadro de obstrução intestinal e trombose mesentérica do intestino delgado por torção). A Figura 25 mostra o ânus com bom aspecto (rosa e com edema da reperusão) no 1º PO e 4º PO e a Figura 26 mostra os achados da necropsia.

Figura 24 – Evolução do aspecto anal de S16: a) lesão anal isquêmica grau 2 (cianose moderada sem hipotonia) no POI; b) lesão anal isquêmica grau 1 (cianose leve sem hipotonia) no 1º PO e c) lesão isquêmica grave (congestão e necrose) no 4º dia PO



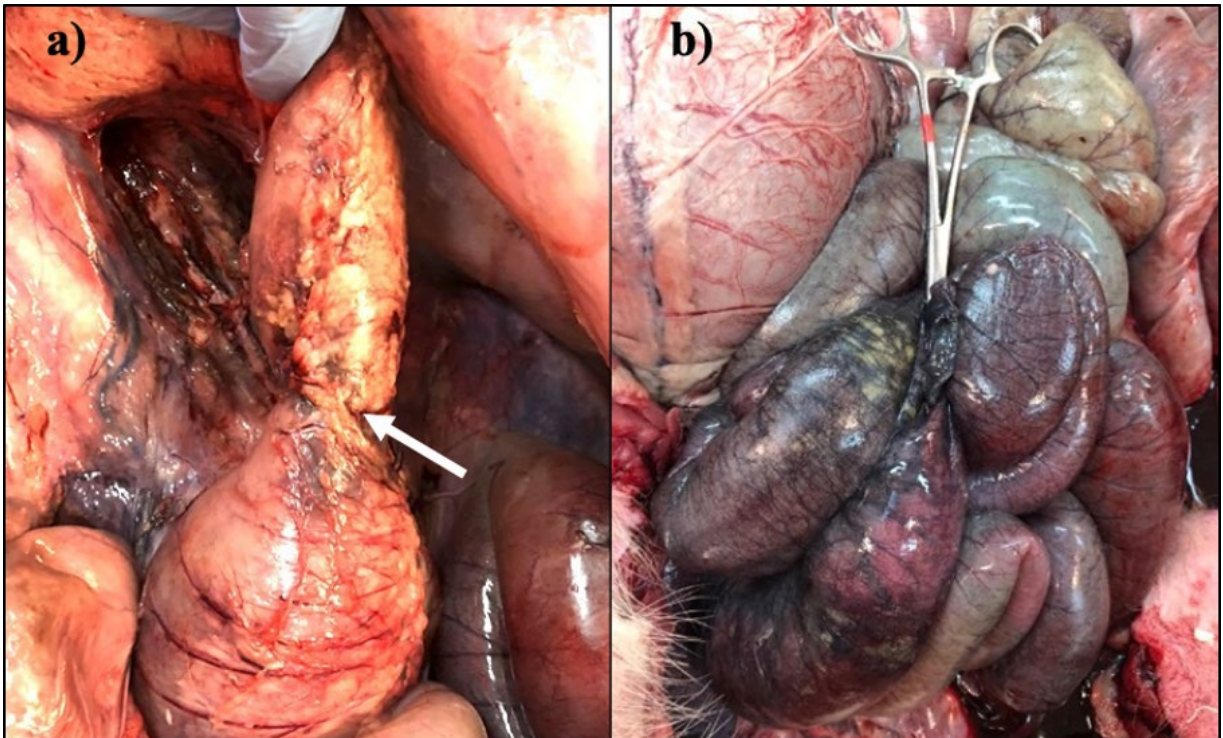
Fonte: Produção da autora (2023)

Figura 25 – Evolução do experimento S5: a) 1º dia PO com ânus bem perfundido (rosa e com edema da reperfusão); b) suíno no 4º dia PO em bom estado geral, aceitando bem dieta e mantendo bom aspecto anal



Fonte: Produção da autora (2023)

Figura 26 – Achados da autópsia do experimento S5: a) anastomose colorretal íntegra (seta) e enxerto sem sinais de isquemia; b) dilatação, isquemia e necrose do intestino delgado

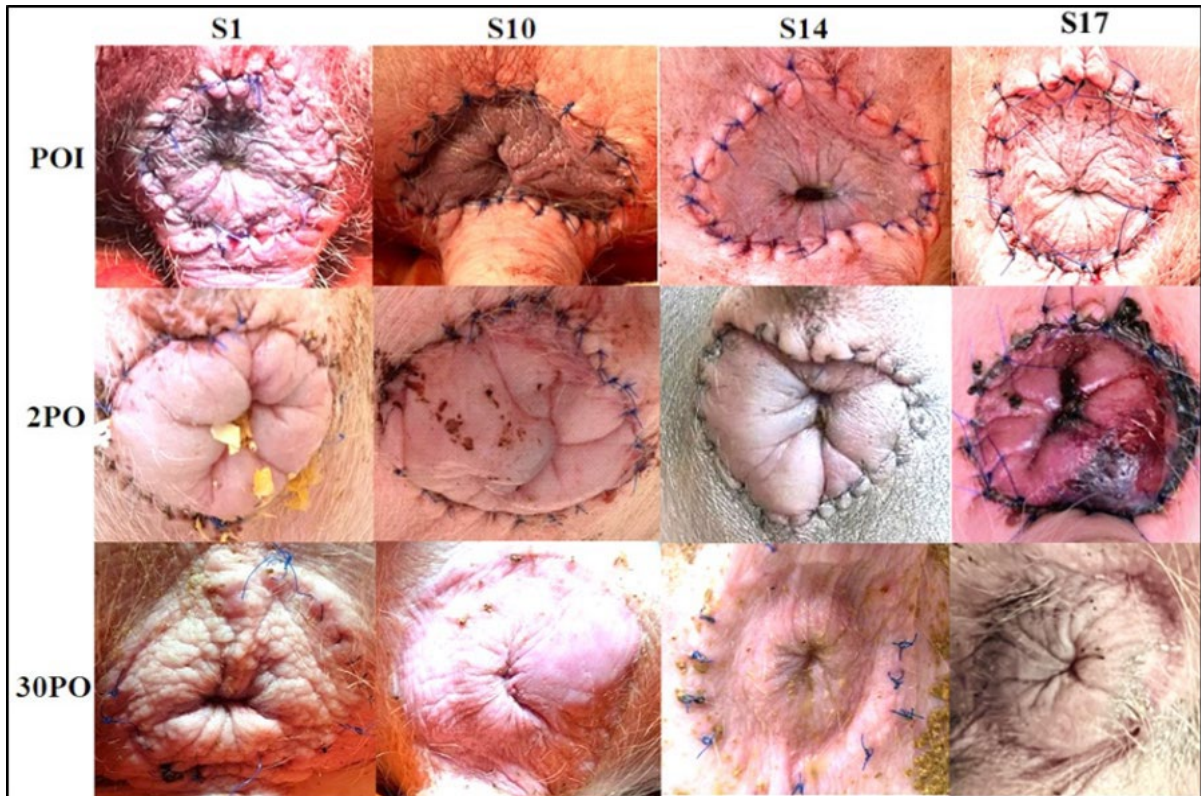


Fonte: Produção da autora (2023)

Os demais quatro suínos (S1, S10, S14 e S17), 25% dos casos de TAR concluídos, apresentaram boa evolução clínica e boa evolução dos enxertos, que se mantiveram viáveis e com bom aspecto até o fim do seguimento. Todos evoluíram de lesão anal isquêmica ausente a moderada (graus 0 a 2) no POI, para um edema da anoderme, mais intenso no 2º dia e que regrediu progressivamente até o 5º-7º PO, com posterior reintegração do enxerto (Figura 27). Os quatro evoluíram com boa recuperação clínica e rápida progressão da dieta para sólida, além de evacuações líquidas presentes a partir do 3º dia PO.

Ao longo dos 30 dias de seguimento, não houve intercorrências graves, sendo os animais mantidos nas baias apenas com ração e água. Um dos suínos (S10) apresentou berne na ferida anal e abdominal, sendo submetido à desbridamento e curativo cirúrgicos sob anestesia no LIM 37 associada a tratamento com Ivermectina 12 mg VO dose única (Ivermectan Pet 12mg[®], Ucbvet) e solução larvicida, repelente e cicatrizante tópica (Bactrovet Spray Prata[®], Konig) até total cicatrização. Durante as autópsias, observamos a reintegração total do enxerto na cavidade abdominal (Figura 28), sendo esses retirados para estudo histopatológico e, em seguida, os animais sacrificados conforme o protocolo descrito previamente.

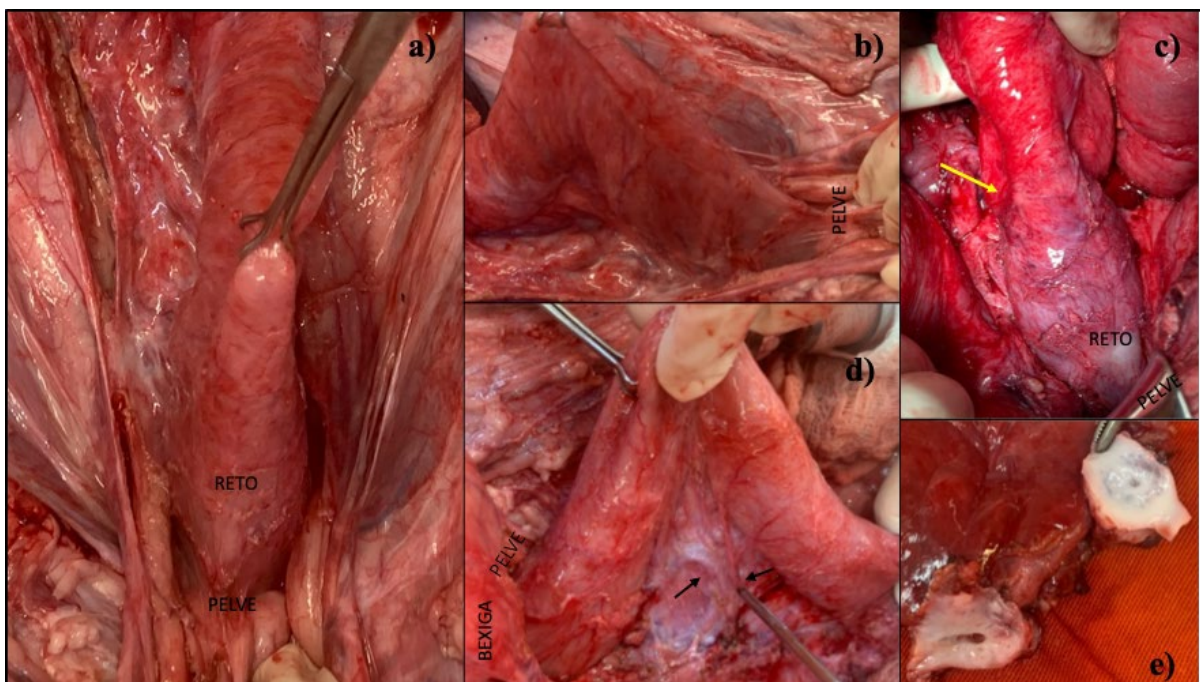
Figura 27 – Evolução do aspecto anal dos suínos que evoluíram bem (S1, S10, S14 e S17) no POI, no 2º dia PO, quando apresentam edema, e no 30º dia PO, com tônus aparente



Fonte: Produção da autora (2023)

Nota: PO= pós-operatório; POI= pós-operatório imediato.

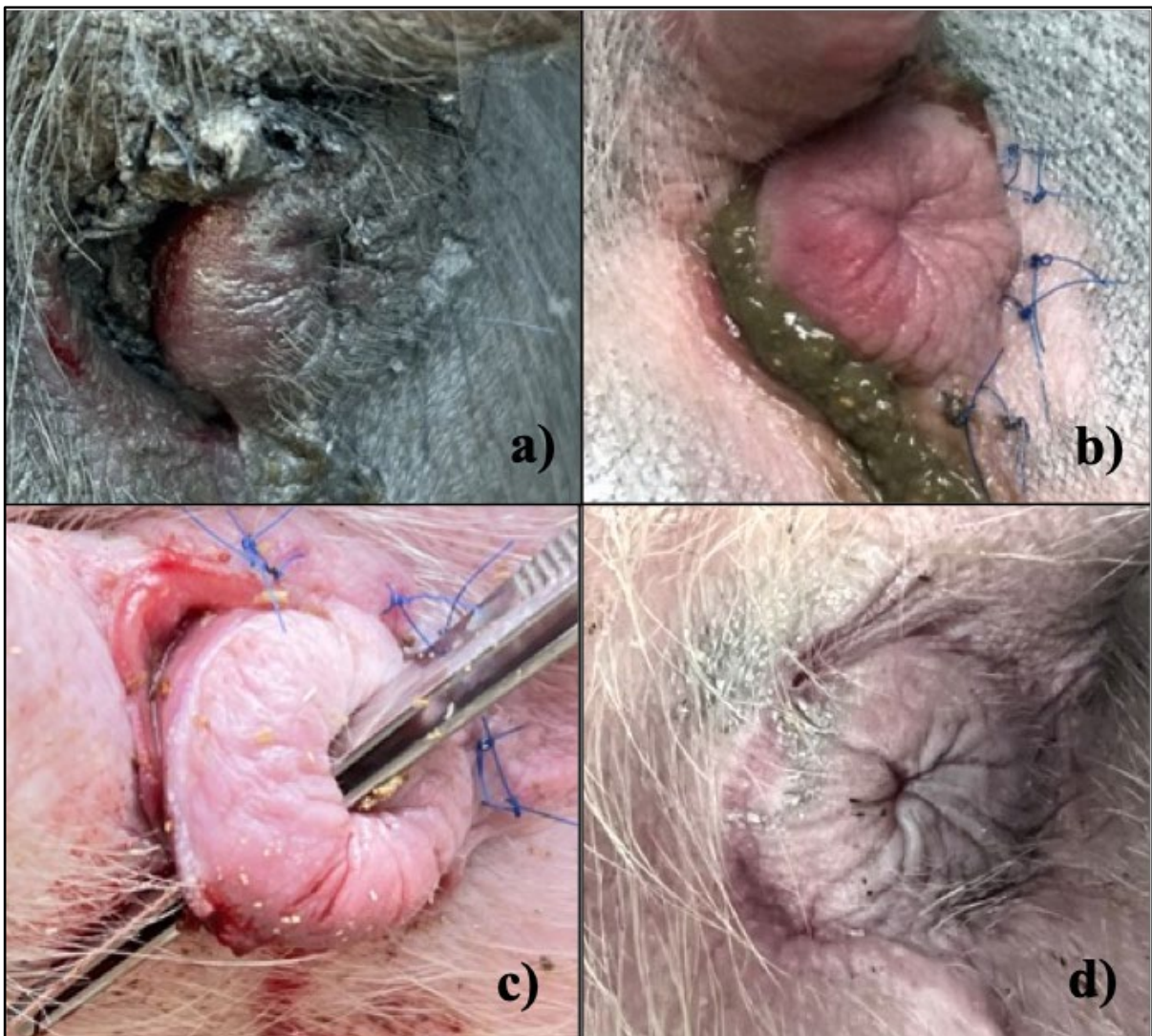
Figura 28 – Aspecto do enxerto durante as autópsias nos suínos que evoluíram bem: a e b) reto reintegrado na pelve; c) área de transição do enxerto e cólon proximal (seta na área da anastomose colorretal); c) vasos mesentéricos (setas); d) anastomoses



Fonte: Produção da autora (2023)

O suíno S17 apresentou uma pequena área de necrose periférica e superficial da anoderme a partir do 3º- 4º dia PO que evoluiu com fistula anorretal clinicamente evidente a partir do 7º PO, confirmada com exame sobre anestesia. Apesar da fistula manter drenagem persistente de fezes amolecidas através do orifício externo perianal até o 30º dia PO, não parecia comprometer a função do esfíncter (que manteve seu tônus aparente) e nem comprometia o estado geral do animal, sendo optado por estender o seguimento. Observamos fechamento total da fistula até o 90º dia PO e uma melhora adicional do hábito intestinal, sendo estendido o seguimento para 180 dias para avaliação manométrica mais tardia (Figura 29).

Figura 29 – Evolução do enxerto anorretal em S17: a) aspecto anal no 3º dia PO com deiscência lateral da anoderme e tecido de granulação (na foto com spray de prata larvicida repelente que passamos a usar preventivamente); b) 7º dia PO com drenagem de fezes líquidas por orifício fistuloso perianal; c) exame clínico sob anestesia confirmando a presença de fistula anal transesfincteriana; d) 90º dia PO com orifício fistuloso fechado e ânus com bom tônus à inspeção



4.7 SOBREVIDA E PRINCIPAIS CAUSAS DE ÓBITO

A sobrevida em 24 horas após o auto TAR concluído (n=16) foi de 81,25%, sendo a eutanásia por isquemia do enxerto secundária à trombose da AMI a principal causa de óbito neste período. Ela foi realizada na evidência de lesão anal isquêmica aguda grave ou grau 4 na primeira hora de observação em dois casos (S2 e S4), ambos no início do estudo e coincidindo com os primeiros experimentos realizados sem a participação do orientador. A segunda causa de óbito neste período não teve relação com a técnica cirúrgica ou perfusão do enxerto e ocorreu por infecção pulmonar, comprovada por autópsia e estudo histopatológico.

A sobrevida em 48 horas foi de 56,25 % com mais quatro óbitos ocorrendo no 2º dia PO, sendo três casos de eutanásia por necrose do enxerto secundária trombose da VMI e um por necrose secundária à trombose da AMI. Entre o 3º e 5º dia PO, ocorreram mais cinco óbitos resultando em uma sobrevida de 25% em cinco dias, quatro por eutanásia secundária à necrose do enxerto [duas por trombose da AMI (S3 e S6), uma devido ao prolapso retal (S7) e outra por trombose das pequenas veias do mesentério (S16)]. Houve apenas um óbito espontâneo neste período e o único por complicação cirúrgica não relacionada ao enxerto (S5), por necrose do intestino delgado secundária à torção do mesentério.

Nas condições do presente experimento, a sobrevida do TAR em 30 dias manteve-se em 25% (n=4), não ocorrendo complicações pós-operatórias graves em nenhum dos suínos sobreviventes até o 30º dia PO. Todos apresentaram evolução favorável, com recuperação rápida da deambulação, apetite e trânsito intestinal. A eutanásia foi realizada para a conclusão do estudo com retirada do enxerto e análise histopatológica.

Todos os doze óbitos que ocorreram após o auto TAR foram até o 5º dia PO, sendo a mortalidade maior nas primeiras 48 horas, período em que ocorreram sete, 58,3 % dos óbitos. A alta mortalidade nesse período ocorreu principalmente por complicações do enxerto relacionadas à técnica, com seis óbitos (50%) associados à trombose dos vasos mesentéricos, sendo metade (25%) por trombose da AMI e metade por trombose da veia. Entre o 3º e 5º dia PO, a mortalidade ocorreu também, principalmente, por fatores relacionados ao enxerto (quatro casos; 33,3% dos óbitos), com dois casos (16,6%) relacionados à trombose da AMI, sendo essa a principal causa de óbito considerando todo o período de seguimento, responsável por cinco (41,7%) dos óbitos. Todas as causas de óbito foram confirmadas por autópsia e estudo histopatológico (Tabela 6).

Tabela 6- Causas de óbito após auto TAR em suínos

	N	%
Trombose da AMI	5,0	41,6
Trombose da VMI	3,0	25,0
Trombose do mesorreto	1,0	8,3
Infecção pulmonar	1,0	8,3
Necrose por prolapso retal	1,0	8,3
Torção mesentérica e necrose do ID	1,0	8,3
Total de óbitos	12,0	100,0

Fonte: Produção da autora (2023)

Nota: AMI = artéria mesentérica inferior; VMI = veia mesentérica inferior; ID = intestino delgado.

4.8 AVALIAÇÃO FUNCIONAL

4.8.1 Avaliação clínica

Observamos recuperação funcional do enxerto por meio da avaliação do tônus anal por inspeção e toque retal a partir do 4º dia PO, após regressão da maior parte do edema causado pela reperusão. Avaliamos, ainda, a evolução do padrão evacuatório ao longo dos trinta dias de acordo com os critérios descritos na metodologia.

Com a inspeção anal e o registro fotográfico, observamos que o orifício anal evoluiu de entreaberto e com passagem contínua de fezes líquidas no 4º ao 7º dia PO para fechado e com passagem intermitente de fezes formadas, sem vazamento contínuo pelo orifício anal, até o 30º dia PO, caracterizando o restabelecimento progressivo do tônus. Ao realizarmos o toque, não percebemos diferença do tônus em relação aos exames realizados no pré-operatório.

Observamos recuperação progressiva da consistência das fezes de líquidas para firmes, diminuição do seu volume e da sua distribuição pela baia ao longo do seguimento. Ao fim dos 30 dias de avaliação, observamos um padrão evacuatório semelhante ao do pré-operatório, com fezes bem formadas, fragmentadas e mais concentradas dentro da baia.

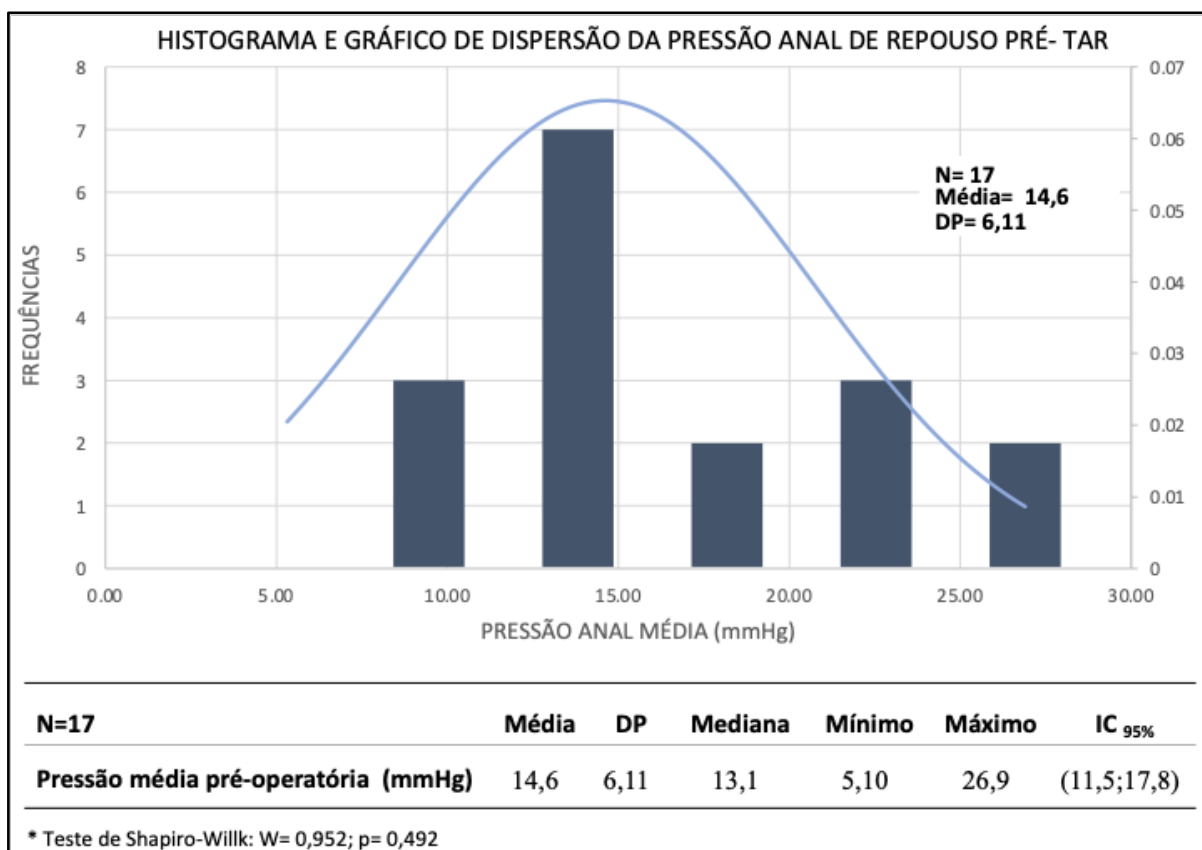
4.8.2 Avaliação manométrica

Como descrito na metodologia, a avaliação funcional manométrica foi realizada pela captação da curva da pressão anal em repouso por um cateter de oito canais no canal anal, na zona de maior pressão, por 10 minutos e pelo cálculo da média da pressão no melhor minuto da curva. No entanto, encontramos dificuldade em manter um nível de sedação ideal e constante

ao longo de todo o exame para obtenção de uma curva sem interferências. Mesmo utilizado a sedação recomendada na literatura, muitas vezes, o animal começava a agitar e contrair a musculatura pélvica antes da conclusão exame, gerando picos de pressão muito maiores e deformando a curva. Ao repetirmos a sedação, ocorria relaxamento acentuado do esfíncter com hipotonia, não permitindo a obtenção de uma curva de pressão. Essa interferência na curva ocorreu, principalmente, durante as manometrias do POI (com agitação acentuada do suíno ao acordar da anestesia ou hipotonia acentuada antes de sair do plano anestésico), o que nos levou a abolir o exame nesse momento.

Mesmo com as dificuldades acima, conseguimos isolar um minuto da curva manométrica em 17 suínos no pré-operatório com mínima interferência. Obtivemos, dessa forma, uma pressão de repouso média de 14,62 ($\pm 6,1$) mmHg, com valor mínimo de 5,10 mmHg, máximo de 26,9 mmHg e com tendência de distribuição normal, confirmada pelo teste de Shapiro-Wilk e demonstrada no gráfico de densidade e histograma da Figura 30.

Figura 30 – Pressão anal de repouso média dos suínos no pré-operatório (N=17): gráfico de dispersão mostrando curva de distribuição normal (linha azul clara) e histograma com as ordenadas demonstrando a frequência de ocorrências e as abscissas os valores da pressão em mmHg



Fonte: Produção da autora (2023)

Nota: DP = desvio padrão; IC = intervalo de confiança.

Ao realizarmos as manometrias pós-TAR no 30° PO em S1, S10 e S14 e no 180° dia PO em S17, observamos diminuição na pressão anal de repouso em S14 e aumento na pressão anal dos demais, especialmente, em S17 (Figura 31), sendo a média das quatro pressões pós TAR de 22,76 ($\pm 16,89$) mmHg. Porém, essas diferenças não foram estatisticamente significativas ($p=0,375$) quando realizamos análise pareada pelo teste de Wilcoxon (Tabela 7) nem quando realizamos o teste para uma amostra, considerando a média de 14,62, calculada nos 17 suínos antes da cirurgia, como valor de referência da pressão de repouso em suínos normais (Figura 32).

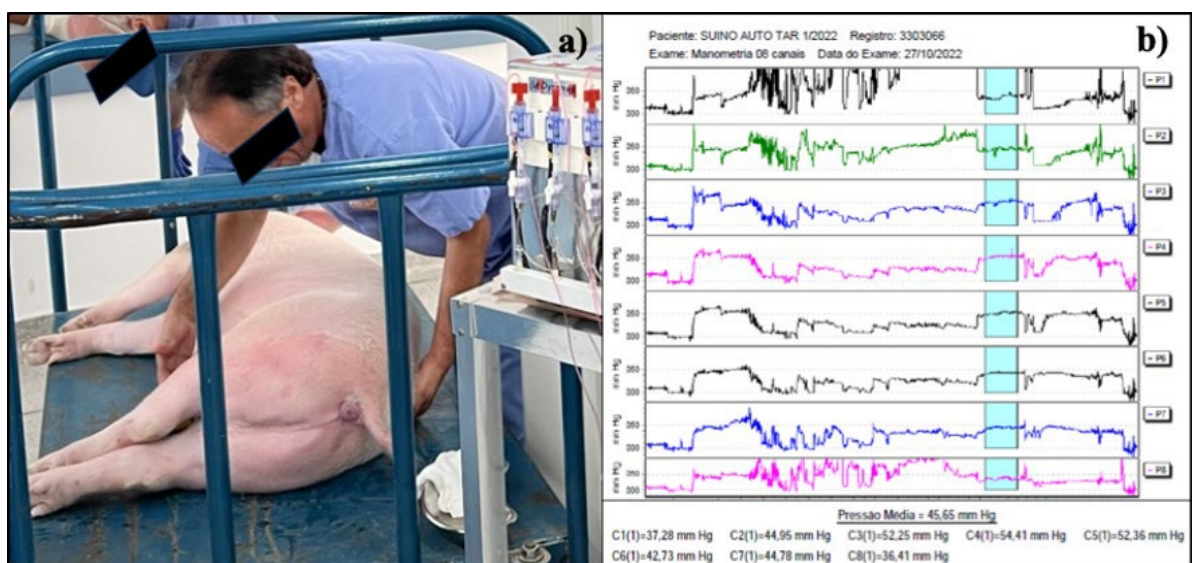
Tabela 7 - Manometria pré e pós-TAR dos quatro suínos com seguimento ≥ 30 dias

	PRESSÃO ANAL (mmHg)	
	PRÉ-TAR	PÓS-TAR
S1	22,30	24,2
S10	10,30	14,7
S14	9,50	6,5
S17	24,50	45,65
Média \pm DP	16,65 \pm 7,85	22,76 \pm 16,89
Mediana	16,30	19,45

Fonte: Produção da autora (2023)

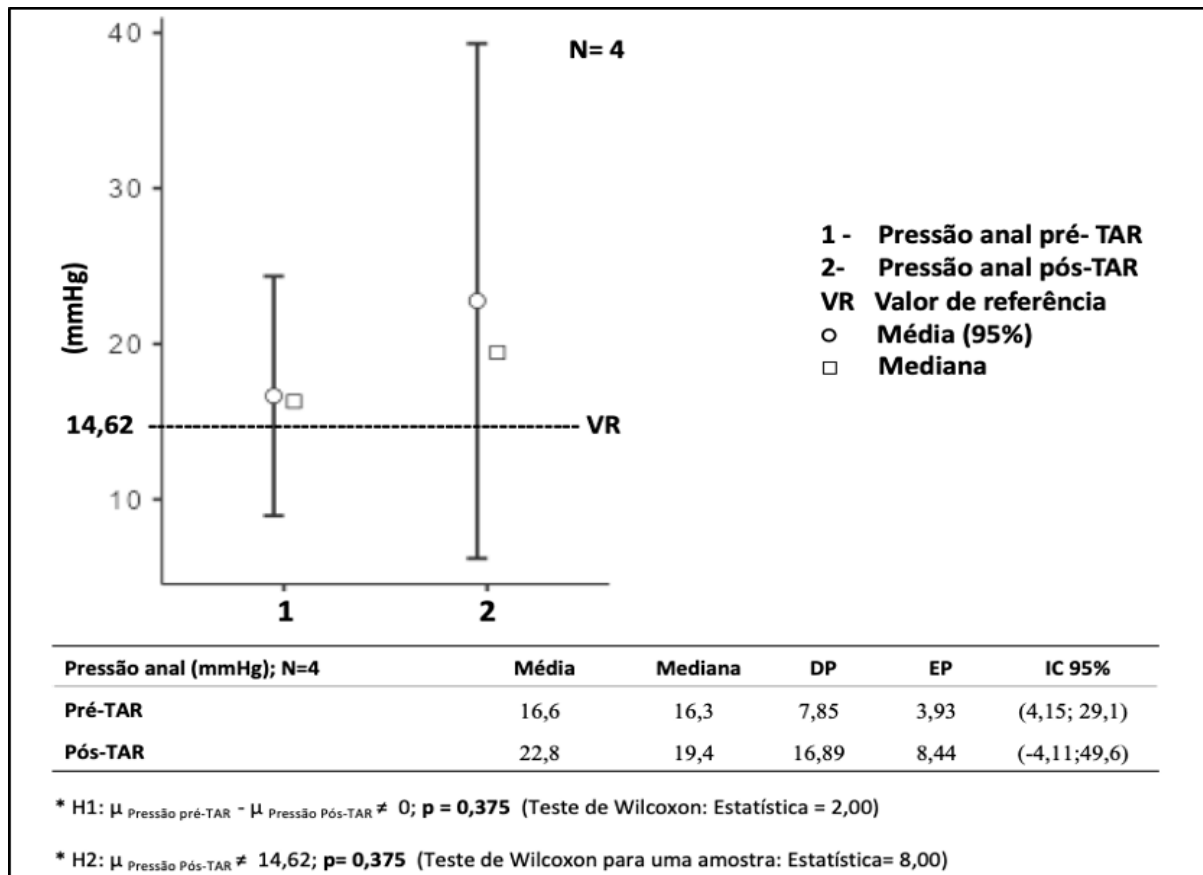
Nota: mmHHg= milímetros demercúrio DP = desvio padrão.

Figura 31 – a) S17 no 180° PO sendo submetido a manometria; b) traçado manométrico mostrando pressão anal de repouso média de 45,65 mmHg no minuto selecionado



Fonte: Produção da autora (2023)

Figura 32 – Análise comparativa pareada da pressão anal de repouso pré com a pós-TAR e análise de uma amostra considerando 14,62 mmHg (média das pressões medidas no pré-operatório) como valor de referência para pressão anal de repouso normal mostrando que não houve diferença estatística em nenhuma das análises ($p=0,375$)



Fonte: Produção da autora (2023)

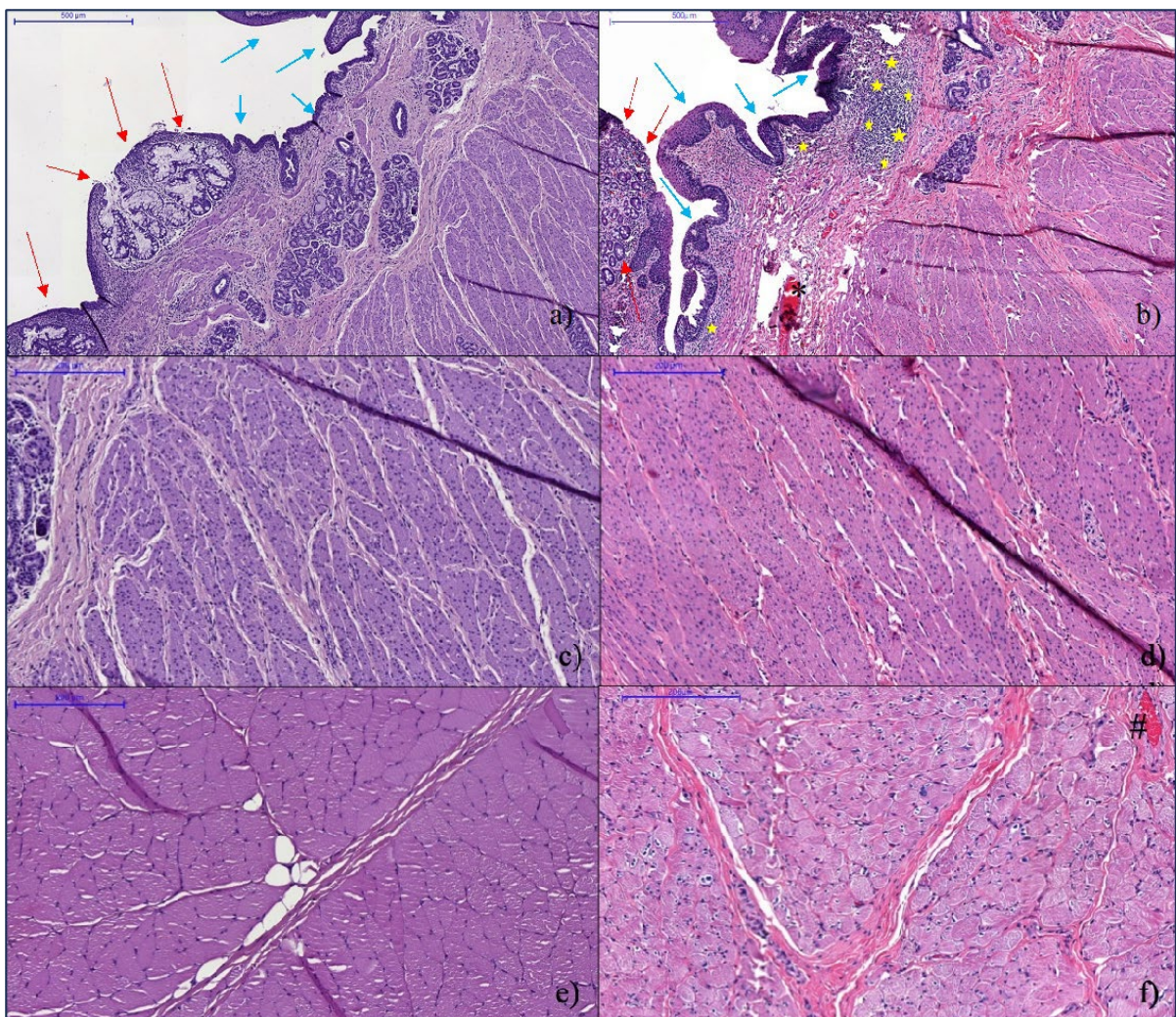
4.9 AVALIAÇÃO HISTOPATOLÓGICA

No estudo histopatológico, priorizamos avaliar a zona de transição anorretal contendo os esfíncteres. Nos casos de isquemia arterial, observamos áreas de descontinuidade do epitélio e úlceras, além de intenso processo inflamatório muscular e edema. Nos casos de trombose da VMI, observamos áreas hemorrágicas, dilatação vascular por congestão e edema mais intensos. Já nos casos bem-sucedidos, a arquitetura tecidual da região anorretal se manteve inalterada. O revestimento epitelial (epitélio queratinizado, anoderme, zona de transição e mucosa) manteve-se íntegro, sendo observado apenas edema, congestão e infiltrado celular inflamatório discretamente mais intensos que no suíno controle, especialmente na submucosa.

Não houve diferença nos demais parâmetros histológicos avaliados nos suínos transplantados com sucesso, não sendo observado aumento do tecido conjuntivo em nenhuma camada tecidual nem atrofia muscular quando comparado ao controle. O tecido muscular

esfincteriano manteve-se praticamente inalterado nas quatro amostras, sendo observado apenas mínimo edema e neovascularização no EAE de S14. A Figura 33 mostra cortes histológicos da zona de transição anorretal, do EAI e do EAE do suíno controle e de S14, os últimos dois com maior aumento.

Figura 33 – Cortes histológicos da transição anorretal corados em hematoxilina-eosina e com aumento (HE 5x) do suíno controle (a) e de S14 trinta dias após auto TAR bem-sucedido (b). Nota-se em (b) a mesma arquitetura tecidual de (a), estando o revestimento epitelial preservado, mas com discreto edema (setas vermelhas apontando para epitélio colunar simples e glandular da mucosa e setas azuis apontando para epitélio estratificado não queratinizado da anoderme) e submucosa com infiltrado celular inflamatório mais intenso (★ amarela) e mínima congestão (*). Cortes com maior magnificação (HE 10x) do esfíncter interno não mostram diferença entre controle (c) e S14 (d) e do esfíncter externo mostra apenas discreto edema e maior vascularização (#) de S14 (f) em relação ao controle (e)



Fonte: Produção da autora (2023)

Nota: * = vaso na submucosa; # = vaso do esfíncter externo; ★ amarela = infiltrado celular inflamatório; escala de 500 µm em (a) e (b); escala de 200 µm em (c), (d), (e) e (f).

5 DISCUSSÃO

5 DISCUSSÃO

Nenhum mecanismo ou dispositivo foi capaz de reproduzir a tão nobre e complexa função humana de controlar a evacuação, sendo o segmento anorretal, composto por anoderme, mucosa, esfíncter anal, reto e sua inervação, insubstituível e único capaz de exercê-la. Assim, criamos a hipótese de que uma possível solução para recuperar a função do segmento anorretal comprometido é a sua substituição por um segmento anorretal saudável, através do transplante.

O transplante anorretal (TAR) já demonstrou ser viável em modelos experimentais com ratos, cães, suínos e em cadáver humano.^{144,152,154-158} Posteriormente, o sucesso de pesquisas com seguimento prolongado⁹⁻¹¹ trouxe otimismo para a aplicação clínica do TAR com o mesmo objetivo dos transplantes funcionais, cujo conceito inovador associado aos avanços da terapia imunossupressora proporcionaram a realização de séries bem-sucedidas de mais de 36 transplantes faciais,⁸ mais de 11 transplantes de útero,^{7,167} dentre outros.

Em paralelo à evolução dos transplantes funcionais, o conhecimento adquirido com transplantes multiviscerais e intestinais¹⁴⁵⁻¹⁵⁰ inspiraram nosso grupo a estudar o impacto da inclusão da válvula ileocecal e de segmentos mais distais do intestino grosso na motilidade e absorção de nutrientes do intestino delgado transplantado. Os resultados desses estudos^{151,153} serviram de base para o desenvolvimento da pesquisa pré-clínica do TAR em suínos no LIM 37, que, desde então, vem seguindo os mesmos passos da pesquisa dos transplantes funcionais, baseando-se na anatomia, vascularização, inervação, função e rejeição em modelos animais de pesquisa básica e pré-clínica para, depois, ser aplicado em humanos.

Diante do cenário acima, a ideia do TAR para melhorar qualidade de vida de pacientes com perda ou disfunção total do segmento anorretal torna-se lógica e possível. Mas, desde o estudo pioneiro de O'Bichere e cols.¹⁴⁴ em 2000, foram realizados apenas oito modelos experimentais de TAR, quatro em ratos com seguimento variável^{9,10,152,154} e quatro em animais de médio porte, dentre os quais apenas um com resultados de seguimento igual ou maior a trinta dias.^{11,155,157,158} Descrevemos aqui o segundo modelo de TAR em animal de médio porte com seguimento pós-operatório igual ou maior que trinta dias, sendo o primeiro modelo de auto TAR em suínos com este seguimento. Discutiremos, a seguir, os resultados obtidos neste modelo em relação às publicações anteriores.

O sucesso obtido com o auto TAR por Rushmore, em 1901, em um paciente com IF grave pós-trauma e sete abordagens cirúrgicas malsucedidas,¹⁴¹ pareceu improvável para a época, mas serviu de inspiração para realizarmos modelos de auto TAR em ratos. Nessas

pesquisas, demonstramos as primeiras evidências experimentais que o segmento anorretal poderia ser completamente mobilizado de sua posição natural e reposicionado sem comprometimento da sua função.^{9,152,153}

Na descrição de Rushmore, o segmento anorretal foi liberado via perineal e via acesso posterior com retirada do cóccix, sendo o reto extraperitoneal dissecado em toda sua circunferência até o fundo de saco, dobrado posteriormente e o ânus reimplantado no ângulo superior da ferida posterior, acima da sua posição original, formando uma “válvula” com a parede posterior do reto dobrada. A preocupação do autor em não lesar as estruturas geniturinárias durante a dissecação da parede anterior acabou levando a uma lesão na parede retal, suturada antes da reimplantação do ânus. O paciente evoluiu sem fístula, mas com infecção na porção perineal da ferida, tratada efetivamente durante as semanas de internação. Recebeu alta evacuando duas vezes por dia e, após dois meses, apresentou-se com melhora do estado geral e nutricional, exercendo suas atividades habituais e mantendo o ritmo intestinal.

Com esse relato de mais de 100 anos, Rushmore provou que já era possível realizar auto TAR bem-sucedido para tratar IF por lesão esfínteriana extensa sem complicações graves e evitar uma CD. Ele também demonstrou que, apesar do auto TAR ter alto risco de infecção, essa pode ser tratada sem prejudicar o resultado funcional final e que uma lesão eventual da parede do reto durante a dissecação não implica em formação de fístula quando identificada e suturada no mesmo ato. Esses resultados, certamente, estimularam a realização de outras cirurgias via perineal, especialmente o nosso modelo de auto TAR. Nele, assim como nos demais modelos experimentais de TAR com maior seguimento,^{9-11,152} o índice de infecção foi baixo quando o enxerto se manteve bem vascularizado.

Pelo a atual modelo se tratar de um autotransplante, assim como no procedimento de Rushmore, existiu uma preocupação acentuada em não lesar estruturas geniturinárias e comprometer outra função no animal que permaneceria em seguimento. Isso, provavelmente, nos levou a lesar também a parede anterior do reto em dois casos. No entanto, não houve tempo em nosso estudo para observarmos complicações relacionadas a essas lesões, como abscesso local e fístula, pois os animais foram sacrificados no IO por hemorragia (S8) e no 2º dia PO, por necrose do enxerto secundária à trombose da AMI (S11).

No TAR halogênico, não haverá preocupação com a integridade do aparelho geniturinário do doador, que é falecido. Portanto, a integridade do enxerto anorretal é prioridade na cirurgia de captação, diminuindo o risco de lesão do reto durante a sua dissecação. Mas, caso de haja lesão do reto, essa pode ser reparada durante o procedimento de bandeja (como fizemos)

e não necessariamente implica em complicação pós-operatória grave ou disfunção do segmento, como observado por Rushmore.

As complicações infecciosas relacionadas ao procedimento cirúrgico observadas em nossa série foram mínimas quando o enxerto bem perfundido e a não realização de colostomia derivativa parece não ter aumentado o risco de deiscência ou infecção. Dos quatro casos que evoluíram bem, houve um caso de berne na ferida perianal associada a pequenas pústulas nos locais dos pontos e facilmente tratada após desbridamento. No outro caso, houve discreta deiscência da sutura da anoderme que evoluiu para fistula anal, mas que apresentou fechamento espontâneo ao longo do seguimento e não comprometeu o estado geral nem a evacuação do suíno.

Rushmore descreveu preocupação com a viabilidade do reto por ter interrompido completamente a sua vascularização distal durante a dissecação, mas, felizmente, não observou qualquer sinal de isquemia. Com esse achado, ele não só descreveu um dos primeiros transplantes realizados com sucesso em ser humano, mas, provavelmente, uma das primeiras evidências de que a irrigação dos vasos mesentéricos é suficiente para manter a irrigação e drenagem do segmento anorretal em humanos. Isso foi posteriormente demonstrado modelos experimentais de TAR com ratos e suínos^{9,10,144,152} e mais uma vez demonstrado no suíno pelo atual modelo.

Assim como o modelo suíno de halo TAR de O'Bichere¹⁴⁴ e de auto TAR de Galvão,¹⁵⁸ comprovamos com o atual modelo que a retirada e reimplantação do segmento anorretal envolvendo anoderme, esfíncter anal, reto, pedículos vasculares mesentéricos e o nervo pudendo é factível no suíno, apesar da alta complexidade. A mortalidade e as complicações operatórias foram equivalentes nos três estudos e consideradas aceitáveis para uma técnica considerada complexa no início de seu estudo e treinamento pré-clínico.

Nos dois modelos suínos anteriores, os animais foram mantidos vivos por 24h e 2h de observação, respectivamente, e apenas um (25%) no estudo de O'Bichere apresentou isquemia anal franca no período observado. Já em nosso estudo, dos 18 suínos operados, dois (11,1%) foram a óbito durante o procedimento e dois (11,1%) sacrificados no POI por apresentarem lesão anal isquêmica grave após 60 minutos de observação, elevando a mortalidade perioperatória para 22,2%. Se, no experimento de O'Bichere, o suíno com isquemia franca fosse sacrificado pela complicação apresentada, como protocolado em nosso estudo, a sua mortalidade perioperatória seria de 25%, equivalente à do presente estudo.

Os óbitos do período perioperatório em nosso estudo ocorreram, principalmente, devido a questões técnicas, especialmente na realização da anastomose arterial. Todos ocorreram na primeira metade do estudo (entre os primeiros nove experimentos realizados) e os dois casos de isquemia grave precoce por trombose arterial coincidiram com os dois primeiros experimentos realizados sem a participação do orientador, ainda em fase inicial de aprendizado da técnica, não se repetindo ao longo do estudo. Portanto, a mortalidade perioperatória reduziu à medida que a equipe aumentou o número de casos e se aperfeiçoou na técnica.

Nos casos iniciais da presente série, realizávamos aortotomia para a retirada do *patch* aortomesentérico, sutura dessa brecha aórtica e uma segunda aortotomia acima da brecha suturada para reimplantar a AMI com seu *patch*. Devido ao óbito ocorrido por sangramento persistente da brecha aórtica suturada e à dificuldade em encontrar local adequado para uma segunda aortotomia para anastomose arterial livre de tensão, passamos a realizar a anastomose arterial no mesmo local de retirada do *patch* a partir do décimo experimento. Com isso, evitamos uma sutura a mais sobre a aorta e confeccionamos anastomoses arteriais com menos tensão, diminuindo o risco de sangramento e isquemia precoce do enxerto.

O óbito ocorrido por sangramento persistente da anastomose arterial foi facilitado pela presença da única variação anatômica encontrada. Nesse caso, foram encontrados dois troncos arteriais mesentéricos (um de 2 mm e outro de 1 mm) saindo da aorta que foram incluídos no *patch* aortomesentérico de 5x3 mm. O tronco principal arterial foi envolvido em uma das suturas feitas para controlar o sangramento da anastomose arterial após a revascularização provocando trombose. Provavelmente, o “*patch*” arterial, pequeno para conter convenientemente os dois ramos vasculares, predispôs que um deles fosse envolvido na sutura hemostática. O controle do sangramento foi dificultado também justamente pelo receio de envolvermos a luz de um dos troncos arteriais durante a tentativa de hemostasia. Com essas dificuldades técnicas a mais, houve aumento do tempo cirúrgico e da instabilidade hemodinâmica do suíno, nos levando a abortar o procedimento e realizar a eutanásia do animal.

Excluindo os dois casos não concluídos por falha técnica e considerando todos os casos sacrificados por isquemia ou necrose do enxerto como óbito induzido também por falha técnica na confecção das anastomoses, a mortalidade real observada em 30 dias, baseada no número de óbitos espontâneos, não induzidos, dos 16 suínos que tiveram o auto TAR concluído, foi de 12,5% (dois óbitos), ocorrendo um óbito no 1º dia de PO e outro, no 5º dia. No primeiro caso, por intercorrência clínica (sepse pulmonar) em um suíno previamente infectado e, no segundo caso, por complicação relacionada à cirurgia abdominal e não específica do TAR (isquemia e necrose do intestino delgado por torção do mesentério e obstrução intestinal confirmada na

autópsia). Esses dados mostram que, apesar do auto TAR ser um procedimento de grande porte e complexo, é bem tolerado no modelo suíno, não causando alterações hemodinâmicas nem complicações graves ou letais na maioria dos casos, quando tecnicamente bem executado.

Observamos, ainda, que, mesmo na presença de isquemia do enxerto, não houve casos de deiscência da anastomose livre para cavidade com peritonite difusa, nem formação de abscesso intracavitário ou fístula colorretal e que todos esses suínos se mantiveram em bom a regular estado geral até o momento da eutanásia. Isso nos leva a supor que esses animais resistem bem e por um tempo prologado o quadro de isquemia anorretal, principal complicação do procedimento, e que existe possibilidade de reabordagem cirúrgica em tempo para a retirada do enxerto sem levar, necessariamente, o animal ao óbito. Mostra que a avaliação diária do aspecto anal prediz bem a presença de complicação do enxerto, possibilitando uma abordagem cirúrgica para a sua retirada antes do comprometimento sistêmico grave do suíno transplantado. Nossa hipótese é que isso também ocorra quando o TAR for realizado em humanos.

A incidência zero de deiscência da anastomose colorretal ou perfuração do enxerto para cavidade abdominal também mostra, que pelo menos nesse modelo animal, não há necessidade de realizar o procedimento em dois tempos com colostomia protetora e posterior fechamento da mesma, como preconizado por Araki e colaboradores em seu modelo com cães ¹¹ e que discutiremos adiante.

Considerando os 16 suínos com auto TAR concluído, a mortalidade secundária a óbitos induzidos por complicação do enxerto foi de 62,5% (dez casos), com todos os óbitos ocorrendo até o 5º dia PO. A mortalidade por isquemia e necrose do enxerto secundárias a complicações vasculares foi de 50% (oito casos): cinco (31,25%) por trombose da AMI e três (18,75%) por trombose da VMI. Dos casos de trombose arterial, dois (12,5%) ocorreram logo no POI e três (18,75%) levaram à isquemia progressiva ao longo do seguimento, com necrose e óbito mais tardio (entre 3º e 5º dia PO). Todos os casos de trombose venosa se manifestaram entre o 1º e o 2º dia PO. Como todos esses casos tiveram associação com trombose venosa ou arterial próximas às anastomoses, confirmadas por autópsia e estudo histopatológico, atribuímos o alto índice dessas complicações e a alta mortalidade a questões técnicas relacionadas à confecção das anastomoses, como vasos mesentéricos de fino calibre, dificuldade na reimplantação do *patch* arterial, tração dos pedículos vasculares durante o posicionamento da peça e início da curva de aprendizado.

Quando os vasos mesentéricos foram reimplantados adequadamente e as anastomoses se mantiveram pérvias, a irrigação proporcionada por esses vasos foram suficientes para manter boa perfusão de todo o enxerto. Isso ficou claro ao longo do seguimento dos quatro suínos que

apresentaram boa evolução, nos quais observamos o ânus bem perfundido e viável até o 30º e 180º dia PO e não encontramos sinais de isquemia aguda ou prévia no esfíncter anal macroscopicamente nem na análise histopatológica. Ou seja, confirmamos que a irrigação distal do segmento anorretal não é essencial para a sua viabilidade quando reestabelecida a irrigação através dos vasos mesentéricos.

A perfusão adequada do enxerto através dos vasos mesentéricos nos suínos já havia sido demonstrada por O'Bichere e cols. em seu modelo. Ao realizarem quatro TAR alogênicos, além de reimplantarem os vasos mesentéricos na aorta e veia cava, eles tentaram realizar anastomose da artéria e veia pudenda em dois deles com microcirurgia. Por questões técnicas, não conseguiram realizar essas anastomoses, o que não comprometeu a perfusão dos enxertos, o que foi demonstrado também pela ausência de sinais de isquemia na análise histopatológica. Ocorreu isquemia franca e necrose em apenas um caso, no qual foi confirmada trombose da AMI. Esses achados (associados aos achados dos estudos do TAR ratos)^{9,10,152,153} corroboram para hipótese de que o mesmo ocorra com o segmento anorretal transplantado em humano, o que também já foi descrito no incrível relato de Rushmore.

A avaliação da importância do NP e da sua integridade para o sucesso do TAR no suíno ficou dificultada em nosso estudo. Durante a dissecação anorretal via perineal, conseguimos identificar, dissecar e reparar os feixes do pudendo bilateralmente em 62,5% de todos os suínos, incluindo os quatro que tiveram boa evolução. Apesar de termos conhecimento sobre a capacidade de regeneração do NP quando realizado o reparo agudo por meio de neurosíntese epidural por microcirurgia, não dispúnhamos de microscópio com o aumento adequado. Sendo assim, realizamos a neurosíntese por meio da sutura dos cotos reparados com dois pontos de Prolene 5.0 após reposicionarmos o enxerto na pelve.

Dificuldade em identificar e restaurar a integridade do NP também foi descrita por O'Bichere em seu modelo de alo TAR. Ele identificou e dissecou o NP no doador e receptor em 3 dos experimentos, observando diâmetros de 1,5 a 2,2 mm (média de 1,7). Mesmo dispondo de microcirurgia e de um campo amplo para dissecação de um segmento longo do nervo no doador (por meio da desinserção do glúteo máximo e abertura da sínfise púbica), ele relatou dificuldade em realizar as anastomoses devido à variabilidade anatômica do nervo, que apresentava ramificações desde sua emergência do canal de Alcock, tornando o acesso ao feixe principal na pelve do receptor quase impossível.¹⁴⁴ A topografia do pudendo no humano é semelhante ao do suíno, com estudos anatômicos mostrando também variações da sua emergência do canal de Alcock.¹⁶⁸ Isso poderá dificultar a realização dessas anastomoses em alguns casos do TAR clínico no futuro.

Apesar de termos conhecimento sobre a importância do NP na continência fecal em humanos, estudos têm mostrado a existência de outras vias neurológicas importantes. O pudendo é um nervo misto (motor, sensitivo e autonômico) com um papel reconhecido na inervação somática e contração voluntária do EAE e músculo puborretal, em parte da inervação simpática, parte do tônus do EIA e na inervação sensitiva do canal anal.¹⁶⁹⁻¹⁷² Estudos mais recentes demonstraram que ele não é responsável pela contração involuntária do EEA nem do puborretal, reconhecida hoje como extremamente importante para a continência passiva. Estudos ainda demonstraram que o pudendo não é responsável pelos reflexos de contração desses músculos, importantes para impedir escape fecal em resposta a aumento súbito da pressão abdominal.^{173,174} Além disso, já tem se demonstrado que boa parte do músculo puborretal é inervada por ramos sacrais (de S3 e S4) que passam acima do assoalho pélvico¹⁷⁵ e que ondas elétricas de origem mio gênica se propagam através dos feixes musculares da parede retal, podendo levar à contração distal de fibras musculares circulares e contribuir para a continência.^{176,177} Todos esses achados mostram que os mecanismos envolvidos na continência fecal em humanos e suas vias neurológicas estão além da influência fundamental do NP, que outras vias neurais não bem conhecidas e a inervação local intramural do segmento anorretal têm papel importante na continência fecal. Isso nos levar a imaginar que a neurosíntese com reconstrução do pudendo pode não ser tão essencial para o sucesso funcional do TAR em humanos no futuro.

O papel da inervação intrínseca do intestino e do segmento anorretal, a capacidade de regeneração da inervação extrínseca distal e o seu real papel na função de segmentos transplantados já vinham sendo assuntos de grande interesse em nosso serviço. Já aspirando à aplicação clínica do TAR, realizamos no LIM 37, uma série de experimentos em ratos com o propósito de estudar tais questões.^{9,10,152,153} O modelo murino apresenta vantagens por ter menor custo, menor tempo cirúrgico e poder ser realizado por apenas um cirurgião. As desvantagens desse modelo incluíam o fato de as estruturas anatômicas serem muito pequenas e a necessidade de uso de ultramicrocirurgia para anastomoses vasculares.

No primeiro modelo de auto TAR em ratos publicado em 2009, comparou-se um grupo submetido à desconexão total do segmento anorretal (sem secção e anastomose colorretal e sem interrupção do fluxo sanguíneo) e reimplante ortotópico (no mesmo local anatômico) a um grupo com reimplante heterotópico (com implantação do ânus na parede abdominal) e outro grupo submetido à ressecção do segmento e colostomia. Neste estudo, observou-se pior evolução e maior mortalidade nos ratos submetidos à colostomia e foi observada, de forma surpreendente, a recuperação do tônus no ânus reimplantado tanto no abdome como no períneo.

Esses achados demonstraram que, além da perfusão do segmento anorretal do rato não depender da sua irrigação distal, a recuperação da função do segmento anorretal neste modelo não dependia da integridade da inervação extrínseca.¹⁵²

Em outro modelo murino mais sofisticado de TAR, com secção e anastomose colorretal por microcirurgia e clampeamento transitório do pedículo vascular simulando isquemia e reperusão, foi observada, por meio da manometria, recuperação parcial da função anorretal uma semana e recuperação total duas semanas após o auto TAR ortotópico.⁹ Esse resultado sugeriu que a recuperação da função anorretal no rato ocorre devido a uma provável capacidade maior de regeneração das suas terminações nervosas na pelve quando o segmento anorretal é reimplantado na fase aguda pós-trauma (logo após sua remoção) e devido a um papel maior da inervação intrínseca do segmento anorretal nesse animal.

No último modelo murino publicado pelo grupo do LIM 37, um grupo de ratos submetido ao TAR halogênico (entre ratos de cepas diferentes) foi comparado a um grupo submetido ao TAR singênico (entre ratos de uma mesma cepa), sendo os procedimentos realizados com auxílio de microcirurgia para a anastomoses vasculares, mas ainda sem a preocupação em restaurar integridade da inervação e irrigação distal. Nesse modelo, observou-se novamente, recuperação da função no segmento anorretal transplantado, além do perfil da rejeição do segmento anorretal no rato, que se mostrou menos agressivo do que o observado na rejeição do transplante de intestino delgado.¹⁰

Os três modelos de TAR em ratos descritos acima foram consistentes em demonstrar não só a boa perfusão anorretal após a interrupção da sua irrigação distal (como mencionado previamente), mas também, a preservação ou recuperação da função esfínteriana após interrupção da inervação pudenda. Esse último achado é compatível com achados de outros estudos em ratos que observaram preservação da pressão anal de repouso e parte da contração do EA após transecção completa bilateral do pudendo.^{178,179} Portanto, os trabalhos em ratos sugerem que a inervação intrínseca do segmento anorretal e sua capacidade regenerativa são suficientes para reestabelecimento da função após o TAR nesse modelo. Os resultados desses estudos assim como os do presente experimento reforçam a hipótese de que as vias de inervação envolvidas na continência fecal vão muito além do NP e que sua restauração pode não ser essencial para recuperação da função do enxerto em outros modelos de TAR.

Araki e cols. da Universidade de Tóquio iniciaram o estudo do TAR seguindo uma outra direção: priorizando a ressecção do segmento mais distal e enfatizando a importância da irrigação e inervação distais pelos feixes pudendos. Em 2012, publicaram um modelo de auto TAR extraperitoneal em ratos, com descolamento do canal anal e do reto apenas via perineal,

sem acesso à cavidade abdominal. Ao compararem o grupo submetido ao reimplante anorretal com anastomoses das artérias, veias e nervos podendo bilateralmente utilizando ultramicrocirurgia com o grupo sem essas anastomoses, observaram maior falência dos enxertos e alteração da função evacuatória (diarreia) no grupo no qual elas não foram realizadas.¹⁵⁴

Os achados do modelo acima são facilmente compreendidos, pois, ao acessarem o segmento anorretal apenas pela via perineal, o fluxo sanguíneo distal é totalmente interrompido durante disseção e mobilização do reto assim como o fluxo proveniente dos vasos mesentéricos no momento em que o reto é seccionado, deixando o enxerto totalmente desvascularizado neste modelo. Essa abordagem, obviamente, impõe a necessidade de restaurar um dos fluxos no momento do reimplante e que só é possível por meio das anastomoses das artérias e veias pudendas nesse modelo. Sendo assim, os resultados do modelo acima não excluem a possibilidade de o fluxo mesentérico suprir sozinho o segmento anorretal transplantado. O fluxo simplesmente não tem como ser reestabelecido após ser interrompido durante seção do reto uma vez que a abordagem é exclusivamente extraperitoneal, ficando o segmento distal totalmente dependente da vascularização distal.

A fim de estudar melhor a vascularização de segmento anorretal, Araki e cols. realizaram um estudo anatômico e angiográfico deste segmento em cães e o primeiro modelo de auto TAR no mesmo animal. No estudo anatômico, identificaram o feixe pudendo via perineal, medial à tuberosidade isquiática, atingindo o EEA às 2 e 10 horas, isolaram os vasos pudendos e mesentéricos para estudo angiográfico e, ao clampearem as artérias pudendas, observaram um fluxo sanguíneo menor do que ao clampearem a artéria mesentérica. No modelo de auto TAR, realizaram a disseção do segmento anorretal via abdominal e perineal estendendo o enxerto em nível proximal, interromperam a vascularização distal e mesentérica, ligaram os vasos distais e restabeleceram o fluxo apenas através de anastomoses término-terminais da AMI e VMI. Com isso, observaram congestão e necrose progressiva do enxerto que levou o animal a óbito em três dias. Além disso, o estudo histopatológico da peça revelou uma divisão clara entre tecido anorretal normal mais proximal e o tecido mais distal, comprometido por congestão vascular associada a trombos vasculares e erosão tecidual, sendo essas alterações mais intensas em nível do epitélio escamoso anal.¹⁵⁵

Os achados acima sugeriram que a irrigação e drenagem pelos vasos pudendos são fundamentais para viabilidade do enxerto anorretal no cão, sendo contraditórios aos achados dos estudos em ratos do LIM 37,^{9,10,152} aos achados dos modelos suínos prévios^{144,158} e ao achado do modelo aqui descrito. Esses achados divergentes em relação ao fluxo sanguíneo do

segmento anorretal podem ser explicados pela diferença anatômica entre as espécies estudadas ou por possíveis variações anatômicas dentro de cada espécie.

Em humanos, parece lógico pensar que os vasos mesentéricos são capazes de suprir sozinho o segmento anorretal transplantado, como observado por Rushmore, visto que este segmento corresponde a uma área de comunicação entre a circulação sistêmica e portal. No entanto, serão necessários mais estudos do fluxo sanguíneo anorretal para certificarmos que essas variações anatômicas são tão mais comuns quanto mais evoluída a espécie e complexa a sua anatomia. Sendo a anatomia vascular e o fluxo sanguíneo anorretal mais variáveis em humanos, a vascularização do segmento anorretal do doador talvez deva ser avaliada caso a caso quando, futuramente, realizarmos o TAR clínico. Essa avaliação poderá ser feita no momento da captação e, a partir dela, o cirurgião decidir se deve prosseguir ou não com o transplante, definir a extensão do reto a ser transplantado (se seccionado a nível mais proximal ou não) e quais anastomoses vasculares devem ser realizadas.

Em seu primeiro modelo de auto TAR em cães com seguimento pós-operatório, Araki e cols. submeteram quatro cães à técnica semelhante ao do seu primeiro modelo murino, com dissecação do reto distal exclusivamente via extraperitoneal, com anastomoses microcirúrgicas da artéria pudenda, da veia e do nervo pudendo bilateralmente e anastomose reto-retal extraperitoneal. Nesse estudo, observaram isquemia e necrose em um caso, considerado erro técnico e sacrificado no 1º dia PO, e obtiveram sucesso nos demais (75%), observados até o 4º e 9º dias, quando sacrificados para retirada e estudo da peça.¹⁵⁷

Com o estudo acima, os autores provaram a factibilidade do TAR com microanastomoses da artéria, veia e nervo pudendos em cães e passaram a considerá-las indispensáveis para o sucesso do transplante. Além disso, passaram a preconizar o modelo canino como o ideal para estudo do TAR, visto que os cães manifestam continência voluntária, ao contrário dos ratos e suínos, além de apresentarem anatomia e calibres neurovasculares semelhantes aos do humano.¹⁵⁷

Ao demonstrarem que é possível a confecção de anastomoses efetivas por meio de microcirurgia em estruturas tão pequenas e delicadas como os vasos e nervo pudendo dos cães, os autores acima reforçam a possibilidade em realizá-las no TAR clínico caso sejam realmente necessárias. No entanto, o tempo gasto para a realização dessas anastomoses contribui para um aumento não só do tempo cirúrgico total como do tempo de isquemia do enxerto. O tempo cirúrgico total médio descrito por Araki no auto TAR em cães foi de 485 ± 45 minutos, maior do que o observado no nosso modelo suíno que foi de $332 \pm 48,87$. Isso implicou em um tempo

de isquemia total também maior, com média de 277 ± 34 minutos *versus* $121,8 \pm 18,83$ em nosso estudo.¹⁵⁷

Com base em seu modelo de auto TAR, Araki e cols. Publicaram, em 2021, o primeiro modelo de auto e alo TAR com seguimento prolongado em animais de médio porte, além de um estudo sobre o papel do NP na função anorretal.¹¹ No estudo do NP, eles avaliaram por meio de manometria anorretal, eletroneuromiografia e estudo histopatológico do esfíncter sete cães divididos em 3 grupos após 1 ano de seguimento. Um grupo-controle, um submetido à secção e anastomose epineural término-terminal do NP e outro submetido à ressecção de 1 cm do nervo sem anastomose. Observaram, na manometria realizada 6 meses depois, que não houve recuperação no ritmo e na amplitude da curva no grupo submetido à transecção sem anastomose e que houve recuperação desta no grupo submetido à anastomose, além de queda estatisticamente significativa da pressão anal de repouso no grupo sem anastomose de 26 mmHg para 12,7 mmHg e não estatisticamente significativa nos cães submetidos à anastomose de 32 para 22 mmHg. A resposta eletroneuromiográfica foi negativa no grupo sem anastomose e positiva no grupo com e no estudo histopatológico. O grupo sem anastomose apresentou atrofia severa do esfíncter anal e aumento importante do tecido intersticial em relação ao controle, enquanto o grupo com anastomose apresentou atrofia leve de ambos os esfíncteres.

Os resultados do estudo acima demonstram a forte influência do NP sobre a função anorretal no cão e apontam novamente que a anastomose deste é fundamental para um bom resultado funcional do TAR neste modelo, mantendo-se contraditórios aos resultados observados no modelo murano e no nosso modelo suíno. Em nosso estudo, mesmo realizando a neurosíntese do pudendo com um ponto de polipropileno 5.0 ao invés da neurosíntese padrão com sutura epineural término-terminal por microcirurgia nos quatro suínos que tiveram boa evolução, observamos o restabelecimento do tônus anal à inspeção clínica e melhora progressiva da função evacuatória ao longo dos trinta dias de seguimento em todos eles. Conseguimos ainda obter curvas de pressão manométricas e valores de pressão anal de repouso estatisticamente equivalentes às observadas no pré-operatório ao fim do seguimento. Em nenhum deles, foi observada atrofia esfíncteriana associada ou maior quantidade de tecido intersticial de cicatrização durante a análise histológica, quando comparados à histologia do esfíncter anal de um suíno normal de controle.

Uma das explicações para a divergência dos nossos resultados com os de Araki é que o suíno tenha uma capacidade regenerativa neuromuscular melhor que a do cão e semelhante à do rato, permitindo que uma síntese simples neuronal na fase aguda pós-trauma reestabelecesse as conexões nervosas necessárias para recuperação da função. Outra possibilidade é que, assim

como no rato, o NP não tenha papel na manutenção da pressão anal do suíno e tenha menor influência sobre a contração esfínteriana do que a observada nos cães. Sendo assim, o reestabelecimento da função pode ter ocorrido devido às características intrínsecas neuromusculares do segmento anorretal do suíno e coparticipação do restante da musculatura do assoalho pélvico e sua inervação. E como já mencionamos antes, com base nos modelos prévios de auto TAR em ratos e em estudos fisiológicos recentes do pudendo, espera-se que isso ocorra em algum grau em humanos, visto a complexidade dos mecanismos envolvidos na continência fecal.

Em seu último modelo de TAR com seguimento prologado, Araki e cols. realizaram o alo TAR em dois cães e o auto TAR acrescentando mais dois tempos: colostomia de proteção uma semana antes do TAR e fechamento da colostomia duas semanas depois, para diminuir o risco de infecção. Um dos cães submetido ao alo TAR recebeu terapia imunossupressora (tacrolimus 0,1 mg/kg/dia) e outro não. Eles acompanharam a evolução clínica desses animais e, ao final do seguimento de um ano, compararam os resultados funcionais por meio de defecografia e compararam os achados histopatológicos.¹¹

No estudo acima, eles observaram, pela primeira vez, a reação de rejeição ao segmento anorretal em cães, que foi intensa no cão sem imunossupressão, com falência do enxerto associada à queda do estado geral que levaram ao sacrifício do animal no 1º dia PO. O cão que recebeu imunossupressão apresentou leve rejeição aguda no 4º dia PO e crônica quatro meses após o procedimento, caracterizadas por edema, hiperemia e friabilidade, ambas facilmente controladas com baixa dose de corticoide e dose dobrada de tacrolimus IM por 10 dias. Tanto esse animal quanto o cão submetido ao auto TAR evoluíram bem até o fim seguimento em dois anos. Ambos apresentaram evacuação normal logo após o fechamento da colostomia e mantiveram resultados funcionais equivalentes na defecografia de um ano (reto dilatado com contração esfínteriana pré-evacuação e esvaziamento do reto com abertura do esfíncter durante a evacuação). Nas análises histopatológicas, os animais submetidos ao auto TAR e halo TAR com imunossupressão apresentaram processo inflamatório leve na mucosa e submucosa com discreta atrofia dos esfíncteres e o sem imunossupressão apresentou processo inflamatório intenso com destruição da arquitetura tecidual.

O sucesso com os modelos de auto e halo TAR em cães levaram seus autores a preconizarem, novamente, o modelo pré-clínico canino como “imprescindível” para o estudo do TAR, devido às semelhanças anatômicas com o humano e por manifestarem controle voluntário da evacuação. No entanto, como mencionamos antes, o uso de cães para estudo experimental é dificultado no Brasil, sendo o suíno o único animal disponível em nosso meio

com características anatômicas favoráveis para realização deste estudo. Apesar do suíno não manifestar controle voluntário da evacuação e da ausência de parâmetros clínicos objetivos precisos para quantificar o grau da perda ou do restabelecimento da função anorretal nesse animal, conseguimos realizar uma boa avaliação clínica ao acompanharmos de perto a evolução dos casos bem-sucedidos. Neles, percebemos uma melhora progressiva no padrão evacuatório até o 30º dia, quando apresentaram padrão semelhante ao observado no pré-operatório, com fezes bem formadas, menos espalhadas pela baia e sem vazamento contínuo através do ânus. Por meio da inspeção clínica anal e toque retal, conseguimos ainda perceber o restabelecimento progressivo do tônus, não notando diferença deste no final do seguimento em relação ao exame pré-operatório.

A avaliação da função anorretal no suíno ainda pôde ser complementada com manometria, considerada pela literatura um bom método de avaliação funcional anal em animais,^{180,181} e ainda pode ser realizada por outros métodos como a eletroneuromiografia. Portanto, consideramos o modelo suíno adequado para o estudo funcional do segmento anorretal e um excelente modelo pré-clínico de TAR, ao contrário do que foi sugerido por Araki.

Apesar da manometria ser considerada um bom método de avaliação funcional, existe ainda uma carência de modelos experimentais com suínos desse porte e os parâmetros de avaliação, assim como valores de referência normais, não são bem definidos na literatura, variando a depender do método de aferição utilizado. Além disso, para realizar manometria em animal de médio e grande porte, é necessária uma sedação profunda o suficiente para que não reajam durante o exame contraindo a musculatura pélvica e interferindo na curva de pressão, mas não tão profunda que cause hipotonia esfínteriana.^{166,180,182}

Por conta dos fatores citados acima, a avaliação funcional manométrica ficou um pouco prejudicada em nosso estudo. As manometrias realizadas no POI foram todas comprometidas ou por agitação do suíno ao acordar da anestesia ou por hipotonia acentuada enquanto ainda anestesiado, nos levando a dispensar o exame nesse período. Com o aperfeiçoamento da técnica de sedação pela equipe anestésica, conseguimos, finalmente, obter curvas de pressão com mínima interferência no pré-operatório e pós-operatório tardio, ainda que por período curto (um minuto). Apesar de não termos conseguido realizar uma avaliação manométrica perfeita, ao término do estudo, conseguimos padronizá-la de forma que as pressões anais do suíno poderão ser mais bem aferidas em estudos posteriores. Além disso, com a realização de mais manometrias em suínos normais utilizando a metodologia que padronizamos, teremos valores

de pressão anal de referência que represente melhor população de suínos dessa raça e desse porte.

Ao seguirmos S17 por período mais prologado para avaliar a evolução da fístula, observamos melhora adicional do tônus anal e da evacuação em relação aos demais suínos seguidos, além do fechamento da própria fístula. Essa melhora progressiva da função com o tempo de seguimento também foi observada por Araki nos cães transplantados ao longo de dois anos e sugere que os animais devam ser acompanhados por mais tempo para obtermos uma avaliação funcional adequada. Isso motivou colaboração interinstituições (HCFMUSP e Faculdade de Veterinária da FZEA-USP Pirassununga) para nova pesquisa de auto TAR em suínos com avaliação funcional em 180 dias.

Observamos, ainda, neste estudo, que o óbito e as complicações pós-operatórias graves ocorreram até o 7º dia PO, com complicações mais leves ocorrendo até o 21º dia PO. Após esse período, os animais se mantiveram bem e não necessitaram de cuidados especiais além da oferta de dieta. Assim, poderão ser mantidos por um período de 180 dias por um custo adicional baixo no futuro estudo.

Por este estudo ser um modelo de autotransplante, o número de pessoas envolvidas no estudo e o número de animais necessários na pesquisa são reduzidos, diminuindo questões bioéticas relacionadas ao uso de animais e os custos. Ele ainda permitiu avaliar as complicações relacionadas exclusivamente à técnica do TAR e os efeitos da interrupção neurovascular sobre o enxerto sem interferência da rejeição. Como ainda desconhecemos os efeitos desta no segmento anorretal tanto em humanos como em suínos, o atual modelo servirá de controle negativo para avaliarmos a rejeição no futuro.

Por fim, realizamos com este estudo, modelo pré-clínico inédito de TAR com seguimento pós-operatório prolongado. Sua padronização permitirá avaliação funcional do enxerto anorretal em um momento mais adequado, visto que a recuperação é progressiva e tanto maior quanto mais tardia a avaliação. Ele deixa o caminho aberto para avaliação dos efeitos imediatos, tardios, imunológicos e funcionais do halo transplante anorretal e para inovações na área cirúrgica de alta complexidade, ao criar e determinar a estrutura de manutenção e avaliação pós-operatória necessárias para animal de médio porte em nossa instituição.

6 CONCLUSÕES

6 CONCLUSÕES

O modelo de autotransplante anorretal com seguimento em trinta dias em suínos é inédito e mostrou-se factível, possibilitando a avaliação da evolução clínica dos animais operados e da viabilidade do enxerto neste período.

O modelo experimental desenvolvido permite a avaliação funcional em trinta dias do segmento anorretal transplantado por meio da avaliação clínica, do exame físico e da manometria anorretal.

O presente modelo pode ser usado para ensino, treinamento e aprimoramento da técnica do TAR.

O presente estudo realizou, com sucesso, a estruturação do LIM 37, em parceria com o Biotério Central da FMUSP, para avaliação pós-operatória prolongada na pesquisa do transplante visceral e que poderá ser utilizada para avaliação dos efeitos pós-operatórios precoces e tardios de qualquer técnica cirúrgica de grande porte a ser estudada no futuro.

REFERÊNCIAS

REFERÊNCIAS

1. Galvao FH, Araki J, Seid VE, Waisberg DR, Traldi MC, Naito M, et al. Evidence that anorectal transplantation is the logical treatment for serious anorectal dysfunction and permanent colostomy. *Transplant Proc.* 2016 Mar;48(2):497-8. doi: 10.1016/j.transproceed.2015.10.082.
2. Hirano HKM, Seid VE, Galvão FHF, D'Albuquerque LAC. Transplante anorretal como proposta terapêutica para o tratamento de incontinência fecal e colostomia definitiva. *Rev Med (Rio J).* 2013;92(1):34. doi:10.11606/issn.1679-9836.v92i1p34-42
3. Birchall MA, Lorenz RR, Berke GS, Genden EM, Haughey BH, et al. Laryngeal transplantation in 2005: a review. *Am J Transplant.* 2006 Jan;6(1):20-6. doi: 10.1111/j.1600-6143.2005.01144.x.
4. Jones JW, Gruber SA, Barker JH, Breidenbach WC. Successful hand transplantation. One-year follow-up. Louisville Hand Transplant Team. *N Engl J Med.* 2000 Aug 17;343(7):468-73. doi: 10.1056/NEJM200008173430704.
5. Fattah A, Cypel T, Donner EJ, Wang F, Alman BA, Zuker RM. The first successful lower extremity transplantation: 6-year follow-up and implications for cortical plasticity. *Am J Transplant.* 2011 Dec;11(12):2762-7. doi: 10.1111/j.1600-6143.2011.03782.x.
6. Ejzenberg D, Andraus W, Baratelli Carelli Mendes LR, Ducatti L, et al. Livebirth after uterus transplantation from a deceased donor in a recipient with uterine infertility. *Lancet.* 2018;392(10165):2697-704. doi:10.1016/S0140-6736(18)31766-5
7. Brännström M, Tullius SG, Brucker S, Dahm-Kähler P, Flyckt R, Kisu I, et al. Registry of the International Society of Uterus Transplantation: first report. *Transplantation.* 2023 Jan 1;107(1):10-7. doi: 10.1097/TP.0000000000004286.
8. Lantieri L, Grimbert P, Ortonne N, Suberbielle C, Bories D, Gil-Vernet S, et al. Face transplant: long-term follow-up and results of a prospective open study. *Lancet.* 2016 Oct 1;388(10052):1398-407. doi: 10.1016/S0140-6736(16)31138-2.
9. Seid VE, Galvão FH, Vaidya A, Waisberg DR, Cruz RJ Jr, Chaib E, et al. Functional outcome of autologous anorectal transplantation in an experimental model. *Br J Surg.* 2015 Apr;102(5):558-62. doi: 10.1002/bjs.9762.
10. Galvão FH, Waisberg DR, Seid VE, Costa AC, Chaib E, Baptista RR, et al. Allogeneic anorectal transplantation in rats: technical considerations and preliminary results. *Sci Rep.* 2016 Aug 4;6:30894. doi: 10.1038/srep30894.
11. Araki J, Nishizawa Y, Fujita N, Sato T, Lizuka T, Komata M, et al. Anorectal Transplantation: The First Long-term Success in a Canine Model. *Ann Surg.* 2022 Apr 1;275(4):e636-44. doi: 10.1097/SLA.0000000000004141.

12. Saldana Ruiz N, Kaiser AM. Fecal incontinence - Challenges and solutions. *World J Gastroenterol*. 2017 Jan 7;23(1):11-24. doi: 10.3748/wjg.v23.i1.11.
13. Bochenska K, Boller AM. Fecal Incontinence: Epidemiology, impact, and treatment. *Clin Colon Rectal Surg*. 2016 Sep;29(3):264-70. doi: 10.1055/s-0036-1584504.
14. Bedard K, Heymen S, Palsson OS, Bharucha AE, Whitehead WE. Relationship between symptoms and quality of life in fecal incontinence. *Neurogastroenterol Motil*. 2018 Mar;30(3):10.1111/nmo.13241. doi: 10.1111/nmo.13241.
15. Hurny C, Holland J. Psychosocial sequelae of ostomies in cancer patients. *CA Cancer J Clin*. 1985 May-Jun;35(3):170-83. doi: 10.3322/canjclin.35.3.170.
16. Karadağ A, Menteş BB, Uner A, Irkörüçü O, Ayaz S, Ozkan S. Impact of stomatherapy on quality of life in patients with permanent colostomies or ileostomies. *Int J Colorectal Dis*. 2003 May;18(3):234-8. doi: 10.1007/s00384-002-0462-z.
17. Johanson JF, Lafferty J. Epidemiology of fecal incontinence: the silent affliction. *Am J Gastroenterol*. 1996 Jan;91(1):33-6.
18. Whitehead WE. Diagnosing and managing fecal incontinence: if you don't ask, they won't tell. *Gastroenterology*. 2005 Jul;129(1):6. doi: 10.1053/j.gastro.2005.05.043.
19. Ditah I, Devaki P, Luma HN, Ditah C, Njei B, Jaiyeoba C, et al. Prevalence, trends, and risk factors for fecal incontinence in United States adults, 2005-10. *Clin Gastroenterol Hepatol*. 2014 Apr;12(4):636-43.e1-2. doi: 10.1016/j.cgh.2013.07.020.
20. Bharucha AE, Dunivan G, Goode PS, Lukacz ES, Markland AD, Matthews CA, et al. Epidemiology, pathophysiology, and classification of fecal incontinence: state of the science summary for the National Institute of Diabetes and Digestive and Kidney Diseases (NIDDK) workshop. *Am J Gastroenterol*. 2015 Jan;110(1):127-36. doi: 10.1038/ajg.2014.396.
21. Whitehead WE, Borrud L, Goode PS, Meikle S, Mueller ER, Tuteja A, et al; Pelvic Floor Disorders Network. Fecal incontinence in US adults: epidemiology and risk factors. *Gastroenterology*. 2009 Aug;137(2):512-7, 517.e1-2. doi: 10.1053/j.gastro.2009.04.054.
22. Nelson, RL. Epidemiology of fecal incontinence. *Gastroenterology*. 2004;126(suppl 1):S3-S7. doi:10.1053/j.gastro.2003.10.010.
23. Xu X, Menees SB, Zochowski MK, Fenner DE. Economic cost of fecal incontinence. *Dis Colon Rectum*. 2012 May;55(5):586-98. doi: 10.1097/DCR.0b013e31823dfd6d.
24. Miner PB Jr. Economic and personal impact of fecal and urinary incontinence. *Gastroenterology*. 2004 Jan;126(1 Suppl 1):S8-13. doi: 10.1053/j.gastro.2003.10.056.
25. Menees S, Chey WD. Fecal Incontinence: Pathogenesis, Diagnosis, and Updated Treatment Strategies. *Gastroenterol Clin North Am*. 2022 Mar;51(1):71-91. doi: 10.1016/j.gtc.2021.10.005.

26. Ommer A, Wenger FA, Rolfs T, Walz MK. Continence disorders after anal surgery--a relevant problem? *Int J Colorectal Dis.* 2008 Nov;23(11):1023-31. doi: 10.1007/s00384-008-0524-y.
27. Kupsch J, Jackisch T, Matzel KE, Zimmer J, Schreiber A, Sims A, et al. Outcome of bowel function following anterior resection for rectal cancer—an analysis using the low anterior resection syndrome (LARS) score. *Int J Colorectal Dis.* 2018 Mar; 33(6):787-798. doi:10.1007/s00384-018-3006-x.
28. Johnson JK, Lindow SW, Duthie GS. The prevalence of occult obstetric anal sphincter injury following childbirth--literature review. *J Matern Fetal Neonatal Med.* 2007 Jul;20(7):547-54. doi: 10.1080/14767050701412917.
29. Townsend DC, Carrington EV, Grossi U, Burgell RE, Wong JYJ, Knowles CH, Scott SM. Outcome of bowel function following anterior resection for rectal cancer—an analysis using the low anterior resection syndrome (LARS) score. *Int J Colorectal Dis.* 2018 Ap; 33(6):787-798. doi:10.1007/s00384-018-3006-x.
30. Ng KS, Sivakumaran Y, Nassar N, Gladman MA. Fecal incontinence: community prevalence and associated factors - a systematic review. *Dis Colon Rectum.* 2015 Dec;58(12):1194-209. doi: 10.1097/DCR.0000000000000514.
31. Menees SB, Almario CV, Spiegel BMR, Chey WD. Prevalence of and Factors Associated With Fecal Incontinence: Results From a Population-Based Survey. *Gastroenterology.* 2018 May;154(6):1672-1681.e3. doi: 10.1053/j.gastro.2018.01.062.
32. Rockwood TH, Church JM, Fleshman JW, Kane RL, Mavrantonis C, Thorson AG, et al. Patient and surgeon ranking of the severity of symptoms associated with fecal incontinence: the fecal incontinence severity index. *Dis Colon Rectum.* 1999 Dec;42(12):1525-32. doi: 10.1007/BF02236199.
33. Baxter NN, Rothenberger DA, Lowry AC. Measuring fecal incontinence. *Dis Colon Rectum.* 2003 Dec;46(12):1591-605. doi: 10.1007/BF02660762.
34. Hiltunen KM. Anal manometric findings in patients with anal incontinence. *Dis Colon Rectum.* 1985 Dec;28(12):925-8. doi: 10.1007/BF02554308.
35. Thekkinkattil DK, Lim M, Stojkovic SG, Finan PJ, Sagar PM, Burke D. A classification system for faecal incontinence based on anorectal investigations. *Br J Surg.* 2008 Feb;95(2):222-8. doi: 10.1002/bjs.5933.
36. Carrington EV, Heinrich H, Knowles CH, Fox M, Rao S, Altomare DF, et al; All members of the International Anorectal Physiology Working Group. The international anorectal physiology working group (IAPWG) recommendations: Standardized testing protocol and the London classification for disorders of anorectal function. *Neurogastroenterol Motil.* 2020 Jan;32(1):e13679. doi: 10.1111/nmo.13679.
37. West RL, Dwarkasing S, Briel JW, Hansen BE, Hussain SM, Schouten WR, et al. Can three-dimensional endoanal ultrasonography detect external anal sphincter atrophy? A comparison with endoanal magnetic resonance imaging. *Int J Colorectal Dis.* 2005 Jul;20(4):328-33. doi: 10.1007/s00384-004-0693-2.

38. Saraidaridis JT, Molina G, Savit LR, Milch H, Mei T, Chin S, et al. Pudendal nerve terminal motor latency testing does not provide useful information in guiding therapy for fecal incontinence. *Int J Colorectal Dis.* 2018 Mar;33(3):305-10. doi: 10.1007/s00384-017-2959-5.
39. Bordeianou LG, Thorsen AJ, Keller DS, Hawkins AT, Messick C, Oliveira L, et al. The American Society of Colon and Rectal Surgeons Clinical Practice Guidelines for the Management of Fecal Incontinence. *Dis Colon Rectum.* 2023 May 1;66(5):647-661. doi: 10.1097/DCR.0000000000002776.
40. Simillis C, Lal N, Pellino G, Baird D, Nikolaou S, Kontovounisios C, et al. A systematic review and network meta-analysis comparing treatments for faecal incontinence. *Int J Surg.* 2019 Jun;66:37-47. doi: 10.1016/j.ijssu.2019.04.007.
41. Maeda K, Mimura T, Yoshioka K, Seki M, Katsuno H, Takao Y, et al; Fecal Incontinence Guideline Preparation Committee. Japanese Practice Guidelines for Fecal Incontinence Part 2-Examination and Conservative Treatment for Fecal Incontinence-English Version. *J Anus Rectum Colon.* 2021 Jan 28;5(1):67-83. doi: 10.23922/jarc.2020-079.
42. Omar MI, Alexander CE. Drug treatment for faecal incontinence in adults. *Cochrane Database Syst Rev.* 2013 Jun 11;2013(6):CD002116. doi: 10.1002/14651858.CD002116.pub2.
43. Guillaume A, Salem AE, Garcia P, Chander Roland B. Pathophysiology and Therapeutic Options for Fecal Incontinence. *J Clin Gastroenterol.* 2017 Apr;51(4):324-30. doi: 10.1097/MCG.0000000000000797.
44. Hite M, Curran T. Biofeedback for pelvic floor disorders. *Clin Colon Rectal Surg.* 2021 Jan;34(1):56-61. doi: 10.1055/s-0040-1714287.
45. Ussing A, Dahn I, Due U, Sørensen M, Petersen J, Bandholm T. Efficacy of supervised pelvic floor muscle training and biofeedback vs attention-control treatment in adults with fecal incontinence. *Clin Gastroenterol Hepatol.* 2019 Oct;17(11):2253-61.e4. doi: 10.1016/j.cgh.2018.12.015.
46. Leroi AM, Siproudhis L, Etienney I, Damon H, Zerbib F, Amarenco G, et al. Transcutaneous electrical tibial nerve stimulation in the treatment of fecal incontinence: a randomized trial (CONSORT 1a). *Am J Gastroenterol.* 2012 Dec;107(12):1888-96. doi: 10.1038/ajg.2012.330.
47. Knowles CH, Horrocks EJ, Bremner SA, Stevens N, Norton C, O'Connell PR, et al. Percutaneous tibial nerve stimulation versus sham electrical stimulation for the treatment of faecal incontinence in adults (CONFIDeNT): a double-blind, multicentre, pragmatic, parallel-group, randomised controlled trial. *Lancet.* 2015 Oct 24;386(10004):1640-8. doi: 10.1016/S0140-6736(15)60314-2.
48. van der Wilt AA, Giuliani G, Kubis C, van Wunnik BPW, Ferreira I, Breukink SO, et al. Randomized clinical trial of percutaneous tibial nerve stimulation versus sham electrical stimulation in patients with faecal incontinence. *Br J Surg.* 2017 Aug;104(9):1167-76. doi: 10.1002/bjs.10590.

49. Simillis C, Lal N, Qiu S, Kontovounisios C, Rasheed S, Tan E, et al. Sacral nerve stimulation versus percutaneous tibial nerve stimulation for faecal incontinence: a systematic review and meta-analysis. *Int J Colorectal Dis.* 2018 May;33(5):645-8. doi: 10.1007/s00384-018-2976-z.
50. Solon JG, Waudby P, O'Grady H. Percutaneous tibial nerve stimulation can improve symptoms and quality of life in selected patients with faecal incontinence - a single-centre 5-year clinical experience. *Surgeon.* 2020 Jun;18(3):154-8. doi: 10.1016/j.surge.2019.08.002.
51. Zyczynski HM, Richter HE, Sung VW, Lukacz ES, Arya LA, Rahn DD, et al. Percutaneous Tibial nerve stimulation vs sham stimulation for fecal incontinence in women: neuromodulation for accidental bowel leakage randomized clinical trial. *Am J Gastroenterol.* 2022 Apr 1;117(4):654-67. doi: 10.14309/ajg.0000000000001605.
52. Frascio M, Mandolino F, Imperatore M, Stabilini C, Fornaro R, Gianetta E, et al. The SECCA procedure for faecal incontinence: a review. *Colorectal Dis.* 2014 Mar;16(3):167-72. doi: 10.1111/codi.12403.
53. Visscher AP, Lam TJ, Meurs-Szojda MM, Felt-Bersma RJF. Temperature-controlled delivery of radiofrequency energy in fecal incontinence: a randomized sham-controlled clinical trial. *Dis Colon Rectum.* 2017 Aug;60(8):860-865. doi: 10.1097/DCR.0000000000000861.
54. Vergara-Fernandez O, Arciniega-Hernández JA, Trejo-Avila M. Long-term outcomes of radiofrequency treatment for fecal incontinence: are the results maintainable? *Int J Colorectal Dis.* 2020 Jan;35(1):173-6. doi: 10.1007/s00384-019-03458-0.
55. Hong KD, Kim JS, Ji WB, Um JW. Midterm outcomes of injectable bulking agents for fecal incontinence: a systematic review and meta-analysis. *Tech Coloproctol.* 2017 Mar;21(3):203-10. doi: 10.1007/s10151-017-1593-0.
56. Jeong H, Hwang SH, Kim HR, Ryu KO, Lim J, Yu HM, et al. Effectiveness of Autologous Fat Graft in Treating Fecal Incontinence. *Ann Coloproctol.* 2019 Jun;35(3):144-51. doi: 10.3393/ac.2018.09.15.
57. Ezra E, Danielsson JM, Graf W. A short-and long-term follow-up study of intersphincteric NASHA Dx implants for fecal incontinence. *Tech Coloproctol.* 2022 Oct;26(10):813-20. doi: 10.1007/s10151-022-02645-6.
58. Trenti L, Biondo S, Noguerales F, Nomdedeu J, Coret A, Scherer R, et al. Outcomes of Gatekeeper™ prosthesis implantation for the treatment of fecal incontinence: a multicenter observational study. *Tech Coloproctol.* 2017 Dec;21(12):963-70. doi: 10.1007/s10151-017-1723-8
59. Brusciano L, Tolone S, Del Genio G, Grossi U, Schiattarella A, Piccolo FP, et al. Middle-term outcomes of gatekeeper implantation for fecal incontinence. *Dis Colon Rectum.* 2020 Apr;63(4):514-9. doi: 10.1097/DCR.0000000000001559.
60. La Torre M, Lisi G, Milito G, Campanelli M, Clementi I. Sphinkeeper™ for faecal incontinence: a preliminary report. *Colorectal Dis.* 2020 Jan;22(1):80-5. doi: 10.1111/codi.14801.

61. Litta F, Parello A, De Simone V, Campenni P, Orefice R, Marra AA, et al. Efficacy of Sphinkeeper™ implant in treating faecal incontinence. *Br J Surg*. 2020 Apr;107(5):484-8. doi: 10.1002/bjs.11558.
62. Muñoz-Duyos A, Lagares-Tena L, Ribas Y, Baanante JC, Navarro-Luna A. Critical appraisal of international guidelines for the management of fecal incontinence in adults: is it possible to define what to do in different clinical scenarios? *Tech Coloproctol*. 2022 Jan;26(1):1-17. doi: 10.1007/s10151-021-02544-2.
63. Deutekom M, Dobben AC. Plugs for containing faecal incontinence. *Cochrane Database Syst Rev*. 2015 Jul 20;2015(7):CD005086. doi: 10.1002/14651858.CD005086.pub4.
64. Da Silva G, Sirany A. Recent advances in managing fecal incontinence. *F1000Res*. 2019 Jul 31;8:F1000 Faculty Rev-1291. doi: 10.12688/f1000research.15270.2.
65. How P, Trivedi PM, Bearn PE, Thomas GP. Insert devices for faecal incontinence. *Tech Coloproctol*. 2021 Mar;25(3):255-65. doi: 10.1007/s10151-020-02317-3.
66. Wald A. Diagnosis and management of fecal incontinence. *Curr Gastroenterol Rep*. 2018 Mar 26;20(3):9. doi: 10.1007/s11894-018-0614-0.
67. Maeda K, Katsuno H, Tsunoda A, Seki M, Takao Y, Mimura T, et al; Fecal Incontinence Guideline Preparation Committee. Japanese Practice Guidelines for Fecal Incontinence Part 3 -Surgical Treatment for Fecal Incontinence, Fecal Incontinence in a Special Conditions- English Version. *J Anus Rectum Colon*. 2021 Jan 28;5(1):84-99. doi: 10.23922/jarc.2020-075.
68. Ivatury SJ, Wilson LR, Paquette IM. Surgical Treatment Alternatives to sacral neuromodulation for fecal incontinence: injectables, sphincter repair, and colostomy. *Clin Colon Rectal Surg*. 2021 Jan;34(1):40-8. doi: 10.1055/s-0040-1714285.
69. Todd I, Parks AG. Section of proctology late repair of injuries of the anal sphincter. *1971;64(1971):35-7*
70. Glasgow SC, Lowry AC. Long-term outcomes of anal sphincter repair for fecal incontinence: a systematic review. *Dis Colon Rectum*. 2012 Apr;55(4):482-90. doi: 10.1097/DCR.0b013e3182468c22.
71. Lamblin G, Bouvier P, Damon H, Chabert P, Moret S, Chene G, et al. Long-term outcome after overlapping anterior anal sphincter repair for fecal incontinence. *Int J Colorectal Dis*. 2014 Nov;29(11):1377-83. doi: 10.1007/s00384-014-2005-9.
72. Barbosa M, Glavind-Kristensen M, Moller Soerensen M, Christensen P. Secondary sphincter repair for anal incontinence following obstetric sphincter injury: functional outcome and quality of life at 18 years of follow-up. *Colorectal Dis*. 2020 Jan;22(1):71-9. doi: 10.1111/codi.14792.
73. Pla-Mart V, Martín-Arévalo J, Marti-Fernandez R, Moro-Valdezate D, Garcia-Botello S, Espi-Macias A, et al. Long-term evolution of continence and quality of life after sphincteroplasty for obstetric fecal incontinence. *Ann Coloproctol*. 2020 Sep 18;38(1):13-9. doi: 10.3393/ac.2020.09.16.

74. Rodrigues FG, Chadi SA, Cracco AJ, Sands DR, Zutshi M, Gurland B, et al. Faecal incontinence in patients with a sphincter defect: comparison of sphincteroplasty and sacral nerve stimulation. *Colorectal Dis.* 2017 May;19(5):456-61. doi: 10.1111/codi.13510.
75. Altomare DF, De Fazio M, Giuliani RT, Catalano G, Cuccia F. Sphincteroplasty for fecal incontinence in the era of sacral nerve modulation. *World J Gastroenterol.* 2010 Nov 14;16(42):5267-71. doi: 10.3748/wjg.v16.i42.5267.
76. McManus BP, Allison S, Hernández-Sánchez J. Anterior sphincteroplasty for fecal incontinence: predicting incontinence relapse. *Int J Colorectal Dis.* 2015 Apr;30(4):513-20. doi: 10.1007/s00384-015-2162-5.
77. Tan EK, Jacovides M, Khullar V, Teoh TG, Fernando RJ, Tekkis PP. A cost-effectiveness analysis of delayed sphincteroplasty for anal sphincter injury. *Colorectal Dis.* 2008 Sep;10(7):653-62. doi: 10.1111/j.1463-1318.2008.01507.x.
78. Thin NN, Horrocks EJ, Hotouras A, Palit S, Thaha MA, Chan CL, et al. Systematic review of the clinical effectiveness of neuromodulation in the treatment of faecal incontinence. *Br J Surg.* 2013 Oct;100(11):1430-47. doi: 10.1002/bjs.9226.
79. Altomare DF, Giuratrabocchetta S, Knowles CH, Muñoz Duyos A, Robert-Yap J, Matzel KE; European SNS Outcome Study Group. Long-term outcomes of sacral nerve stimulation for faecal incontinence. *Br J Surg.* 2015 Mar;102(4):407-15. doi: 10.1002/bjs.9740.
80. Hull T, Giese C, Wexner SD, Mellgren A, Devroede G, Madoff RD, et al. Long-term durability of sacral nerve stimulation therapy for chronic fecal incontinence. *Dis Colon Rectum.* 2013 Feb;56(2):234-45. doi: 10.1097/DCR.0b013e318276b24c.
81. Thaha MA, Abukar AA, Thin NN, Ramsanahie A, Knowles CH. Sacral nerve stimulation for faecal incontinence and constipation in adults. *Cochrane Database Syst Rev.* 2015 Aug 24;2015(8):CD004464. doi: 10.1002/14651858.CD004464.pub3.
82. Ratto C, Litta F, Parello A, Donisi L, De Simone V, Zaccone G. Sacral nerve stimulation in faecal incontinence associated with an anal sphincter lesion: a systematic review. *Colorectal Dis.* 2012 Jun;14(6):e297-304. doi: 10.1111/j.1463-1318.2012.03003.x.
83. Johnson BL 3rd, Abodeely A, Ferguson MA, Davis BR, Rafferty JF, Paquette IM. Is sacral neuromodulation here to stay? Clinical outcomes of a new treatment for fecal incontinence. *J Gastrointest Surg.* 2015 Jan;19(1):15-9; discussion 19-20. doi: 10.1007/s11605-014-2611-4.
84. Brouwer R, Duthie G. Sacral nerve neuromodulation is effective treatment for fecal incontinence in the presence of a sphincter defect, pudendal neuropathy, or previous sphincter repair. *Dis Colon Rectum.* 2010 Mar;53(3):273-8. doi: 10.1007/DCR.0b013e3181ceeb22.
85. Ram E, Meyer R, Carter D, Gutman M, Rosin D, Horesh N. The efficacy of sacral neuromodulation in the treatment of low anterior resection syndrome: a systematic review and meta-analysis. *Tech Coloproctol.* 2020 Aug;24(8):803-15. doi: 10.1007/s10151-020-02231-8.

86. Katuwal B, Bhullar J. Current position of sacral neuromodulation in treatment of fecal incontinence. *Clin Colon Rectal Surg.* 2021 Jan;34(1):22-7. doi: 10.1055/s-0040-1714247.
87. Janssen PT, Kuiper SZ, Stassen LP, Bouvy ND, Breukink SO, Melenhorst J. Fecal incontinence treated by sacral neuromodulation: Long-term follow-up of 325 patients. *Surgery.* 2017 Apr;161(4):1040-8. doi: 10.1016/j.surg.2016.10.038.
88. Duelund-Jakobsen J, Lehur PA, Lundby L, Wyart V, Laurberg S, Buntzen S. Sacral nerve stimulation for faecal incontinence - efficacy confirmed from a two-centre prospectively maintained database. *Int J Colorectal Dis.* 2016 Feb;31(2):421-8. doi: 10.1007/s00384-015-2411-7.
89. Leo CA, Thomas GP, Bradshaw E, Karki S, Hodgkinson JD, Murphy J, et al. Long-term outcome of sacral nerve stimulation for faecal incontinence. *Colorectal Dis.* 2020 Dec;22(12):2191-8. doi: 10.1111/codi.15369
90. Picciariello A, Rinaldi M, Dibra R, Trigiante G, Tomasicchio G, Lantone G, et al. Ageing with sacral nerve modulation for fecal incontinence: how many patients get benefit after more than 10 years? *Updates Surg.* 2022 Feb;74(1):185-91. doi: 10.1007/s13304-021-01229-7.
91. Varghese C, Wells CI, O'Grady G, Bissett IP. Costs and outcomes of sacral nerve stimulation for faecal incontinence in New Zealand: a 10-year observational study. *ANZ J Surg.* 2020 Apr;90(4):569-75. doi: 10.1111/ans.15656.
92. Norton C, Burch J, Kamm MA. Patients' views of a colostomy for fecal incontinence. *Dis Colon Rectum.* 2005 May;48(5):1062-9. doi: 10.1007/s10350-004-0868-5.
93. Colquhoun P, Kaiser R Jr, Efron J, Weiss EG, Nogueras JJ, Vernava AM 3rd, et al. Is the quality of life better in patients with colostomy than patients with fecal incontinence? *World J Surg.* 2006 Oct;30(10):1925-8. doi: 10.1007/s00268-006-0531-5.
94. Gurusamy KS, Marzouk D, Benziger H. A review of contemporary surgical alternatives to permanent colostomy. *Int J Surg.* 2005;3(3):193-205. doi: 10.1016/j.ijso.2005.07.004.
95. Heald RJ, Smedh RK, Kald A, Sexton R, Moran BJ. Abdominoperineal excision of the rectum--an endangered operation. Norman Nigro Lectureship. *Dis Colon Rectum.* 1997 Jul;40(7):747-51. doi: 10.1007/BF02055425.
96. Lange MM, Rutten HJ, van de Velde CJ. One hundred years of curative surgery for rectal cancer: 1908-2008. *Eur J Surg Oncol.* 2009 May;35(5):456-63. doi: 10.1016/j.ejso.2008.09.012.
97. Hawkins AT, Albutt K, Wise PE, Alavi K, Sudan R, Kaiser AM, et al. Abdominoperineal Resection for Rectal Cancer in the Twenty-First Century: Indications, Techniques, and Outcomes. *J Gastrointest Surg.* 2018 Aug;22(8):1477-87. doi: 10.1007/s11605-018-3750-9.

98. Garcia-Henriquez N, Galante DJ, Monson JRT. Selection and outcomes in abdominoperineal resection. *Front Oncol.* 2020 Aug 18;10:1339. doi: 10.3389/fonc.2020.01339.
99. Heald RJ, Husband EM, Ryall RD. The mesorectum in rectal cancer surgery--the clue to pelvic recurrence? *Br J Surg.* 1982 Oct;69(10):613-6. doi: 10.1002/bjs.1800691019.
100. Rullier E, Laurent C, Bretagnol F, Rullier A, Vendrely V, Zerbib F. Sphincter-saving resection for all rectal carcinomas: the end of the 2-cm distal rule. *Ann Surg.* 2005 Mar;241(3):465-9. doi: 10.1097/01.sla.0000154551.06768.e1.
101. Habr-Gama A, de Souza PM, Ribeiro U Jr, Nadalin W, Gansl R, Sousa AH Jr, et al. Low rectal cancer: impact of radiation and chemotherapy on surgical treatment. *Dis Colon Rectum.* 1998 Sep;41(9):1087-96. doi: 10.1007/BF02239429.
102. Habr-Gama A, Perez RO, São Julião GP, Proscurshim I, Gama-Rodrigues J. Nonoperative approaches to rectal cancer: a critical evaluation. *Semin Radiat Oncol.* 2011 Jul;21(3):234-9. doi: 10.1016/j.semradonc.2011.02.010.
103. Maurer CA, Renzulli P, Kull C, Käser SA, Mazzucchelli L, Ulrich A, et al. The impact of the introduction of total mesorectal excision on local recurrence rate and survival in rectal cancer: long-term results. *Ann Surg Oncol.* 2011 Jul;18(7):1899-906. doi: 10.1245/s10434-011-1571-0.
104. Ricciardi R, Virnig BA, Madoff RD, Rothenberger DA, Baxter NN. The status of radical proctectomy and sphincter-sparing surgery in the United States. *Dis Colon Rectum.* 2007 Aug;50(8):1119-27. doi: 10.1007/s10350-007-0250-5.
105. Mak JCK, Foo DCC, Wei R, Law WL. Sphincter-preserving surgery for low rectal cancers: incidence and risk factors for permanent stoma. *World J Surg.* 2017 Nov;41(11):2912-22. doi: 10.1007/s00268-017-4090-8.
106. Zhou X, Wang B, Li F, Wang J, Fu W. Risk Factors associated with nonclosure of defunctioning stomas after sphincter-preserving low anterior resection of rectal cancer: a meta-analysis. *Dis Colon Rectum.* 2017 May;60(5):544-54. doi: 10.1097/DCR.0000000000000819.
107. Kim S, Kim MH, Oh JH, Jeong SY, Park KJ, Oh HK, et al. Predictors of permanent stoma creation in patients with mid or low rectal cancer: results of a multicentre cohort study with preoperative evaluation of anal function. *Colorectal Dis.* 2020 Apr;22(4):399-407. doi: 10.1111/codi.14898.
108. Ma C, Almutairdi A, Tanyingoh D, Seow CH, Novak KL, Lu C, et al. Reduction in surgical stoma rates in Crohn's disease: a population-based time trend analysis. *Colorectal Dis.* 2019 Nov;21(11):1279-87. doi: 10.1111/codi.14731.
109. Müller C, Bergmann M, Stift A, Argeny S, Speake D, Unger L, et al. Restoration of intestinal continuity after stoma formation for Crohn's disease in the era of biological therapy: a retrospective cohort study. *Wien Klin Wochenschr.* 2020 Jan;132(1-2):12-8. doi: 10.1007/s00508-019-01586-9.

110. Coscia M, Gentilini L, Laureti S, Gionchetti P, Rizzello F, Campieri M, et al. Risk of permanent stoma in extensive Crohn's colitis: the impact of biological drugs. *Colorectal Dis.* 2013 Sep;15(9):1115-22. doi: 10.1111/codi.12249.
111. Pickrell KL, Broadbent TR, Masters FW, Metzger JT. Construction of a rectal sphincter and restoration of anal continence by transplanting the gracilis muscle; a report of four cases in children. *Ann Surg.* 1952 Jun;135(6):853-62. doi: 10.1097/00000658-195206000-00010.
112. Leguit P Jr, van Baal JG, Brummelkamp WH. Gracilis muscle transposition in the treatment of fecal incontinence. Long-term follow-up and evaluation of anal pressure recordings. *Dis Colon Rectum.* 1985 Jan;28(1):1-4. doi: 10.1007/BF02553893.
113. Simonsen OS, Stolf NA, Aun F, Raia A, Habr-Gama A. Rectal sphincter reconstruction in perineal colostomies after abdominoperineal resection for cancer. *Br J Surg.* 1976 May;63(5):389-91. doi: 10.1002/bjs.1800630514.
114. Knol ME, Snijders HS, DeRuiter MC, Koch SMP, van der Heyden JTM, Baeten CIM. Non-dynamic graciloplasty is an effective treatment for patients with passive fecal incontinence. *Tech Coloproctol.* 2021 Jul;25(7):849-55. doi: 10.1007/s10151-021-02455-2.
115. Baeten C, Spaans F, Fluks A. An implanted neuromuscular stimulator for fecal continence following previously implanted gracilis muscle. Report of a case. *Dis Colon Rectum.* 1988 Feb;31(2):134-7. doi: 10.1007/BF02562646.
116. Matzel KE, Madoff RD, LaFontaine LJ, Baeten CG, Buie WD, Christiansen J, et al. Complications of dynamic graciloplasty: incidence, management, and impact on outcome. *Dis Colon Rectum.* 2001 Oct;44(10):1427-35. doi: 10.1007/BF02234593.
117. Penninckx F. Belgian experience with dynamic gracitoplasty for faecal incontinence. *Br J Surg.* 2004;91(7):872-8. doi:10.1002/bjs.4568.
118. Chapman AE, Geerdes B, Hewett P, Young J, Eyers T, Kiroff G, et al. Systematic review of dynamic graciloplasty in the treatment of faecal incontinence. *Br J Surg.* 2002 Feb;89(2):138-53. doi: 10.1046/j.0007-1323.2001.02018.x
119. Sato T, Konishi F. Functional perineal colostomy with pudendal nerve anastomosis following anorectal resection: an experimental study. *Surgery.* 1996 Jun;119(6):641-51. doi: 10.1016/s0039-6060(96)80188-7.
120. Sato T, Konishi F, Kanazawa K. Anal sphincter reconstruction with a pudendal nerve anastomosis following abdominoperineal resection: report of a case. *Dis Colon Rectum.* 1997 Dec;40(12):1497-502; discussion 1502-3. doi: 10.1007/BF02070719.
121. Sato T, Konishi F, Endoh N, Uda H, Sugawara Y, Nagai H. Long-term outcomes of a neo-anus with a pudendal nerve anastomosis contemporaneously reconstructed with an abdominoperineal excision of the rectum. *Surgery.* 2005 Jan;137(1):8-15. doi: 10.1016/j.surg.2004.05.046.

122. Christiansen J, Lorentzen M. Implantation of artificial sphincter for anal incontinence. Report of five cases. *Dis Colon Rectum*. 1989 May;32(5):432-6. doi: 10.1007/BF02563699.
123. Christiansen J, Sparsø B. Treatment of anal incontinence by an implantable prosthetic anal sphincter. *Ann Surg*. 1992 Apr;215(4):383-6. doi: 10.1097/00000658-199204000-00013.
124. Wong MT, Meurette G, Wyart V, Glemain P, Lehur PA. The artificial bowel sphincter: a single institution experience over a decade. *Ann Surg*. 2011 Dec;254(6):951-6. doi: 10.1097/SLA.0b013e31823ac2bc.
125. Hong KD, Dasilva G, Kalaskar SN, Chong Y, Wexner SD. Long-term outcomes of artificial bowel sphincter for fecal incontinence: a systematic review and meta-analysis. *J Am Coll Surg*. 2013 Oct;217(4):718-25. doi: 10.1016/j.jamcollsurg.2013.04.028.
126. van der Wilt AA, Breukink SO, Sturkenboom R, Stassen LP, Baeten CG, Melenhorst J. The artificial bowel sphincter in the treatment of fecal incontinence, long-term complications. *Dis Colon Rectum*. 2020 Aug;63(8):1134-1141. doi: 10.1097/DCR.0000000000001683.
127. Lehur PA, Christoforidis D, Meurette G. Artificial sphincters to treat severe fecal incontinence: currently in a deadlock. *Dis Colon Rectum*. 2020 Aug;63(8):1017-9. doi: 10.1097/DCR.0000000000001708.
128. Finlay IG, Richardson W, Hajivassiliou CA. Outcome after implantation of a novel prosthetic anal sphincter in humans. *Br J Surg*. 2004 Nov;91(11):1485-92. doi: 10.1002/bjs.4721.
129. Goos M, Baumgartner U, Löhnert M, Thomusch O, Ruf G. Experience with a new prosthetic anal sphincter in three coloproctological centres. *BMC Surg*. 2013 Oct 8;13:45. doi: 10.1186/1471-2482-13-45.
130. Fattorini E, Brusa T, Gingert C, Hieber SE, Leung V, Osmani B, et al. Artificial Muscle Devices: Innovations and Prospects for Fecal Incontinence Treatment. *Ann Biomed Eng*. 2016 May;44(5):1355-69. doi: 10.1007/s10439-016-1572-z.
131. Han D, Yan G, Wang Z, Jiang P, Liu D, Zhao K, Ma J. An artificial anal sphincter based on a novel clamping mechanism: Design, analysis, and testing. *Artif Organs*. 2021 Aug;45(8):E293-E303. doi: 10.1111/aor.13924.
132. Wong MT, Meurette G, Stangherlin P, Lehur PA. The magnetic anal sphincter versus the artificial bowel sphincter: a comparison of 2 treatments for fecal incontinence. *Dis Colon Rectum*. 2011 Jul;54(7):773-9. doi: 10.1007/DCR.0b013e3182182689.
133. Lehur PA, McNevin S, Buntzen S, Mellgren AF, Laurberg S, Madoff RD. Magnetic anal sphincter augmentation for the treatment of fecal incontinence: a preliminary report from a feasibility study. *Dis Colon Rectum*. 2010 Dec;53(12):1604-10. doi: 10.1007/DCR.0b013e3181f5d5f7.

134. Sugrue J, Lehur PA, Madoff RD, McNevin S, Buntzen S, Laurberg S, et al. Long-term experience of magnetic anal sphincter augmentation in patients with fecal incontinence. *Dis Colon Rectum*. 2017 Jan;60(1):87-95. doi: 10.1097/DCR.0000000000000709.
135. Williams AE, Croft J, Napp V, Corrigan N, Brown JM, Hulme C, et al. SaFaRI: sacral nerve stimulation versus the FENIX magnetic sphincter augmentation for adult faecal incontinence: a randomised investigation. *Int J Colorectal Dis*. 2016 Feb;31(2):465-72. doi: 10.1007/s00384-015-2492-3.
136. Jayne DG, Williams AE, Corrigan N, Croft J, Pullan A, Napp V, et al. Sacral nerve stimulation versus the magnetic sphincter augmentation device for adult faecal incontinence: the SaFaRI RCT. *Health Technol Assess*. 2021 Mar;25(18):1-96. doi: 10.3310/hta25180.
137. Grant D, Abu-Elmagd K, Reyes J, Tzakis A, Langnas A, Fishbein T, et al. 2003 report of the intestine transplant registry: a new era has dawned. *Ann Surg*. 2005 Apr;241(4):607-13. doi: 10.1097/01.sla.0000157265.85388.a1.
138. Sapisochin G, Bruix J. Liver transplantation for hepatocellular carcinoma: outcomes and novel surgical approaches. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*. 2017 Apr;14(4):203-17. doi: 10.1038/nrgastro.2016.193.
139. Gorgen A, Muaddi H, Zhang W, McGilvray I, Gallinger S, Sapisochin G. The new era of transplant oncology: liver transplantation for nonresectable colorectal cancer liver metastases. *Can J Gastroenterol Hepatol*. 2018 Jan 10;2018:9531925. doi: 10.1155/2018/9531925.
140. Glanville AR, Wilson BE. Lung transplantation for non-small cell lung cancer and multifocal bronchioalveolar cell carcinoma. *Lancet Oncol*. 2018 Jul;19(7):e351-e358. doi: 10.1016/S1470-2045(18)30297-3.
141. Rushmore JD. IV. Anorectal transplantation. *Ann Surg*. 1901 Nov;34(5):655-9. doi: 10.1097/00000658-190107000-00069.
142. Nainan KM, Mitra SK, Pathak IC. Perineal anal transplant in anorectal malformation in female patients. *Surgery*. 1975 May;77(5):694-702.
143. Saxena N, Bhattacharyya NC, Katariya S, Mitra SK, Pathak IC. Perineal anal transplant in low anorectal anomalies. *Surgery*. 1981 Sep;90(3):464-7.
144. O'Bichere A, Shurey S, Sibbons P, Green C, Phillips RK. Experimental model of anorectal transplantation. *Br J Surg*. 2000 Nov;87(11):1534-9. doi: 10.1046/j.1365-2168.2000.01557.x.
145. Galvão FHF, Waitzberg DL, Bacchella T, Gama-Rodrigues J, Cesar-Machado MC. Transplante de intestino delgado. *Arq Gastroenterol*. 2003;40(2):118-25.
146. Galvão FHF, Lee A, Pinheiro R, Macedo R, Bronze R, Nacif L, et al. Intestinal and multivisceral transplantation at Hospital das Clinicas da Faculdade de Medicina da Universidade de Sao Paulo (HC-FMUSP) – Brazil. In: XVI Congresso Brasileiro de Transplante, Campinas. Anais. 2019;p.4.57.

147. Andraus W, Pinheiro RS, Fortunato AC, Galvão FHF, Arantes Junior RM, Waisberg DR, et al. First successful isolated intestinal transplant in a brazilian series. *Clinics (Sao Paulo)*. 2021 Oct 29;76:e3016. doi: 10.6061/clinics/2021/e3016.
148. Dong A, Lee W, Gama-Rodrigues J, Galvão FH, Waitzberg DL. Study of morbidity in orthotopic small intestine transplantation with wistar rats. *Experimental study. Arq Gastroenterol*. 2002;39(1):39-47.
149. Galvão FHF, Santos RMN, Machado MAC, Bacchella T, Machado MCC. Simplified rat model of intestinal transplantation. *Transplantation*. 2005;80(10):1522-3. doi:10.1097/01.tp.0000184448.86704.c8.
150. Galvão FHF, Pompeu E, Panajotopoulos N, Santos VR, Bacchella T, Machado MCC. Transplante ortotópico de intestino delgado em cães com drenagem sistêmica do enxerto. *Arq Gastroenterol* 2005;42(3):182-5.
151. Galvão FH, Santos RM, Neto AB, Machado MA, Bacchella T, Machado MC. Small bowel and colon transplantation in rats using porto-portal cuff anastomosis. *Transplant Proc*. 2006 Jul-Aug;38(6):1842-3. doi: 10.1016/j.transproceed.2006.05.062.
152. Galvão FH, Seid VE, Nunes dos Santos RM, Kitamura M, de Castro Galvão R, Ambar Pinto R, et al. Anorectal transplantation. *Tech Coloproctol*. 2009 Mar;13(1):55-9. doi: 10.1007/s10151-009-0459-5.
153. Galvão FH, Waisberg DR, De Mello Vianna RM, De Castro Galvão R, Seid VE, Andraus W, et al. Intestinal transplantation including anorectal segment in the rat. *Microsurgery*. 2012 Jan;32(1):77-9. doi: 10.1002/micr.20958.
154. Araki J, Mihara M, Narushima M, Iida T, Sato T, Koshima I. Vascularized anal autotransplantation model in rats: preliminary report. *Transplant Proc*. 2011 Nov;43(9):3552-6. doi: 10.1016/j.transproceed.2011.08.042
155. Araki J, Nishizawa Y, Nakamura T, Sato T, Naito M, Fujii S, et al. The development of a canine anorectal autotransplantation model based on blood supply: a preliminary case report. *PLoS One*. 2012;7(9):e44310. doi: 10.1371/journal.pone.0044310.
156. Araki J, Nishizawa Y, Sato T, Naito M, Akita K, Tashiro K, et al. Anorectal transplantation in human cadavers: mock anorectal allotransplantation. *PLoS One*. 2013 Jul 11;8(7):e68977. doi: 10.1371/journal.pone.0068977.
157. Araki J, Nishizawa Y, Nakamura T, Sato T, Naito M, Hatayama N, et al. Anorectal autotransplantation in a canine model: the first successful report in the short term with the non-laparotomy approach. *Sci Rep*. 2014 Sep 10;4:6312. doi: 10.1038/srep06312.
158. Galvao FH, Seid VE, Waisberg DR, Cruz RJ Jr, Hirano H, Catanozi S, et al. An innovative model of autologous anorectal transplantation with pudendal nerve reconstruction. *Clinics (Sao Paulo)*. 2012 Aug;67(8):971-2. doi: 10.6061/clinics/2012(08)20.
159. Machado MA, Galvão FH, Pompeu E, Ribeiro C, Bacchella T, Machado MC. A canine model of laparoscopic segmental liver resection. *J Laparoendosc Adv Surg Tech A*. 2004 Oct;14(5):325-8. doi: 10.1089/lap.2004.14.325.

160. Galvão FH, Pompeu E, de Mello ES, da Costa Lino Costa A, Mory E, Dos Santos RM, et al. Experimental multivisceral xenotransplantation. *Xenotransplantation*. 2008 May-Jun;15(3):184-90. doi: 10.1111/j.1399-3089.2008.00470.x.
161. Chaib E, Galvão FH, Rocha-Filho JA, Silveira BL, Chen L, de C Carvalho MP, et al. Total pancreatectomy: porcine model for inducing diabetes - anatomical assessment and surgical aspects. *Eur Surg Res*. 2011;46(1):52-5. doi: 10.1159/000321876.
162. Canedo BF, Galvao FH, Ducatti L, Nacif LS, Catanozi S, Soler WV, et al. Liver autotransplantation in pigs without venovenous bypass: a simplified model using a supraceliac aorta cross-clamping maneuver. *Ann Transplant*. 2015 Jun 9;20:320-6. doi: 10.12659/AOT.892836.
163. Dondelinger RF, Ghysels MP, Brisbois D, Donkers E, Snaps FR, Saunders J, et al. Relevant radiological anatomy of the pig as a training model in interventional radiology. *Eur Radiol*. 1998;8(7):1254-73. doi: 10.1007/s003300050545.
164. Góes Junior AMO, Chaves RHF, Furlaneto IP, Rodrigues EM, Albuquerque FBA, Smit JHA, et al. Estudo de anatomia comparada suína por angiotomografia: contribuições para modelos de pesquisa e treinamento em cirurgia vascular e endovascular. *J Vasc Bras*. 2021;20:1-12. doi:10.1590/1677-5449.200086.
165. Software Anatomia do Suíno 3D. (3D- Pig-Anatomy), v2-0-2 a); Biosphera. Disponível em português, inglês, espanhol, francês, alemão e latim. Disponível em: <https://biosphera3d.com.br/produto/software-anatomia-do-suino-3d/>.
166. Mehl JB, Vicente YA, Dantas RO, Elias J Jr, Cambrea CR, Rocha MC. Experimental model for study of anorectal sphincter musculature by manometry and computerized tomography in piglets. *Pediatr Surg Int*. 2008 Jan;24(1):81-5. doi: 10.1007/s00383-007-2030-7.
167. Brännström M, Dahm Kähler P, Greite R, Mölne J, Díaz-García C, Tullius SG. Uterus transplantation: a rapidly expanding field. *Transplantation*. 2018 Apr;102(4):569-77. doi: 10.1097/TP.0000000000002035.
168. Sikorski A, Olszewski J, Miekoś E. Anatomical considerations of selective pudendal neurectomy. *Int Urol Nephrol*. 1987;19(2):159-63. doi: 10.1007/BF02550467.
169. Cherry DA, Rothenberger DA. Pelvic floor physiology. *Surg Clin North Am*. 1988 Dec;68(6):1217-30. doi: 10.1016/s0039-6109(16)44682-7.
170. Barleben A, Mills S. Anorectal anatomy and physiology. *Surg Clin North Am*. 2010 Feb;90(1):1-15, Table of Contents. doi: 10.1016/j.suc.2009.09.001.
171. Yu SW, Rao SS. Anorectal physiology and pathophysiology in the elderly. *Clin Geriatr Med*. 2014 Feb;30(1):95-106. doi: 10.1016/j.cger.2013.10.003.
172. Loganathan A, Schloithe AC, Hakendorf P, Liyanage CM, Costa M, Wattoo D. Prolonged pudendal nerve terminal motor latency is associated with decreased resting and squeeze pressures in the intact anal sphincter. *Colorectal Dis*. 2013 Nov;15(11):1410-5. doi: 10.1111/codi.12368.

173. van Meegdenburg MM, Heineman E, Broens PM. Pudendal neuropathy alone results in urge incontinence rather than in complete fecal incontinence. *Dis Colon Rectum*. 2015 Dec;58(12):1186-93. doi: 10.1097/DCR.0000000000000497.
174. Jonker JE, van Meegdenburg MM, Trzpis M, Broens PMA. The puborectal continence reflex functions independently of the pudendal nerve. *Colorectal Dis*. 2019 Nov;21(11):1296-303. doi: 10.1111/codi.14750.
175. Percy JP, Neill ME, Swash M, Parks AG. Electrophysiological study of motor nerve supply of pelvic floor. *Lancet*. 1981 Jan 3;1(8210):16-7. doi: 10.1016/s0140-6736(81)90117-3.
176. Shafik A. Origin of rectal electric waves: further study. *Dis Colon Rectum*. 1999 Dec;42(12):1626-31. doi: 10.1007/BF02236219.
177. Shafik A, Shafik AA, El Sibai O, Ahmed I, Mostafa RM. Role of the rectosigmoidal junction in fecal continence: concept of the primary continent mechanism. *Arch Surg*. 2006 Jan;141(1):23-6. doi: 10.1001/archsurg.141.1.23.
178. Zutshi M, Salcedo LB, Zaszczurynski PJ, Hull TL, Butler RS, Damaser MS. Effects of sphincterotomy and pudendal nerve transection on the anal sphincter in a rat model. *Dis Colon Rectum*. 2009 Jul;52(7):1321-9. doi: 10.1007/DCR.0b013e31819f746d.
179. Salcedo L, Damaser M, Butler R, Jiang HH, Hull T, Zutshi M. Long-term effects on pressure and electromyography in a rat model of anal sphincter injury. *Dis Colon Rectum*. 2010 Aug;53(8):1209-17. doi: 10.1007/DCR.0b013e3181de7fe0.
180. Mehl JB, de Andrade Vicente YA, de Oliveira Dantas R, Elias Junior J, Cambrea CR, Rocha MC. Acute alterations in anorectal manometry induced by proximal and distal sphincterotomy. *Experimental studies on piglets. Pediatr Surg Int*. 2008 Jan;24(1):87-94. doi: 10.1007/s00383-007-2031-6.
181. Lorenzi M, Vernillo R, Garzi A, Vindigni C, D'Onofrio P, Angeloni GM, et al. Experimental internal anal sphincter replacement with demucosated colonic plication. *Tech Coloproctol*. 2003 Apr;7(1):9-16. doi: 10.1007/s101510300002.
182. Erdogan E, Rode H, Hickman R, Cywes S. Transposition of the antropylorus for anal incontinence--an experimental model in the pig. *J Pediatr Surg*. 1995 Jun;30(6):795-800. doi: 10.1016/0022-3468(95)90750-5.

ANEXO A – Aprovação da Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA)



Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo
Avenida Dr. Arnaldo, 455
Pacaembu – São Paulo – SP

COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS

Certificamos que a proposta intitulada “**Autotransplante Anorretal em Porcos**”, registrada com o nº **005/17**, sob a responsabilidade de **Flávio Henrique Ferreira Galvão** e **Juliana Barreto Salem**, apresentado pelo Departamento de Gastroenterologia - que envolve a produção, manutenção e/ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto humanos), para fins de pesquisa científica (ou ensino) - encontra-se de acordo com os preceitos da Lei nº 11.794, de 8 de outubro de 2008, do Decreto nº 6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA), e foi aprovada pela COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS (CEUA) da Faculdade de Medicina da USP em 21.02.2017

Finalidade	() Ensino (x) Pesquisa Científica
Vigência da autorização	Início: 01-02-2017 Término: 01-02-2019
Espécie/linhagem/raça	Suíno
Nº de animais	10
Peso/Idade	40-60 kg
Sexo	machos
Origem	Granja RG

CEUA-FMUSP, 21 de Fevereiro de 2017

Dr. Eduardo Pompeu
Coordenador
Comissão de Ética no Uso de Animais

Anexo B – Prorrogação do prazo para execução do projeto de pesquisa

A **CEUA** da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, em 21/08/2019, **APROVOU o documento** abaixo mencionado para o protocolo de pesquisa nº **005/17** intitulado **“Autotransplante Anorretal em Porcos”** apresentado pelo Departamento de Cirurgia.

- Prorrogação de prazo do projeto para **Agosto de 2022**

Pesquisador Responsável: Flávio Henrique Ferreira Galvão

CEUA-FMUSP, 21 de Agosto de 2019



Dr. Eduardo Pompeu
Coordenador
Comissão de Ética no Uso de Animais

Anexo C – Aprovação da Comissão Ético-Científica do Departamento de Gastroenterologia



São Paulo, 16 de dezembro de 2016.

Ilmos. Srs.

Pesquisador Responsável: Dr. Flavio Henrique Ferreira Galvão**Pesquisadora Executante: Juliana Barreto Salem****Prezados pesquisadores,**

Atendendo sua solicitação, a **Comissão Ético-Científica do Departamento de Gastroenterologia da FMUSP**, **analisou** o seu projeto de pesquisa, intitulado: **intitulado: AUTOTRANSPLANTE ANORRETAL EM PORCOS**. Co-autor: Bernardo Fernandes Canedo.

Parecer:

Trata-se de Projeto de Pesquisa Experimental, que segue uma Linha de Pesquisa do Laboratório de Transplante e Cirurgia do Fígado.

Nesse estudo os autores descrevem minuciosamente os objetivos e a metodologia que desenvolverão para executar o estudo, que se desenvolverá em porcos, estudando a evolução do transplante autólogo anorretal através de parâmetros clínicos, histológicos e funcionais.

Do ponto de vista de temática, o estudo é moderno, atual e compreende pesquisa absolutamente necessária na doença em questão (incontinência fecal).

Do ponto de vista de metodologia, o estudo está muito bem descrito e desenhado. Existe apenas a necessidade de se corrigir erros de português (vírgulas, há, etc). Acredito que se os autores concordarem em aumentar o número de animais para 20, isso irá enriquecer os resultados.

Não existem conflitos éticos a serem analisados.

Dessa forma, tendo em vista a importância do tema, a qualidade do desenho experimental e o pioneirismo em nosso meio, o estudo pode ser aprovado com as alterações propostas.

Situação: Aprovado com sugestões.

Atenciosamente,

Prof. Dr. Tomas Navarro Rodriguez
Presidente da Comissão Ético-Científica do
Departamento de Gastroenterologia da FMUSP

Anexo D – Fichas protocolares do autoTAR em suínos**MODELO DE AUTO-TRANSPLANTE ANORRETAL EM SUÍNOS/ EXP N^o****I- PRÉ OPERATÓRIO****Data da entrega:****Origem:****Local de entrega:****Raça :****Sexo:****Peso:**

Hemograma:

Estado geral:

Dieta:

Aceitação de dieta:

Hábito intestinal (aspectos das fezes):

Presença de sintomas:

* Sintomas:

Dias de observação:

Jejum absoluto:

MODELO DE AUTO-TRANSPLANTE ANORRETAL EM SUÍNOS / EXP Nº: _____**II- CIRURGIA****Data:****Nº de equipes:****Cirurgiões:**

SEDAÇÃO:

TRANSPORTE:

PESAGEM:

HEMOGRAMA:

GASOMETRIA:

MANOMETRIA PRÉ OPERATÓRIA:

Técnica estacionada com animal em decúbito lateral D:

4 canais () 8 canais ()

Pressão máx: Pressão min: Média:

POSICIONAMENTO:

ANTISSEPSIA:

INÍCIO DA ANESTESIA:

INDUÇÃO-

MANUTENÇÃO-

ANTIBIÓTICOS:

INÍCIO DA CIRURGIA:

DISSECÇÃO ABDOMINAL (retal e vascular):

INÍCIO - FIM-

DISSECÇÃO ANORRETAL:

INÍCIO-	FIM-			
CLAMPEAMENTO AORTA INFERIOR: PARCIAL () TOTAL ()				
INÍCIO -	FIM-			
CLAMPEAMENTO DA VEIA CAVA INFERIOR:				
INÍCIO-	FIM-			
RETIRADA DA PEÇA:				
TEMPO EM SOLUÇÃO DE PRESERVAÇÃO (1000 SF + 5 MIL UI HEP. 0-4 GRAUS):				
INÍCIO-	FIM-			
BACKTABLE: INÍCIO-	FIM-			
RESSECÇÃO DE SEGMENTO DA PEÇA : () SIM () NÃO				
DIMENSÕES VASCULARES:				
AMI=	PATCH ARTERIAL=	VMI=	RETO=	ESFÍNCTER=
SUTURA DA AORTA (PROLENE 6.0): NÃO ()		SIM ()		
INÍCIO-	FIM-			
HEPARINIZAÇÃO SISTÊMICA DO ANIMAL: NÃO ()		SIM ()		
Momento da heparinização:				
DOSE : 200UI /KG (). 400UI/KG ()				
SEQUÊNCIA DAS ANASTOMOSES:				
() COLORRETAL -> VASCULARES. () VASCULARES -> COLORRETAL				
ANASTOMOSE COLORRETAL (TT C/ PROLENE 3.0 OU PDS 4.0):				
ANTES DA REPERFUSÃO: SIM () NÃO ()				
INÍCIO-	FIM-			
ANASTOMOSE ARTERIAL (TÉRMINO LATERAL NA AORTA C/ PROLENE 7.0):				
T-L NO MESMO LOCAL () T-L NA AORTA ACIMA DO LOCAL ()				

INÍCIO- FIM-

ANASTOMOSE VENOSA (PROLENE 8.0):

T-T C/ VMI () T-L NA CAVA ()

INÍCIO- FIM-

DESCLAMPEAMENTO DA AORTA:

REVASCULARIZAÇÃO/ DESCLAMPEAMENTO DA CAVA:

TEMPO DE ISQUEMIA TOTAL=

TEMPO DE ISQUEMIA QUENTE =

PULSAÇÃO VASCULAR:

() AUSENTE () FRACA () FORTE

COLORAÇÃO DO ENXERTO: () ARROCHEADA () LEVEMENTE ARROCHEADA () ROSA

RECONSTRUÇÃO ANORRETOPERINEAL (PROLENE 4.0, 3.0 E 2.0)

INÍCIO- FIM-

IDENTIFICAÇÃO E SÍNTESE DO PUDENDO: SIM () NÃO ()

FECHAMENTO DA PAREDE:

INÍCIO: FIM:

Planos:

Fios:

FIM DA CIRURGIA:

DEFECHOS OPERATÓRIOS:

ÓBITO: () SIM () NÃO

MOTIVO DO ÓBITO:

PARÂMETROS VITAIS: PA- FC- TEMP- FR-

HEMOGRAMA:

GASOMETRIA:

MANUTENSÃO DE ACESSO VASCULAR : SIM () NÃO ()

CENTRAL: SIM () NÃO ()

ASPECTO DO ENXERTO/ANAL:

COR DA ANODERME : () ARROCHEADA () LEVEMENTE ARROCHEADA () ROSA

COR DA MUCOSA: () ARROCHEADA () LEVEMENTE ARROCHEADA () ROSA

TÔNUS APARENTE: () AUSENTE. () PRESENTE

MANOMETRA PÓS OPERATÓRIA: () SIM () NÃO

Técnica estacionada com animal em decúbito lateral D:

4 canais () 8 canais ()

Pressão máx: Pressão min: Média:

MODELO DE AUTO-TRANSPLANTE ANORRETAL EM SUÍNOS / EXP N^o:**III- PÓS- OPERATÓRIO** (1^o, 2^o, 7^o, 14^o e 28^o PO)**1^o PO**

ESTADO GERAL: () BOM () REGULAR () RUIM

DEAMBULAÇÃO: () NÃO () COM ESTÍMULO () POUCA () NORMAL

FO ABDOMINAL:

ASPECTO ANAL:

COL. DA ANODERME : () ARROCHEADA () LEVEMENTE ARROCHEADA () ROSA

COL. DA MUCOSA: () ARROCHEADA () LEVEMENTE ARROCHEADA () ROSA

EDEMA : () SIM () NÃO TÔNUS APARENTE: () AUSENTE. () PRESENTE

COMPLICAÇÕES NÃO RELACIONADAS AO ENXERTO:

ACEITAÇÃO DE DIETA LÍQUIDA: () NÃO () POUCA () BOA

EVACUAÇÃO: () SIM () NÃO

ASPECTO DAS FEZES () DIARREICAS () NORMAIS

PRESENÇA DE ACESSO VENOSO: () SIM. () NÃO

ANALGESIA: () VENOSA. () IM

DIPIRONA: TRAMADOL: CETOPROFENO:

ANTIBIÓTICOTERPIA (ROCEFIM 1 G) : () SIM () NÃO

() VENOSA () IM

HEPARINIZAÇÃO: () SIM. () NÃO

DOSE: () 200UI/KG. () 400 UI/KG

ÓBITO: () SIM. () NÃO

EUTANÁSIA () SIM. () NÃO

RETIRADA PEÇA () NÃO () EM VIDA. () AUTÓPSIA

MODELO DE AUTO-TRANSPLANTE ANORRETAL EM SUÍNOS / EXP N^o: _____**III- PÓS- OPERATÓRIO****30^o PO**

ESTADO GERAL: () BOM () REGULAR () RUIM

DEAMBULAÇÃO: () NÃO () COM ESTÍMULO () POUCA () NORMAL

FO ABDOMINAL:

ASPECTO ANAL:

COL. DA ANODERME : () ARROCHEADA () LEVEMENTE ARROCHEADA () ROSA

COL. DA MUCOSA: () ARROCHEADA () LEVEMENTE ARROCHEADA () ROSA

EDEMA : () SIM () NÃO TÔNUS APARENTE: () AUSENTE. () PRESENTE

COMPLICAÇÕES NÃO RELACIONADAS AO ENXERTO:

ACEITAÇÃO DE DIETA NORMAL: () NÃO () POUCA () BOA

EVACUAÇÃO: () SIM () NÃO

ASPECTO DAS FEZES () DIARREICAS () NORMAIS

MANOMETRA PÓS OPERATÓRIA: () SIM () NÃO

Técnica estacionada com animal em decúbito lateral D:

4 canais () 8 canais ()

Pressão máx: Pressão min: Média:

EUTANÁSIA: () SIM. () NÃO

RETIRADA PEÇA: () NÃO () SIM

ASPECTO INTRA OPERATÓRIO DO ENXERTO:

MODELO DE AUTO-TRANSPLANTE ANORRETAL EM SUÍNOS / EXP N°: _____**IV- EUTANÁSIA**

DATA:

LOCAL: () LIM () BIOTÉRIO

INDUÇÃO:

MOTIVO:

RETIRADA DO ENXERTO: () EM VIDA (CIRÚRGICA) () AUTÓPSIA

ASPECTO DO ENXERTO:

V- ANATOMO- PATOLÓGICO

- FIXAÇÃO NA SOLUÇÃO DE FORMOL: PEÇA ESTICADA E FIXADA EM LÂMINA DE CORTIÇA OU ISOPOR.

- DATA DOS CORTES:

- NÚMERO DE LÂMINAS:

- TRANSIÇÃO ANORRETAL:

- ANASTOMOSE COLORRETAL:

-ARTÉRIA: