

SIDNEY BANDEIRA CARTAXO

**USO DO 5-FLUOROURACIL E DA GLICOSE
HIPERTÔNICA 75% NA PREVENÇÃO DE
SEROMA: ESTUDO EXPERIMENTAL EM
MODELO ANIMAL.**

**Tese apresentada à Universidade Federal
de São Paulo – Escola Paulista de
Medicina (EPM), para obtenção do título
de Doutor em Ciências.**

SÃO PAULO

2019

SIDNEY BANDEIRA CARTAXO

**USO DO 5-FLUOROURACIL E DA GLICOSE
HIPERTÔNICA 75% NA PREVENÇÃO DE
SEROMA: ESTUDO EXPERIMENTAL EM
MODELO ANIMAL.**

ORIENTADOR: Prof. Dr. Fábio Xerfan Nahas

COORIENTADORES: Prof. Dr. Élvio Bueno Garcia

Prof. Dr. Luiz Antônio Rossetto

São Paulo

2019

Cartaxo, Sidney Bandeira.

Uso do 5-fluorouracil e da glicose hipertônica 75% na prevenção de seroma: estudo experimental em modelo animal. Sidney Bandeira Cartaxo. São Paulo, SP, 2019. XVIII, 120 f.: il.

Tese (doutorado) – Universidade Federal de São Paulo. Escola Paulista de Medicina (EPM). Programa de Pós-Graduação em Cirurgia Translacional.

Use of 5-fluorouracil and 75% hypertonic glucose in the prevention of seroma: experimental study in an animal model.

1. Seroma. 2. Escleroterapia. 3. Solução hipertônica de glicose. 4. Soluções Esclerosantes. 5. Fluoruracila.



**UNIVERSIDADE FEDERAL
DE SÃO PAULO**



**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO
EM CIRURGIA TRANSLACIONAL
DOUTORADO EM CIÊNCIAS**

COORDENAÇÃO: PROFA. DRA. LYDIA MASAKO FERREIRA

ORIENTADOR: Prof. Dr. Fábio Xerfan Nahas

COORIENTADORES: Prof. Dr. Élvio Bueno Garcia

Prof. Dr. Luiz Antônio Rossetto

DEDICATÓRIA

In memoriam

Ao meu Pai, **JOSÉ BANDEIRA DE MELO**, ou o Bizé Bandeira, falecido em novembro de 2017, aos 99 anos. O *Embaixador da Paz!*

À minha Mãe, **LAURA CARTAXO DE MELO** falecida em junho de 2019, não podendo comparecer à minha defesa da tese, no entanto, que continuará presente em todos os dias na minha memória.

Aos meus filhos, **RODRIGO** e **PALOMA** razão de todo esse empenho.

Quero dedicar a conclusão desta Tese aos queridos professores:

GUSTAVO ADOLFO RIART

HILDA ORTELLADO RIART

PEDRO ANÍBAL ROLON

ELÍSEO GUILHERME CRISTIANO NETTO

LÍVIO ABRAMO

JORGE DE MOURA ANDREWS

AGRADECIMENTOS

À Prof^ª. Dra. **LYDIA MASAKO FERREIRA**, Professora Titular da Disciplina de Cirurgia Plástica do Departamento de Cirurgia da Universidade Federal de São Paulo, Coordenadora Atual da Disciplina de Cirurgia Plástica da Universidade Federal de São Paulo, pela oportunidade a mim proporcionada, por sua abnegação e superação das adversidades.

Ao Prof. **FÁBIO XERFAN NAHAS**, Professor Adjunto/Livre Docente da Disciplina de Cirurgia Plástica do Departamento de Cirurgia da Universidade Federal de São Paulo, orientador desta tese, pela disponibilidade, objetividade, seriedade e, ainda, por compartilhar seus conhecimentos.

Ao Prof. **LUÍS ANTÔNIO ROSSETTO**, Colaborador da Disciplina de Cirurgia Plástica do Departamento de Cirurgia da Universidade Federal de São Paulo, coorientador desta tese, por sua habilidade didática, pelas orientações, pela sua atenção durante as revisões, por sua dedicação e amizade.

Ao Dr. **PAULO GUIMARÃES DE CASTRO JÚNIOR**, meu amigo e cirurgião do experimento.

Ao Prof. **MIGUEL SABINO NETTO**, Livre Docente, Coordenador do Programa na época da Proposta, por aceitar e acreditar no projeto.

Ao Prof. **ÉLVIO BUENO GARCIA**, Professor Adjunto da Disciplina de Cirurgia Plástica do Departamento de Cirurgia da Universidade Federal de São Paulo, coorientador desta tese, pelas sugestões e críticas durante as nossas reuniões. E, ainda, por acreditar no projeto e impulsioná-lo para esfera superior.

Ao Prof. **RICARDO ALVES BASSO**, mestre em Ciências da Saúde, área de concentração em Biologia Molecular e Câncer de Mama pela Faculdade de Medicina do ABC. Médico assistente em Anatomia Patológica do Salomão Zoppi Diagnósticos, desde dezembro de 2014. Responsável por o estudo histológico da tese. Quero agradecer de forma especial por sua atenção, pelas orientações feitas todas as vezes que fiquei em dúvida. Meu muito obrigado!

Aos **PROFESSORES** do programa de Pós-graduação em Cirurgia Translacional (UNIFESP-EPM), por compartilhar seus conhecimentos e

ensinamentos ao longo do curso, em especial aos Professores **SÍLVIO DUALIBI** e **MÔNICA DUALIBI**.

Aos colegas do Programa de Pós-graduação em Cirurgia Translacional (UNIFESP-EPM), pelos momentos agradáveis e leveza na convivência.

Aos colegas e contemporâneos de antanho **CÁCHO PEREIRA, ATÍLIO ESTECHE, CARLOS MENA, CARLOS ADORNO, ROBERTO CHENA** e **ÁLVARO RIART**.

Aos **Funcionários** da Disciplina de Cirurgia Plástica da UNIFESP-EPM, **MARTA REJANE DOS REIS SILVA, SANDRA SILVA E SILVANA APARECIDA COSTA DE ASSIS** pela paciência e colaboração durante o curso.

Aos **Profissionais do Laboratório de Biofísica da UNIFESP**, em especial, ao senhor **EMANUEL BARRETO CABRAL**.

Agradeço às minhas secretárias **CENIRA DE SOUSA, TÂNIA MORGADO, NEIDE HIGA** e **EDNA SILVEIRA** pela dedicação durante esse período.

Agradecimento aos Professores da Residência Médica

Ao Prof. Ivan Dunchees de Abranches Oliveira Santos

À Profa. Marlene Aoki Yshizuka,

Prof. Roberto Rudge Ramos

Profa. Maria Dulce Martins

Prof. Helton Traber de Castilho

Prof. Jorge de Moura Andrews (*in memorian*)

Muito obrigado a todos vocês que me ensinaram o valor do conhecimento.

“Sou artista suficiente para despertar livremente minha imaginação. A imaginação é mais importante que conhecimento. O conhecimento é limitado, a imaginação circunda o mundo”.

Albert Einstein

SUMÁRIO

DEDICATÓRIA	IV
AGRADECIMENTOS	V
EPÍGRAFE	IX
SUMÁRIO	X
LISTA DE TABELAS	XI
LISTA DE FIGURAS	XII
LISTA DE ABREVIATURAS	XIV
RESUMO	XVI
ABSTRACT	XVII
1 INTRODUÇÃO	1
2 OBJETIVO	5
3 LITERATURA	7
4 MÉTODO	34
5 RESULTADOS	56
6 DISCUSSÃO	77
7 CONCLUSÃO	88
8 REFERÊNCIAS	90
NORMAS ADOTADAS	97
APÊNDICES	100
ANEXOS	107
FONTES CONSULTADAS	116
GLOSSÁRIO	119

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Distribuição dos cortes por características histológicas segundo tratamento Glicose, 5-FU e Controle	67
Tabela 2 – Resumo do resultado da análise histológica da Inflamação	69
Tabela 3 – Medidas-resumo de variáveis histológicas por tratamento	70

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Disposição anatômica da glândula mamária nos ratos e murganhos	37
Figura 2 – Tricotomia	40
Figura 3 – Após tricotomia em decúbito dorsal	42
Figura 4 – Procedimento anestésico	43
Figura 5 – Animal anestesiado com marcação (delimitação) do campo cirúrgico	44
Figura 6 – Procedimento cirúrgico: incisão e deslocamento dos retalhos	45
Figura 7 – Procedimento cirúrgico: incisão no panículo carnosos	45
Figura 8 – Procedimento cirúrgico: identificação da glândula mamária	445
Figura 9 – Procedimento cirúrgico: início da exérese da glândula mamária	46
Figura 10 – Exérese da glândula mamária	46
Figura 11 – Glândula mamária ressecada	47
Figura 12 – Glândula mamária ressecada (medição)	47
Figura 13 – Gânglios linfáticos identificados com o auxílio de lupa	48
Figura 14 – Gânglio linfático	48
Figura 15 – Instilação do 5-Fluorouracil no sítio cirúrgico	50
Figura 16 – Síntese da incisão cirúrgica	50
Figura 17 – Aspecto final	51
Figura 18 – Coleta de fragmento de tecido para análise histopatológica	53
Figura 19 – Médias do volume do seroma e respectivos intervalos de confiança de 95% por tratamento ao longo dos momentos de avaliação	58
Figura 20 – Porcentagem de presença ou não de seroma e respectivos intervalos de confiança de 95% por tratamento ao longo dos momentos de avaliação ..	60
Figura 21 – Análise histológica inflamação – G-III – 5-FLU	62
Figura 22 – Análise histológica inflamação – G-III – 5-FLU	63
Figura 23 – Análise histológica inflamação – G-I – Controle	64
Figura 24 – Análise histológica inflamação – G-I – Controle	64
Figura 25 – Análise histológica inflamação – G-II – Glicose	65
Figura 26 – Análise histológica inflamação – G-II – Glicose	66

Figura 27 – Resumo do resultado da análise histológica da Inflamação	69
Figura 28 – <i>Box-Plot</i> de Linfócitos por tratamento	72
Figura 29 – <i>Box-Plot</i> de Plasmócitos por tratamento	73
Figura 30 – <i>Box-Plot</i> de Macrófagos por tratamento	74
Figura 31 – <i>Box-Plot</i> de Neutrófilos por tratamento	75
Figura 32 – <i>Box-Plot</i> de Angiogênese por tratamento	76

LISTA DE ABREVIATURAS

5-FU	5-Fluorouracil
ALND	Dissecção de linfonodo axilar
ANOVA	Análise de Variâncias
CEDEME	Centro de Desenvolvimento de Modelos Experimentais para Medicina e Biologia
CEUA	Comissão de Ética no Uso de Animais
CGA	Campos de Grande Aumento
cm³	Centímetro cúbico
CONCEA	Controle Nacional de Controle de Experimentação Animal
CP	<i>Corynebacterium parvum</i>
DA	Dissecção Axilar
DCB	Glicose anidra
DHFU	Dihidrofluorouracilo
DNA	Ácido desoxirribonucleico
DPD	Dihidropirimidina desidrogenase
DPO	Dia Pós-Operatório
EPI	Epigástrico
EPM	Escola Paulista de Medicina
FdUMP	Monofosfato Fluorodeoxiuridina
FdUTP	Trifosfato de Fluorodeoxiuridina
FGF2 e TGF-β1	Marcadores de síntese de colágeno
FID	Fossa Ilíaca Direita
FIE	Fossa Ilíaca Esquerda
FUTP	Trifosfato de Fluorouridina
G	Gauge
g	O grama
GC	Grupo Controle

GE	Grupo Experimental
GEE	Equação de Estimação Generalizada
GI	Grau de Invasividade
GP	Grupo Prevenção
GT	Grupo de Tratamento
HE	Hematoxilina/Eosina
HG	Glicose hipertônica
HG	Glicose Hipertônica
HIPO	Hipogástrico
HPG	<i>High Power Fild</i>
IBM	<i>International Business Machines Corporation</i>
IL	Interleucina
kg	Quilograma
LNP	Leucócitos polimorfonucleares
M	Mastectomia
m²	Metro quadrado
mg	Miligramo
mL	Mililitro
mm	Milímetro
MMP2	Proteína de remodelação extracelular
MPEG-pDHA	<i>Polyethylene Glycol and a Polycarbonate of Dihydroxyacetone</i>
mRNA	Ácido ribonucleico mensageiro
n	Tamanho da amostra
N	Tamanho da população
NR	Norma Regulamentadora
NS	Solução salina normal
OK-432	Sapilina
RIC	Reação Inflamatória Crônica
RN	Resolução Normativa
RNA	Ácido ribonucleico
RNM	Ressonância Nuclear Magnética
SA	Sapilina

SBCP	Sociedade Brasileira de Cirurgia Plástica
SEM	<i>Scanning Eletron Microscope</i> Microscópio Eletrônico de Varredura
SF	Soro fisiológico
SLNB	Biópsia do linfonodo sentinela
SPIR	<i>Spectral Presaturation with Inversion Recovery</i>
SPSS	<i>Statistical Package for Social Sciences</i>
STATA	<i>Software Statistical and Data Science</i>
TFE	<i>Turbo Field Echo</i>
TSE	<i>Turbo-Spin-Eco</i>
U/mL	Unidades por mililitro
UMB	Umbilical
Unifesp	Universidade Federal de São Paulo
USG	Ultrassonografia
VEGF-A e HIF-1α	Expressão proteica de marcadores de angiogênese

RESUMO

Introdução: Seroma é uma complicação frequente que pode evoluir com o comprometimento do resultado final do procedimento cirúrgico. **Objetivo:** avaliar o uso do 5-Fluorouracil e da glicose hipertônica 75% na prevenção do seroma em ratas *Wistar*. **Método:** Trata-se estudo primário, experimental, prospectivo, analítico, controlado, randomizado. 60 ratas foram mastectomizadas, com linfadenectomia à esquerda e divididas em três grupos. **Grupo I** (Controle) – (n=20). **Grupo II** (Glicose) – (n=20) recebeu no sítio operatório 1 mL de glicose hipertônica a 75%. **Grupo III** (5-FU) – (n=20) recebeu no sítio operatório 1 mL de 5-Fluorouracil. A pele dos animais dos três grupos foi suturada com fios de monofilamento preto (Procure®) nº 4 com pontos simples. Todos os grupos de animais tiveram acompanhamento clínico e exame físico para observação de aparecimento do seroma 24, 48, 72 horas, 7º e 12º dia do pós-operatório. **Resultados:** foram observadas porcentagens distintas de ocorrência do seroma ao longo do tempo, tanto para o Grupo I - Controle ($p=0,041$) como para o Grupo II - Glicose ($p<0,001$), ao contrário do Grupo III – 5-FU para o qual não se observaram diferenças na incidência de seroma ao longo dos momentos de avaliação ($p=0,627$). Na análise histológica, o Grupo III – 5-FU foi o que apresentou menor processo inflamatório (23,8%), ao contrário do Grupo II – Glicose que apresentou processo inflamatório leve (66,7%) e o Grupo I – Controle apresentou processo inflamatório intenso (61,1%). **Conclusão:** o 5-FU foi efetivo na prevenção da formação do seroma neste experimento com animais. A Glicose Hipertônica a 75% foi efetiva em menor intensidade.

ABSTRACT

Introduction: Seroma is a frequent complication that may evolve with compromised final outcome of the surgical procedure. **Objective:** To evaluate the use of 5-Fluorouracil and 75% hypertonic glucose in the prevention of seroma in Wistar rats. **Method:** This is a primary, experimental, prospective, analytical, controlled, randomized study. 60 rats were mastectomized, with lymphadenectomy on the left and divided into three groups. Group I (Control) - (n = 20). Group II (Glucose) - (n = 20) received 1 mL of 75% hypertonic glucose at the operative site. Group III (5-FU) - (n = 20) received 1 mL of 5-Fluorouracil at the operative site. The skin of the animals in the three groups was sutured with black monofilament threads (Procure®) No. 4 with simple stitches. All groups of animals had clinical follow-up and physical examination to observe the appearance of seroma 24, 48, 72 hours, 7th and 12th postoperative day. **Results:** different percentages of seroma occurrence were observed over time for both Group I - Control ($p = 0.041$) and Group II - Glucose ($p < 0.001$), unlike Group III - 5-FU for no differences were observed in the incidence of seroma over the evaluation moments ($p = 0.627$). In the histological analysis, Group III - 5-FU presented the lowest inflammatory process (23.8%), unlike Group II - Glucose which presented mild inflammatory process (66.7%) and Group I - Control presented the lowest inflammatory process. intense inflammatory process (61.1%). **Conclusion:** 5-FU was effective in preventing the formation of seroma in this animal experiment. 75% Hypertonic Glucose was less effective.

INTRODUÇÃO

1 INTRODUÇÃO

O seroma é uma das intercorrências mais frequentes durante o pós-operatório e na cirurgia plástica, se torna mais exuberante devido aos grandes descolamentos dermocutâneos, fáscio-cutâneos e músculo-cutâneos. Ele poderá ocasionar infecção em médio prazo, ou a formação de cápsula com retração dos tecidos circundantes e, no longo prazo, desnivelamento e ondulações da região operatória (BEZERRA & MOURA, 2007; KOCDOR *et al.*, 2008).

A prevenção da formação do seroma tornou-se uma meta devido à dificuldade de um tratamento eficaz para o mesmo. Vários métodos têm sido propostos em um esforço para impedir que o leito decorrente do descolamento se transforme em espaço morto (KOCDOR *et al.*, 2008).

PORTER *et al.* (1998) avaliaram o uso do bisturi elétrico em mastectomia e concluíram que o seu uso diminuía o sangramento, durante a cirurgia, porém, aumentava muito a incidência de seroma no pós-operatório.

BEZERRA & MOURA (2007) acreditam que a redução do espaço morto e a imobilidade dos retalhos cutâneos descolados podem resultar na ausência da formação de seroma.

MELO, BRITO & SILVA *et al.* (2002) afirmam que a escleroterapia é um modo de tratamento destinado, essencialmente ao fortalecimento dos tecidos. A esclerose química convencional é um dos métodos mais difundidos para o tratamento clínico de varizes. Alguns autores defendem

que, em determinadas circunstâncias, tais medicamentos podem ser adotados para esclerose de tecidos.

A ação do esclerosante dispersa o filme protetor de fibrinogênio da camada íntima e lesa o endotélio venoso. A fibrina é depositada no interior e no entorno da parede venosa, o que ocasiona uma reação inflamatória, que, gradualmente se transforma em fibrose (RAMELET & MONTI, 1999; BELCZAK *et al.*, 2004). Considera-se como substância ideal para o tratamento do seroma aquela que causa esclerose do vaso, porque fortalece os tecidos e não a trombose. Algumas características que o agente esclerosante deve apresentar: ser quimicamente estável, de fácil uso, fluido, indolor, inócuo, não-coagulante, ativo, eficaz, atóxico, hipoalergênico, com atuação restringida localmente e controlada (SÁNCHEZ & TROPPER, 1996). Neste contexto, dois produtos despertaram o interesse por apresentar características favoráveis: a glicose hipertônica (50 ou 75%, um esclerosante) e o 5-Fluorouracil (5-FU, um quimioterápico).

A glicose hipertônica (50% ou 75%) foi introduzida por Kausch, em 1917, e ainda é o esclerosante mais usado por ser eficiente, de baixo custo e, praticamente, isento de complicações graves, como alergias, reações sistêmicas e necroses (BELCZAK *et al.*, 2004). Trata-se do agente esclerosante mais viscoso, chegando a ser, extremamente lenta a sua injeção com agulha 30 G x ½, propriedade que impede a alta pressão intraluminal. Injetada em telangiectasias simples, dificilmente provoca hiperpigmentação. Ao contrário das outras substâncias esclerosantes citadas, a glicose hipertônica pode ser usada em telangiectasias da face, desde que se evite atingir a região periorbital (THOMAZ & RODOLFO JR., 2001; MIYAKE *et al.*, 2003).

O Tegafur é um pró-fármaco do 5-Fluorouracil (5-FU), cuja conversão ocorre gradualmente *in vivo*. A uracila, um constituinte dos ácidos nucleicos, não tem atividade farmacológica isolada, contudo, estudos pré-clínicos revelaram que a combinação de tegafur com a uracila na razão de 1:4 molar inibiu o catabolismo do 5-FU e, seletivamente, aumentou os níveis deste composto no tumor, melhorando desta forma a sua eficácia (THE FREE MERRIAM – WD, 2014, p. 11-19).

O 5-FU interfere com a síntese do ácido desoxirribonucleico (DNA) e em menor extensão, com a formação do ácido ribonucleico (RNA). Levando-se em consideração que o DNA e o RNA são essenciais para a divisão celular e o crescimento, o efeito do 5-FU pode gerar deficiência de uma timina que provoca desequilíbrio no crescimento e na morte celular (BLASCHKE *et al.*, 2011). Em outras palavras, a inflamação excessiva do local da ferida devido a trauma cirúrgico e/ou aumento da atividade angiogênica podem desempenhar papéis importantes no acúmulo excessivo de fluido nos locais da ferida.

O estudo de KOCDOR *et al.* (2008) foi o único encontrado na literatura sobre o uso do 5-FU na prevenção de seroma, no qual os autores afirmaram que as propriedades anti-inflamatórias e anti-angiogênicas do 5-FU, poderiam estar relacionadas à prevenção do seroma.

O uso de uma substância esclerosante efetiva poderia ser uma boa alternativa na prevenção do seroma, pois, reduziria o tempo dedicado à prevenção desta complicação. O uso de glicose 75% ou de 5-FU como esclerosantes poderia ser alternativo na prevenção desta intercorrência.

OBJETIVO

2 OBJETIVO

Avaliar o uso do 5-Fluorouracil e da glicose hipertônica 75% na prevenção do seroma em ratas *Wistar*.

LITERATURA

3 LITERATURA

3.1 Seroma

TITLEY, SPYROU & FATAH (1997) afirmaram que a formação de fluidos decorre de multifatores biológicos. O trauma operatório causa resposta inflamatória local, evidenciada pela migração de macrófagos e leucócitos polimorfonucleares. Estes elementos celulares liberam mediadores químicos como a histamina, vários tipos de prostaglandinas e adenosinas, que causam vasodilatação e, deste modo, a produção de fluidos intersticiais. Por meio do influxo¹ do fluido seroso e dos mediadores inflamatórios cria-se o gradiente osmótico, que resulta na retenção de fluido no espaço morto.

BAROUDI & FERREIRA (1998) afirmaram que os cirurgiões plásticos com experiência no tratamento de lesões de tecidos moles sabem que os seromas são comuns. Estudos sobre a fisiopatologia da formação de seroma e vários métodos de tratamento foram publicados. Segundo os pesquisadores a incidência relatada de formação de seroma após abdominoplastia pode variar de 5% a 50%. As diferentes teorias e técnicas disponíveis testemunham a ausência de uma solução ideal. Concluíram que seromas ocorriam como consequência das forças de cisalhamento entre o retalho cutâneo não aderente e o músculo subjacente. Os autores

¹ Movimentação que se direciona para o mesmo lugar.

descobriram que o uso de suturas acolchoadas de aplicação próxima na abdominoplastia, pseudobursas recorrentes, arranchamento de tecidos e mastectomia são eficazes na prevenção de seroma.

ANDRADES & PRADO (2007) desenvolveram um estudo, cujo objetivo foi analisar a composição do líquido seroma pós-abdominoplastia em diferentes intervalos, compará-lo com sangue e linfa e determinar se ele atende aos critérios para ser considerado exsudado. Os resultados demonstraram que os níveis de proteína total, lactato desidrogenase (LDH) e colesterol dos fluidos de seroma precoces e tardios foram mais baixos no sangue, mas mais altos que na linfa. A proporção total de proteína seromaplasmática foi de aproximadamente 0,5; a proporção de seroma para plasma LDH foi de aproximadamente 0,6; e a proporção de colesterol seroma / plasma foi de 0,32. O nível de plaquetas era muito baixo no líquido seroma tardio, não mostrando diferenças estatísticas com o nível linfático. O nível de leucócitos era baixo no líquido seroma, com uma porcentagem maior de neutrófilos do que os encontrados no sangue ou na linfa. Concluíram que o líquido seroso formado sob o retalho após uma abdominoplastia parece ser um exsudato. No pós-operatório inicial, é um exsudato inflamatório que lentamente se transforma em exsudado com algumas características semelhantes às da linfa.

DONCATTO, MEDVEDOVSKY & CALEFFI (2007) afirmaram que o desenvolvimento de seroma está intimamente ligado a vários fatores, incluindo o dano sobre o leito cirúrgico, a extensão da área descolada, o

número, a localização e o sistema de drenagem do sítio cirúrgico instalado. Desta forma, a efetividade na prevenção do desenvolvimento do seroma está associada a uma obliteração do espaço morto e a sutura do retalho ao leito cirúrgico.

BEZERRA & MOURA (2007) afirmaram que o seroma é a mistura de plasma com líquido linfático, uma complicação frequente, e que ocorre em espaços sob a pele quando a circulação linfática está insatisfatória, especialmente, em pacientes mastectomizadas. A fisiopatologia dos fluidos teciduais é multifatorial e abrange a ablação dos vasos linfáticos e sanguíneos que proporcionam a drenagem dos fluidos intersticiais. A fisiopatologia da formação de seroma ainda não é totalmente conhecida, no entanto, acredita-se que estão envolvidos os seguintes mecanismos: lesões vasculares, a força de cisalhamento entre a fáscia e o retalho e o espaço morto.

Di MARTINO et al., (2010) desenvolveram um estudo, o qual teve como objetivo comparar a ocorrência de seroma em pacientes submetidos à abdominoplastia convencional e a lipoabdominoplastia. O seroma é uma coleção fluida que apresenta características de exsudato com predomínio de neutrófilos e altas taxas de proteínas. Os mecanismos postulados para sua formação são: secção de numerosos canais linfáticos, espaço morto decorrente do extenso descolamento do retalho dermogorduroso, forças de cisalhamento entre o retalho e a aponeurose, e liberação de mediadores inflamatórios. Os principais fatores predisponentes à formação do seroma

são a obesidade ou grandes perdas ponderais, a extensão da área de descolamento do retalho dermogorduroso, cicatriz supraumbilical prévia e a associação de lipoaspiração. Os autores afirmam que a presença de coleções fluidas não é uma complicação, mas uma evolução habitual após a abdominoplastia. As pacientes submetidas à lipoabdominoplastia apresentaram menor incidência de seroma quando comparadas às submetidas à abdominoplastia convencional nos dois períodos estudados.

ROSSETTO (2011) afirmou que o seroma é causado pelo acúmulo de líquido com características exsudativas, alta concentração de neutrófilos e de proteínas, que se instala sob o retalho e, progressivamente, acumula-se no espaço morto das áreas descoladas, e que pode necessitar punção aspirativa ou tratamento cirúrgico, a depender da gravidade do mesmo. No exame físico, por meio de palpação, percebe-se uma flutuação de tecidos o que denota o surgimento de abaulamentos (STEDMAN, 1995; BAROUDI & FERREIRA, 1996; CHAOUAT *et al.*, 2000).

Di MARTINO *et al.*, (2015) desenvolveram um estudo cujo objetivo foi investigar o início da formação do seroma após a abdominoplastia e sua progressão. Métodos: Vinte e uma pacientes do sexo feminino foram submetidas à abdominoplastia padrão. O ultrassom abdominal foi realizado em cinco regiões da parede abdominal (epigástrica, umbilical, hipogástrica, fossa ilíaca direita e fossa ilíaca esquerda) em cinco momentos diferentes do pós-operatório, nos 4º, 11º, 18º, 25º e 32º dias. Os resultados demonstraram que a incidência de seroma foi de 4,8 por cento no 4º dia

pós-operatório, 38,1 por cento no 11º dia, 33,3 por cento no 18º dia, 23,8 por cento no dia 25 e 19 por cento no dia pós-operatório no 32º dia. A região da fossa ilíaca esquerda apresentou o maior volume de coleta de líquidos no dia 4 do pós-operatório, assim como as regiões da fossa ilíaca direita e da fossa ilíaca esquerda no 11º dia de pós-operatório. Em outros momentos, o volume relativo de coleta de líquidos foi significativamente maior na região da fossa ilíaca direita. Os autores concluíram que a maior incidência de seroma ocorreu no 11º dia do pós-operatório, e as fossas ilíacas foram os locais mais comuns de seroma.

3.2 Prevenção de seroma com substâncias esclerosantes

TEKIN *et al.*, (2001) avaliaram os efeitos de *Corynebacterium parvum* (CP) como agente esclerosante, na prevenção e tratamento de seromas após a mastectomia e dissecação axilar em um modelo animal. Sessenta ratas *Sprague-Dawley* foram mastectomizadas e sofreram dissecação axilar sob anestesia geral. Após a cirurgia, as ratas foram tratadas de três formas. No grupo de prevenção (GP), 1 cm³ (0,35 mg) de solução de (CP) foi injetada sob o retalho de pele apenas antes do fechamento da incisão após a mastectomia. No grupo de tratamento (GT), nos animais em que se formaram o seroma, o fluido foi aspirado e foi injetado 1 cm³ de solução de CP sob o retalho de pele. No grupo controle (GC), os animais nos quais se formou o seroma, só foi feita a aspiração. A frequência de formação de seroma diminuiu quando a solução de CP foi injetada imediatamente após a operação ($p < 0,01$). Além disso, a formação

de seroma foi efetivamente tratada por injeção de CP quando comparado com o grupo controle ($p < 0,05$). Os autores concluíram que CP foi eficaz como um agente profilático no GP e como um agente terapêutico no GT, no modelo experimental. Injeção de CP pode ser útil para a gestão desta intercorrência em um ambiente clínico.

KOCDOR *et al.* (2008) utilizaram o 5-FU como agente esclerosante para a prevenção da formação de seroma, em um estudo que investigou a mastectomia e dissecação axilar em um modelo de rato detalhado por LINDSEY *et al.* (1990) para pesquisa de seroma. Vinte ratos foram divididos em dois grupos (5-FU e controle). Imediatamente após a operação, foram administrados volumes iguais de solução salina e 5-FU sob as margens cirúrgicas. Uma semana após a operação foram avaliados a formação de seroma e os processos de cicatrização de feridas por meio de investigações histopatológicas e bioquímicas. No grupo de controle, o volume médio de seroma foi calculado como $1,04 \pm 0,2$ Scanning Eletron Microscope (SEM) ml, enquanto que no grupo 5-FU, os ratos tiveram um volume médio de $0,27 \pm 0,07$ SEM ml. O volume médio foi significativamente menor no grupo 5-FU ($p = 0,02$; $t = 3,669$). No grupo 5-FU, foi observada necrose macroscópica do retalho em três ratos e confirmada por histopatologia. No grupo controle, nenhuma necrose macroscópica foi observada. A intensidade da inflamação aguda nos cortes histopatológicos encontrava-se diminuída no grupo 5-FU (Grau 1) e estava aumentada no grupo controle (Grau 3), com diferença estatística. A angiogênese foi significativamente menor nos ratos pré-tratados com 5-FU. A intensidade de leucócitos e fibroblastos foi significativamente menor em

ratos tratados com 5-FU. Os níveis de linfócitos, plasmócitos e macrófagos foram semelhantes nos dois grupos, conforme observado nos cortes histopatológicos. Os autores referem que os mecanismos subjacentes à prevenção do seroma pelo 5-FU permanecem pouco claros. No entanto, as propriedades anti-inflamatórias e anti-angiogênicas do 5-FU, observadas neste estudo, podem estar relacionadas à prevenção do seroma.

3.3 Modelo animal para estudo de seroma

LINDSEY *et al.* (1990) desenvolveram um estudo comparativo controlado duplo-cego, no qual consideraram o seroma como uma intercorrência frequente da mastectomia (17% a 53%) em seres humanos e está correlacionado com a elevação do retalho de pele, a interrupção linfovascular e a drenagem em potenciais espaços criados cirurgicamente. A formação de seroma é de considerável importância como uma intercorrência pós-operatória em procedimentos envolvendo a criação de um espaço cirúrgico potencial, e deve ser abordada. Além disso, a incidência de seroma tem sido associada à necrose da margem e à infecção da ferida. Um modelo consistente produzindo seromas foi desenvolvido por mastectomia radical e linfadenectomia no rato Sprague-Dawley. O procedimento de aplicação de cola de fibrina foi testado usando este modelo. Quarenta ratos machos Sprague-Dawley, que variaram em peso de 320 a 360 g, foram divididos em dois grupos de 20 cada: controle (solução salina) e experimental (cola de fribina). Foi realizado o protocolo duplo-cego para aplicação de pulverização de solução salina (controle) e cola de

fibrina (experimental) para as feridas de mastectomia, seguido de inspeção sequencial e necropsia em 5, 8, 11 e 14 dias do pós-operatório. No grupo experimental, os ratos foram tratados com cola de fibrina tópica intraoperatória, uma combinação de trombina bovino e fibrinogênio humano. Quando comparado com os ratos do grupo controle, constatou-se uma redução, estatisticamente significativa na apresentação do seroma. Portanto, a investigação do uso de cola de fibrina deverá continuar.

LINDSEY *et al.*, (1995) deram continuidade ao estudo comparativo controlado, no qual a cola de fibrina diminuiu a formação de seroma em modelos animais. Para delinear ainda mais este mecanismo, a eficácia da cola de fibrina foi comparada ao fibrinogênio tópico e à trombina na prevenção de seromas pós-operatórios. O modelo para produzir seroma foi desenvolvido por dissecação bilateral do pescoço, linfadenectomia e adenectomia submandibular em ratos *Sprague Dawley*. Grupos de 20 ratos foram submetidos a este procedimento e foram tratados aleatoriamente com cola de fibrina, fibrinogênio, trombina e controle com solução salina. Nesta experiência foram utilizados 80 ratos no total. Após a divisão aleatória, foram designados quatro grupos de 20 para receber cola de fibrina, fibrinogênio, trombina e solução salina antes de o fechamento das margens. Os animais foram devolvidos ao viveiro, sem restrição de atividade ou dieta. A observação diária de uma massa de líquido, sob as margens da pele, foi realizada levando à necropsia no quinto dia do pós-operatório. As feridas foram, então, abertas e o acúmulo de líquido colhido e quantificado. A necropsia ocorrida no quinto dia do pós-operatório revelou uma redução, estatisticamente significativa (qui-quadrado) na

incidência de seroma, quando foi utilizada a cola de fibrina (0%) e fibrinogênio (15%), enquanto a trombina (95%) e a solução salina (100%) mostraram-se ineficazes na prevenção de seroma.

EROĞLU *et al.*, (1996) consideraram que a mastectomia é um procedimento cirúrgico frequentemente realizado, que possui algumas intercorrências importantes e que podem prolongar a internação hospitalar. A formação de seroma, após mastectomias e dissecação axilar, apresentou uma incidência de 5,8 a 53%. Uma nova técnica para prevenir a formação de seroma foi estudada na mastectomia de um modelo animal. Havia 40 animais (porquinhos da Índia) com pelo menos três meses de idade e seus pesos variaram entre 480 g e 900 g. No Grupo I (grupo de controle) havia 20 animais e nenhum procedimento pós-mastectomia foi realizado além da secagem do ferimento com gaze estéril. As feridas foram fechadas com suturas de seda 4/0 interrompidas. No Grupo II, a cola de fibrina foi aplicada topicamente para evitar a formação de seroma no campo operatório dos 20 animais. A cola de fibrina foi preparada a partir de plasma humano fresco. Todas as operações foram realizadas pelo mesmo cirurgião para evitar codificações dependentes do operador. Dez dias após a operação, a necropsia foi realizada e as coleções de fluidos foram drenadas com uma agulha de calibre 18. O estudo demonstrou que não houve diferença na formação de seroma em comparação com os animais tratados pelos mesmos cirurgiões sem aplicação de cola de fibrina. A concentração de cola de fibrina pode não ter sido adequada para um campo de dissecação tão grande. Sugeriram o uso da cola de fibrina por ser um agente preparado

e de fácil aplicação. No modelo animal, a cola de fibrina mostrou-se eficaz na redução da formação de seroma.

SANDERS *et al.* (1996) afirmaram que a formação de seroma continua a ser uma intercorrência clínica significativa, que aumenta a morbidade e os custos hospitalares em pacientes submetidos a operações de mastectomia. Este estudo avaliou o efeito da variação das concentrações de fibrinogênio e trombina na cola de fibrina, na prevenção da formação de seroma em um modelo animal. Após a dissecação axilar, os animais do Grupo controle (Grupos I e II) receberam 1 ml de solução salina normal ou trombina (100 U/ml) aplicado à axila enquanto os animais tratados (Grupos III-VIII) receberam concentrações crescentes de 0,5 ml de fibrinogênio (25, 50 ou 100 mg/ml) e aplicou-se 0,5 ml de trombina (10 ou 100 U / ml). Os volumes de seroma (médias \pm desvio padrão) foram medidos no 5º dia do pós-operatório. A diferença nos volumes de seroma para todos os animais de controle (Grupos I e II), $3,5 \pm 2,4$ ml, e todos os animais tratados (Grupos III-VIII), $1,7 \pm 2,1$ ml, foi altamente significativa pelo teste não emparelhado. ($P < 0,0001$). Os resultados demonstraram que a cola de fibrina foi mais efetiva na redução da formação de seroma neste modelo animal, quando ocorreu maior concentração de fibrinogênio e trombina. Os autores concluíram que esses dados poderão ser úteis para orientar futuros ensaios clínicos em seres humanos.

SILVERMAN *et al.* (1999) desenvolveram uma pesquisa cujo objetivo foi determinar se um adesivo de tecido sintético fotopolimerizado

(hidrogel de óxido de polietileno) poderia ser útil ou não na prevenção de seroma. Vinte e três ratas *Sprague Dawley* foram mastectomizadas. As ratas foram selecionadas, aleatoriamente para um grupo controle (GC) (n = 13) e o grupo experimental (GE) (n = 10). Os animais do grupo controle (GC) receberam 0,2 cc de solução salina na ferida antes do fechamento. O grupo experimental (GE) recebeu 0,2 cc (n = 5) ou 0,4 cc (n = 5) do polímero óxido de polietileno em suas feridas antes do fechamento. Os animais do (GE) foram colocados sob uma lâmpada ultravioleta durante três minutos para polimerizar o adesivo. No sétimo dia de pós-operatório, o seroma resultante foi quantificado e os tecidos das feridas foram colhidos para avaliação histológica. As ratas do grupo controle (GC) tinham um volume médio de seroma de 3,25 cc, enquanto que as tratadas com polímero tinham um volume médio de seroma de 0,37 cc. O volume de polímero usado (0,2 centímetros cúbicos contra 0,4 cc) não foi significativamente impactante no volume resultante de seroma. Este estudo demonstrou que o hidrogel de óxido de polietileno fotopolimerizável pode ser usado como um adesivo de tecido, e que o mesmo reduziu significativamente a formação de seroma no modelo animal mastectomizado.

RICE *et al.* (2000), após a mastectomia, depreenderam que o seroma é uma intercorrência frequente e problemática no pós-operatório. Relatórios recentes sugeriram a eficácia dos esclerosantes tópicos na redução de sua formação. Foi realizado um estudo prospectivo, randomizado, duplo-cego para examinar o efeito da tetraciclina tópica administrada intraoperatoriamente na ocorrência de seroma no pós-operatório de

mastectomia. Trinta e duas mulheres foram randomizadas para o grupo de controle (solução salina normal) e 30 para o grupo tratamento de tetraciclina. No grupo de tratamento, 100 ml (2 g) de solução de tetraciclina foram administrados topicamente na parede torácica e dobras de pele antes do fechamento da mesma. O grupo controle recebeu um volume igual de solução salina normal. As pacientes foram monitoradas para o desenvolvimento de ferida de seroma pós-operatória. A formação de seroma em duas semanas do pós-operatório foi maior no grupo da tetraciclina do que no grupo controle (53% versus 22%, $p = 0,01$). Não houve diferenças entre os grupos quanto ao grau de dor no pós-operatório, na infecção da ferida ou na formação de seroma em um mês de pós-operatório. Os autores concluíram que a tetraciclina tópica não foi eficaz na prevenção de seromas de feridas pós-mastectomia.

MENON *et al.*, (2003) afirmaram que formação de seroma é uma intercorrência pós-operatória comum na cirurgia plástica, que resulta em morbidade e despesas consideráveis para o paciente. Os autores investigaram a eficácia de um adesivo de tecido sintético à base de glutaraldeído (BioGlue; Cryolife, Inc., Kennesaw, GA) na prevenção de seroma no modelo de mastectomia em ratas. Este adesivo de tecido é composto por albumina de soro bovino purificado (45%) e glutaraldeído (10%). Vinte e duas ratas *Sprague Dawley* foram submetidas a mastectomia axilar juntamente com linfadenectomia. O grupo controle ($n = 11$) recebeu 2,5 ml de solução salina na ferida antes do fechamento. O grupo experimental ($n = 11$) recebeu 2,5 ml de BioGlue[®] na ferida. No sétimo dia do pós-operatório, os resultados foram quantificados e os tecidos

adjacentes foram colhidos para exame histológico. As ratas no grupo controle apresentaram um volume médio de 5,29 ml (desvio padrão, $\pm 3,65$ ml; $n = 11$), enquanto as ratas tratadas com BioGlue[®] apresentaram um volume médio de seroma de $0,25 \pm 0,43$ (n = 11). A histologia revelou uma resposta inflamatória consistente com alterações pós-operatórias, bem como uma reação ligeira ao BioGlue[®]. Este estudo demonstrou que o BioGlue[®] poderá ser usado como um adesivo de tecido que reduz significativamente a formação de seroma no modelo de mastectomia de rata ($p = 0,0008$). Novos estudos serão necessários para investigar o efeito em longo prazo da BioGlue[®] no tecido circundante.

CHUNG *et al.* (2006) avaliaram o uso de BD Cell-Tak[®] que é uma fita adesiva formulada a partir das proteínas excretadas pelo mexilhão marinho *Mytilus edulis*. O objetivo deste estudo foi determinar se o Cell-Tak[®] é capaz de prevenir a formação de seroma em um modelo de rata mastectomizada. Neste estudo vinte ratos *Sprague Dawley* foram submetidos à mastectomia radical unilateral, dissecação parcial do linfonodo axilar e ruptura dérmica linfática. Os animais foram aleatoriamente designados para o grupo controle ($n = 10$) e grupo experimental ($n = 10$). Os animais do grupo experimental receberam 0,3 ml da fita adesiva tópica na ferida antes do fechamento, enquanto os animais de controle não receberam tratamento. No sétimo dia do pós-operatório, as coleções de seroma foram aspiradas e quantificadas, e os fragmentos de tecido foram enviados para análise histológica. As ratas do grupo controle apresentaram um volume médio de seroma de $2,6 \pm 5,3$ ml, enquanto os ratos tratados com a fita adesiva Cell-Tak[®] apresentaram um volume médio de $1,5 \pm 1,8$

ml ($p < 0,004$). A análise histológica revelou inflamação leve consistente com as alterações pós-operatórias em ambos os grupos e nenhuma evidência de reação corporal estranha à fita adesiva. A fita adesiva de BD Cell-Tak[®] reduz significativamente a formação de seroma no modelo de rato mastectomizado.

BEZERRA & MOURA (2007) alegaram que o seroma é a mistura de plasma com líquido linfático, considerada a intercorrência mais comum e pode aparecer sob o retalho, quando a circulação linfática está deficiente, especialmente em mastectomias. Desenvolveram uma pesquisa prospectiva. A morbidade e as complicações decorrentes do surgimento de seroma, no pós-operatório de reconstrução mamária com retalho do músculo grande dorsal, foram determinantes na escolha do uso de pontos de adesão pelos autores, a partir de março de 2006. Resultados: em 30 pacientes operados, houve acentuada diminuição do número de dias de utilização de dreno de sucção (também utilizados para região da mama e axila) e ausência de formação de seroma após a retirada dos mesmos. Eles acreditam, ainda, que a redução do espaço morto e a imobilidade dos retalhos cutâneos descolados podem implicar na ausência da formação de seroma. Os autores sugeriram a adoção desta técnica nas reconstruções mamárias com o músculo grande dorsal.

NAHAS *et al.* (2007) declararam que o seroma é a complicação mais frequente na abdominoplastia. Alguns pacientes são mais propensos a desenvolver essa complicação. O ultrassom é um método bem conhecido

com o qual diagnosticar seroma na parede abdominal. O objetivo deste estudo foi verificar a eficácia do uso da *quilting suture* na prevenção do seroma. Neste estudo vinte e uma pacientes do sexo feminino que apresentaram deformidade abdominal tipo III/A, de acordo com a classificação de pele abdominal e deformidade mioaponeurótica, foram submetidas a abdominoplastia. Os pacientes selecionados deveriam ter pelo menos uma das seguintes características: índice de massa corporal maior que 25 kg / m²; perda de peso superior a 10 kg; incisão prévia na região supraumbilical; ou apresentar afinamento do subcutâneo na área acima do umbigo. A ultrassonografia foi realizada em todos os pacientes, de 15 a 18 dias após a operação, para buscar a coleta de líquidos na parede abdominal. Os resultados demonstraram que a coleta média de líquidos encontrada foi de 8,2 cc por paciente. Apenas dois pacientes foram submetidos à aspiração porque o ultrassom mostrou mais de 20 cc coletados acima da camada fascial. Esses pacientes não apresentaram recorrência de seroma após aspiração. Os autores concluíram que *quilting suture* parece ser uma técnica eficiente para prevenir a formação de seroma.

SHERMAK, ROTELLINI-COLVET, CHANG (2008) investigaram os fatores de risco para formação de seroma em pacientes submetidos à cirurgia bariátrica de março de 1997 a dezembro de 2005. Na análise estatística multivariada, o principal fator de risco para a formação de seroma foi o peso da pele excisada, com ameaça de seroma aumentada em nove por cento para cada quilo adicional de pele excisada. Os autores concluíram que o fator de risco mais importante para o seroma é o peso da

pele excisada no momento da cirurgia. As estratégias de tratamento incluíram aspiração, colocação de dreno, esclerose e cirurgia.

ZAWANEH & PUTNAM (2008) concluíram que seroma é um exsudato inflamatório em seus estágios iniciais, mas, que posteriormente, desenvolve conteúdo semelhante à linfa. Demonstraram a importância do envolvimento dos linfonodos axilares na formação de seroma, sugerindo que o fluido dá origem ao seroma a partir de vazamento linfático. No que concerne ao tratamento e prevenção de seroma entram os biomateriais, a drenagem, as intervenções farmacológicas, as técnicas de dissecação, os tratamentos cirúrgicos e as técnicas mecânicas, apresentados a seguir.

Biomateriais – a cola de fibrina é o biomaterial mais estudado para a prevenção de seroma. **Drenagem** – é o método mais comum e extensivamente investigado para o tratamento e prevenção do seroma. **Intervenções farmacológicas** - os agentes esclerosantes podem atuar como irritantes leves e promover a fibrose, eliminando o espaço morto e reduzindo a formação de seroma. O polidocanol (Lauromagrogol), também, foi utilizado como esclerosante para o tratamento do seroma. Foi eficaz na redução da formação do mesmo, mas estes dados são limitados e são necessárias mais provas para uma avaliação completa. O *Corynebacterium parvum*, um bacilo Gram-positivo anaeróbio, mostrou-se eficaz na prevenção e tratamento de seroma em um modelo de rato, mas não foi explorado em seres humanos. O octreotida foi avaliado por sua capacidade de prevenir a formação de seroma em um ensaio clínico humano randomizado. **Técnicas de dissecação** – neste tema, os estudos sobre eletrocautério, dissecação ultrassônica, bisturis a laser e diatermia com

argônio geraram resultados mistos. **Tratamentos cirúrgicos** – baseadas no uso de várias técnicas de sutura para eliminar o espaço cirúrgico morto e reduzir a formação de seroma, embora tenham demonstrado sucesso na redução da formação de seroma, a maioria desses estudos não é randomizada. O uso do *quilting suture* - pontos de adesão entre o tecido subcutâneo do retalho e a aponeurose da musculatura subjacente causa uma redução da extensão da área onde o seroma pode se acumular e uma imobilização do retalho, amenizando os fatores que interferem em sua aderência, auxiliando na redução das complicações. **Técnicas mecânicas** – não existe consenso na literatura sobre o efeito de movimentos precoces ou tardios na formação de seroma após cirurgias de mastectomia. O curativo de compressão é outra técnica mecânica que tradicionalmente tem sido usada para ajudar a reduzir a formação de seroma, mas os estudos mostraram que ele é ineficaz. Numerosos métodos para o tratamento e prevenção do seroma foram desenvolvidos, mas nenhum que se provasse completamente satisfatório.

ZAWANEH *et al.* (2010) demonstraram a utilidade clínica do MPEG-pDHA na prevenção de seroma, uma intercorrência pós-operatória comum após mastectomia radical e cirurgias reconstrutivas de mama, em um modelo animal. Este polímero apresentou uma expectativa significativa para a aplicabilidade clínica em uma série de procedimentos cirúrgicos que vão desde cirurgias cosméticas até ressecção do câncer. Para avaliar a eficácia dos géis de polímero, cada gel à base de MPEG-pDHA foi avaliado em um modelo de rato bem estabelecido na formação de seroma. Os ratos do grupo experimental receberam 0,5 mL de hidrogel MPEG-

pDHA no leito da ferida antes da sutura, e os do grupo controle receberam 0,5 mL de solução salina no leito da ferida antes do fechamento. Os animais foram mortos no 7º dia de pós-operatório de acordo com as diretrizes institucionais aprovadas para aquela pesquisa. O líquido do seroma foi aspirado percutaneamente por meio de uma agulha de calibre 18 e medido volumetricamente. O local da incisão foi então aberto, e qualquer outro líquido de seroma foi removido por aspiração com agulha. Os resultados apresentados descrevem um copolímero dibloco de monometoxi-polietilenoglicol (MPEG-pDHA) e uma base de policarbonato no metabolito humano di-hidroxiacetona e sua capacidade de prevenir o seroma pós-operatório. Os autores concluíram que, este polímero, tem uma promessa significativa de aplicabilidade clínica em uma série de procedimentos / cirúrgicos que vão desde a cirurgia estética até a ressecção do câncer.

Di MARTINO *et al.*, (2010) desenvolveram um estudo clínico, prospectivo no qual compararam a incidência de seroma em pacientes submetidos à abdominoplastia convencional e à lipoabdominoplastia. Neste estudo 41 pacientes foram divididas em dois grupos: Grupo A (21 pacientes submetidas à abdominoplastia convencional) e Grupo B (20 pacientes submetidas à lipoabdominoplastia). Para a investigação da formação de seroma foi realizado ultrassonografia de cinco regiões da parede abdominal (epigástrico (EPI), umbilical (UMB), hipogástrico (HIPO), fossa ilíaca direita (FID) e fossa ilíaca esquerda (FIE)) em dois momentos: entre o 11º e o 14º dia de pós-operatório (DPO) (P1) e entre o 18º e 21º DPO (P2). Os resultados demonstraram que a incidência de seroma tanto em P1 quanto

em P2 foi significativamente maior no grupo A que no grupo B. Observou-se que no grupo A, no P1, as regiões FID e FIE apresentaram maior incidência de coleções fluidas. No grupo B, houve uma maior incidência de coleções fluidas na região HIPO em P1 e nas regiões UMB e HIPO em P2. O método mais usado para diagnosticar seroma continua sendo o exame físico, no entanto, a ultrassonografia é mais eficiente e sensível. Os autores concluíram que houve menor incidência de seroma nos pacientes submetidos à lipoabdominoplastia em relação à abdominoplastia convencional nos momentos estudados.

Di MARTINO *et al.*, (2010), a abdominoplastia é um dos procedimentos cosméticos mais frequentemente realizados, e sua combinação com a lipoaspiração se tornou mais comum. Seroma é uma das complicações mais comuns na abdominoplastia. O objetivo deste estudo foi comparar a taxa de formação de seroma em pacientes submetidos à abdominoplastia, com ou sem o uso de *quilting suture* ou lipoabdominoplastia. Neste estudo cinquenta e oito pacientes do sexo feminino foram divididas em três grupos e foram submetidas a um dos seguintes procedimentos: grupo A (n = 21), abdominoplastia sem *suturas acolchoadas*; grupo B (n = 17), abdominoplastia com *suturas acolchoadas*; e grupo C (n = 20), lipoabdominoplastia. Para investigar a formação do seroma, foi realizada ultrassonografia abdominal em cinco regiões da parede abdominal (epigástrico, umbilical, hipogástrico, fossa ilíaca direita e fossa ilíaca esquerda) em dois períodos pós-operatórios (P1, entre os dias 11 e 14; e P2, entre dias pós-operatórios 18 e 21). Os resultados demonstraram que a taxa de formação de seroma em P1 e P2 foi

significativamente maior no grupo A. Observou-se que no grupo A no P1, as regiões da fossa ilíaca direita e da fossa ilíaca esquerda desenvolveram coleções maiores de fluidos. No grupo B, não houve diferenças significativas em relação às coleções de fluidos entre as cinco regiões do estudo em P1 e P2. No grupo C, houve coleções de fluidos significativamente maiores na região do hipogástrio em P1 e nas regiões umbilical e hipogástrio em P2. Os autores concluíram que abdominoplastia com *quilting suture* e a lipoabdominoplastia são técnicas eficazes para a prevenção de seromas em comparação com a abdominoplastia sem *quilting suture*.

CHOI *et al.* (2012), utilizaram acetona de triancinolona tópica e cola de fibrina para reduzir a formação de seroma em um modelo de rata mastectomizada para comparar a sua eficácia. No modelo de rata mastectomizada, os autores administraram acetona de triancinolona (grupo experimental I n = 12), cola de fibrina (grupo experimental II, n = 12) e solução salina (grupo controle III, n = 12) sob a margem de pele só antes do fechamento da mesma. Após sete dias, o seroma foi coletado por aspiração e quantificado, realizou-se a análise histológica dos retalhos de pele e das paredes do tórax das ratas. O grupo experimental I apresentou um volume médio de seroma de 1.79 ± 1.32 mL, enquanto que o grupo experimental II e o grupo controle III apresentaram volumes médios de seroma de 1.43 ± 4.04 mL e 2.60 ± 8.51 mL, respectivamente ($p < 0,05$). Na análise de inflamação semiquantitativa, a contagem de células inflamatórias no grupo experimental I foi, significativamente, menor do que nos outros dois grupos ($p < 0,001$). Além disso, não ocorreu a formação da cápsula de

seroma. Os autores concluíram que a prevenção de seroma usando acetona de triancinolona é mais simples, mais econômica e mais eficaz do que a cola de fibrina. Em concentrações adequadas, a acetona de triancinolona pode ser usada, na prática clínica, para prevenir a formação de seroma.

NAHAS, Di MARTINO & FERREIRA (2012), afirmam que a *quilting suture* é um método eficaz para prevenir a formação de seroma após a abdominoplastia. No entanto, é uma técnica demorada, pois são necessários 30 a 40 pontos. A cola de fibrina poderia ser potencialmente usada para obter a adesão do retalho abdominal como substituto do uso da *quilting suture*. Recentemente, os autores usaram cola de fibrina para fixar o retalho dérmico abdominal à camada aponeurótica, com o objetivo de evitar seroma após abdominoplastia em três pacientes. Utilizando a relação entre volume e área a ser coberta recomendada pelo fabricante, a superfície máxima na qual a cola pode ser aplicada com eficiência é de 200 cm². Embora esses pacientes apresentassem um índice de massa corporal médio de 27 kg/cm² e estatura média de 162,3 cm, a área média de comprometimento desses pacientes foi de 400 cm². Portanto, não havia cola suficiente para cobrir toda a área. Durante o procedimento, dois pontos foram passados entre o retalho e a camada musculoaponeurótica, mas não estavam atados naquele momento, para permitir o uso de cola de fibrina. Em seguida, a cola foi pulverizada sobre toda a extensão da área minada e os pontos foram amarrados. Depois disso, foi feito um fechamento em camadas. A ultrassonografia foi realizada em dois períodos diferentes: do 11º ao 14º dia ao pós-operatório e do 18º ao 21º ao pós-operatório. Em

todos os casos, foi encontrado líquido sobre a camada aponeurótica. O volume variou de 35 a 100 mL. A alta incidência de seroma nesses casos é provavelmente secundária à falha de adesividade causada pela alta tração exercida sobre o retalho durante a abdominoplastia e mobilização do retalho após a cirurgia, quando os pacientes começaram a andar. O adesivo não era forte o suficiente para manter o retalho preso à aponeurose. Portanto, embora a cola de fibrina seja uma ferramenta muito eficaz, ela não é útil na abdominoplastia.

ESER *et al.* (2012) tentaram investigar o impacto da aplicação de fenitoína na formação de seroma após um modelo de mastectomia experimental criado em ratos, livrar-se do espaço morto parece ser um método efetivo na formação do mesmo. Apesar de obter sucesso pelo aprimoramento das técnicas cirúrgicas e uso da cola de fibrina, essas modalidades não apresentaram potencial para se tornarem aplicações clínicas de rotina. Existem relatos de que a fenitoína, um agente antiepiléptico, apresenta, também efeito antibacteriano, o que pode acelerar a cicatrização de feridas e a redução da dor. O objetivo foi investigar o efeito da aplicação tópica de fenitoína na formação de seroma em mastectomia experimental e modelo linfonodo axilar nível I-II (ALND) em ratos Wistar. No grupo controle, solução salina normal, cujo volume correspondeu à dose adequada de fenitoína que foi ajustada de acordo com o peso dos ratos, foi aplicada sob os retalhos, imediatamente após o fechamento abdominal. No grupo fenitoína, a solução de fenitoína a 1%, que tinha sido preparada antes, foi aplicada sob os retalhos a uma dose de 4 mg/kg. Os ratos foram monitorados durante 10 dias após a

cirurgia. Amostras de tecido da parede torácica e da axila também foram obtidas para exame histopatológico. Nos resultados apresentados a fenitoína reduziu, expressivamente a formação de seroma. A fibrose que foi significativamente aumentada pela fenitoína pode ser importante para a adesão de retalhos à área cirúrgica e para o preenchimento de espaço morto. A angiogênese foi significativamente reduzida no grupo fenitoína ($p < 0,05$), ficou demonstrado que a vasodilatação é importante na fase inflamatória da cicatrização de feridas e desempenha um papel importante no extravasamento do fluido. A prevenção do aumento da angiogênese e vasodilatação podem reduzir a formação de seroma devido à redução do fluxo do líquido do leito capilar para a área de dissecação. Níveis aumentados de macrófagos e infiltração de linfócitos foram detectados no grupo controle ($p < 0,05$). Nenhuma diferença foi localizada entre os grupos no que concerne a necrose, edema, congestão e infiltração de LNP (leucócitos polimorfonucleares) e fibroblastos. Os autores concluíram que, o efeito redutor na formação de seroma no grupo da fenitoína pode ter ocorrido devido ao seu efeito anti-inflamatório, antiangiogênico, e de aumento da fibrose. Tanto o efeito redutor de seroma da fenitoína como o efeito na formação do seroma precisam de novos estudos para esclarecimentos mais aprofundados.

ESER *et al.* (2014) publicaram um estudo cujo objetivo foi investigar o efeito de redução de seroma na aplicação local de bleomicina após a mastectomia. Foram utilizados, neste estudo, dezesseis ratos fêmeas *Wistar* albino. Os ratos foram divididos em dois grupos iguais. Sob anestesia geral, todos os ratos foram submetidos à mastectomia unilateral

como definido por Harada. O soro fisiológico foi aplicado aos animais no Grupo I (Grupo Controle) e bleomicina ao Grupo II. O local da mastectomia foi explorado no 10º dia do pós-operatório. As amostras de seroma e tecido para o exame histopatológico foram obtidos a partir da axila e parede torácica. Os pesquisadores concluíram que a aplicação local do sulfato de bleomicina pode ser uma opção terapêutica em pacientes com formação de seroma, bem como nos pacientes com derrame pleural maligno. No entanto, estudos adicionais que comparem a eficácia e os efeitos adversos (relação benefício/ prejuízo) do sulfato de bleomicina são necessários.

QVAMME *et al.*, (2015) avaliaram o efeito da administração local de esteróides na formação de seroma. Realizaram um estudo duplo-cego, randomizado, controlado por placebo de uma dose única de 80 mg de metilprednisolona versus solução salina na formação de seroma após a mastectomia. Os resultados apresentados pelos autores incluíram 212 mulheres agendadas para mastectomia por câncer de mama primário. Depois de mastectomia (M) + biopsia do linfonodo sentinela (SLNB), 32 (46 %) de 69 mulheres desenvolveram um seroma no grupo etilprednisolona, em comparação com 52 (78 %) de 67 no grupo de solução salina ($p < 0,001$). O volume médio de seroma acumulado na população com a intenção de tratar nos primeiros 10 e 30 dias foi significativamente menor no grupo da metilprednisolona (24 ml contra 127 ml no grupo salina, e 177 versus 328 ml respectivamente) ($p < 0,001$). Depois de M + dissecação de linfonodo axilar (ALND), proporções semelhantes de pacientes desenvolveram seroma nos grupos na metilprednisolona (35 de

37, 95 %) e da solução salina (34 de 36, 94 %), e a administração de metilprednisolona não apresentou efeito significativo na formação de seroma. Não foram observadas diferenças na taxa de infecção. A metilprednisolona não apresentou efeito sobre a formação de seroma após M + ALND, sugerindo que o trauma cirúrgico após a linfadenectomia axilar é grande demais para ser administrado por uma única dose de esteróide. Além disso, o processo inflamatório em M + ALND e M + SNLB pode ser diferente, resultando em dois tipos de seroma. A análise dos perfis de citocinas poderia resolver isso. Repetido o tratamento com esteróides e / ou redução do trauma, também pode ser benéfico, e a supressão da resposta imune pode exercer efeitos adicionais. Os autores concluíram que a metilprednisolona administrada na cavidade da ferida no primeiro dia após M + SLNB exerceu um efeito preventivo altamente significativo contra a formação de seroma durante os próximos 30 dias. Este efeito não foi visto no grupo M + ALND. Estudos futuros poderão esclarecer se doses maiores ou repetidas de metilprednisolona aumentam a sua eficácia.

HUANG et al., (2017), também afirmam que a formação de seroma é uma das complicações mais comuns após a mastectomia radical modificada. A sapilina, também conhecida como OK-432, uma mistura de *Streptococcus pyogenes* avirulenta liofilizada do grupo A e penicilina G. OK-432 não apenas reduziu a duração da drenagem de sucção, mas, também reduziu significativamente a formação de seroma e a necessidade de punção aspirativa após modificação radical de mastectomia em um estudo anterior. Os retalhos de pele dos ratos tratados com sapilina (OK-

432) ou com glicose hipertônica 50% fecharam mais rapidamente do que os retalhos de pele dos ratos tratados com solução salina normal. O aumento da angiogênese foi maior nos retalhos cutâneos dos camundongos do grupo sapilina do que nos outros dois grupos. Como a angiogênese é uma etapa essencial do processo de cicatrização de feridas, os pesquisadores investigaram se a sapilina poderia induzir a angiogênese nos retalhos cutâneos. Aumento da expressão de mRNA e proteína de marcadores de angiogênese (VEGF-A e HIF-1 α) e marcadores de síntese de colágeno (FGF2 e TGF- β 1) foram observados nos camundongos no grupo Sapilina (OK-432) quando comparado com os ratos tratados com solução salina ou glicose hipertônica a 50%. A proteína de remodelação da matriz extracelular MMP2 foi altamente expressiva apenas no tratamento com retalhos de pele no 3º dia ($p < 0,001$ para SA versus NS, $p < 0,01$ para SA versus HG); no entanto, não houve diferenças na expressão de MMP2 entre os três grupos no 7º dia, indicando que na fase inicial da cicatrização de feridas, a sapilina (OK-432) ajudou a remover a lesão da matriz extracelular e promoveu angiogênese e migração celular no tecido lesionado. Os autores concluíram que a sapilina (OK-432) é benéfica para a cicatrização de feridas, pois, promove o fechamento das mesmas e induz a angiogênese, a fibrose, a síntese de colágeno e a remodelação da matriz na incisão.

MÉTODO

4 MÉTODO

4.1 Desenho da Pesquisa

Trata-se de um estudo primário, intervencional, experimental, longitudinal, prospectivo, epidemiológico analítico, controlado, randomizado, realizado em centro-único, laboratório de pesquisas na área de saúde do Programa de Pós-Graduação em Cirurgia Translacional da UNIFESP.

Neste estudo foram utilizados 60 ratos da espécie *Rattus norvegicus albinus* da linhagem *Wistar-EPM*. Este projeto foi submetido e aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa sob o nº 5707230915, em 14 de setembro de 2016 (APÊNDICE 1). De acordo com a Lei nº 11.794, de 8 de outubro de 2008, e nas demais normas aplicáveis à utilização de animais em ensino e/ou pesquisa, especialmente as Resoluções Normativas do Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal – CONCEA, deve-se atentar para o Grau de Invasividade (GI). Neste estudo foi classificado como GI3.

Para o alcance dos objetivos dessa pesquisa, foram criados alguns protocolos de procedimentos: preparação da amostra de animais em três grupos, inclusão e exclusão de animais, teste dos materiais, instrumentais e medicamentos, e preparação da equipe que assistiu ao cirurgião, constituída de um auxiliar, um técnico de laboratório e um auxiliar do técnico.

4.2 Amostra

4.2.1 Espécie e linhagem

Os ratos da linhagem *Wistar* EPM-1 são da espécie *Rattus norvegicus albinus*. Foram selecionadas 60 fêmeas, com peso entre 200 e 260 gramas, idade aproximada de 12 semanas, oriundas do Biotério Central da Universidade Federal de São Paulo – CEDEME.

Foram separadas aleatoriamente conforme sorteio não-eletrônico em três grupos: Grupo I – Controle (n = 20); Grupo II – Glicose Hipertônica 75% (n = 20) e Grupo III – 5-Fluorouracil (5-FU) – (n = 20), sendo um grupo controle e dois de experimento.

Nas ratas a glândula mamária cervical é rudimentar enquanto a torácica é mais difusa, com três mamilos e rodeia a base dos membros anteriores. A glândula abdominal apenas se encontra ligeiramente desenvolvida, enquanto a inguinal apresenta três mamilos e rodeia a base dos membros posteriores (Figura 1) (O'MALLEY, 2007; AUGUSTO, 2012).

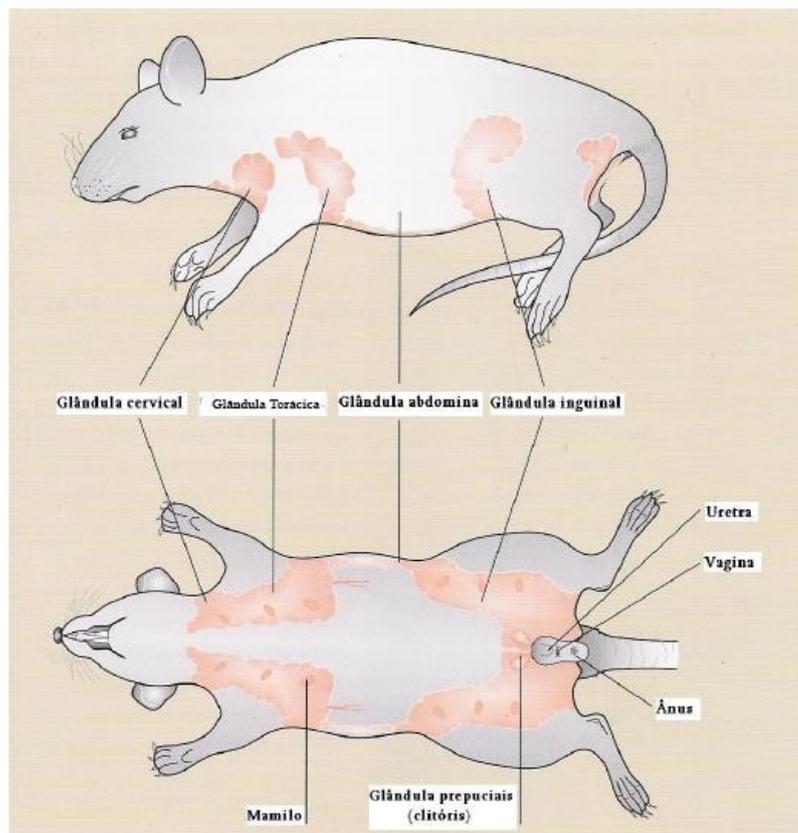


Figura 1 – Disposição anatômica da glândula mamária nos ratos e murganchos.

Fonte: adaptado de Keeble & Meredith, 2008; O'Malley, 2007.

4.2.2 Cálculo amostral

Neste estudo o tamanho da amostra foi validado pelo Teste de Fisher com o valor de ($p < 0,05$).

Foram selecionadas 60 ratas *Wistar*: Grupo I – Controle ($n = 20$) – sítio operatório suturado; Grupo II – Glicose Hipertônica 75% ($n = 20$) – os animais receberam no sítio operatório 1 mL de glicose hipertônica a 75% e,

posteriormente, suturados; no Grupo III – 5-Fluorouracil (5-FU) – (n = 20) – receberam no sítio operatório 1 mL de 5-FU e, posteriormente, suturados.

4.2.3 Ambiente

Os animais (ratas) foram mantidos no Biotério nº 3, devidamente cadastrados na Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA), à Rua Sena Madureira, 1500 - São Paulo - SP CEP: 04021-001 Pabx: (11) 5576-4000.

As ratas permaneceram por uma semana em ambientação no biotério do laboratório experimental de transplante de órgãos da Unifesp, em gaiolas plásticas medindo 40 x 34 x 17 centímetros, cama de maravalha, com até cinco animais em cada uma. Esses animais são sociáveis e, dado a isso, as ratas foram alojadas em grupos, para evitar o isolamento e como forma de assegurar que desenvolvessem comportamento e fisiologia normais.

O ambiente foi mantido controlado com: temperatura de 23°C, iluminação artificial (130 a 325 lux) e controle automático do ciclo claro/escuro de 12 horas.

Para a alimentação foi distribuída ração própria para a espécie do tipo (Nuvilab®, CR01) e água filtrada, oferecidas à vontade.

Após a cirurgia elas ficaram separadas, individualmente, em gaiolas.

4.2.4 Critérios de inclusão e exclusão

Os critérios considerados para a inclusão foram idade aproximada de 12 semanas, com peso entre 200 e 260 gramas e fêmeas, oriundas do Biotério Central da Universidade Federal de São Paulo – CEDEME.

Os critérios considerados para exclusão fizeram parte dos Protocolos criados para esta pesquisa, neste caso, os animais que apresentassem complicações como deiscência, infecção, óbito seriam, automaticamente, descartados e substituídos por outros, mantendo-se o número de 60 animais.

4.3 Delineamento x desenho da pesquisa

Após as cirurgias, os animais foram separados pelo Técnico do Laboratório nos três grupos de estudo. O pesquisador e o profissional do laboratório detinham o conhecimento da separação e da identificação em relação a qual grupo o animal pertencia.

As 60 ratas foram mastectomizadas com linfadenectomia do lado esquerdo, por opção do cirurgião e, divididas, aleatoriamente, em três grupos, conforme o Quadro 1.

Quadro 1 – Distribuição dos animais nos grupos de estudo

GRUPOS	Número de Animais (n)	PROCEDIMENTO
I Controle	20	Sítio operatório suturado
II Glicose 75%	20	Receberam no sítio operatório 1 ml de glicose hipertônica a 75% e, posteriormente, suturados.
III 5-FU	20	Receberam no sítio operatório 1 ml de 5-Fluorouracil e, posteriormente, suturados.

Todos os grupos de animais tiveram acompanhamento clínico e exame físico para observação de aparecimento do seroma a cada 24, 48, 72 horas, no 7º e 12º dia do pós-operatório.

Posteriormente foi realizada uma análise comparativa entre as 20 ratas mastectomizadas nas quais foi injetada a glicose hipertônica; as 20 ratas que receberam 5-FU e as 20 ratas do grupo I - Controle.

4.4 Procedimentos

Os procedimentos para a cirurgia das ratas foram realizados em três etapas: pré-operatório, constituído do procedimento anestésico e da tricotomia, operatório e pós-operatório.

4.4.1 Primeira Etapa – Procedimento pré-operatório

Nesta etapa de procedimentos do pré-operatório que envolve o processo anestésico e a tricotomia estão incluídas as Figuras de 2, 3 e 4.

Para a tricotomia foi utilizado um estojo constituído de um aparelho tricotomizador com bateria recarregável (3M), acompanhado de uma lâmina de encaixe fixo 9670. A tricotomia da região ventral ficou circunscrita à incisão operatória com auxílio de dispositivos cortantes, na fase pré-operatória, nas Figuras 2 e 3.



Figuras 2 – Tricotomia.

Em posição de decúbito dorsal foi realizada a antissepsia dos animais com álcool 70%.



Figura 3 – Após tricotomia em decúbito dorsal.

Para a realização das cirurgias foram receitados um anestésico e um relaxante muscular como a combinação de Cloridrato de Xilazina (relaxante muscular) e Cloridrato de Cetamina (anestésico geral). Foi aplicado o relaxante muscular Cloridrato de Xilazina – 6-9 mg/kg.

O procedimento anestésico foi realizado com: Cloridrato de Xilazina – relaxante muscular – 6-9 mg/kg; Cloridrato de Cetamina – anestésico geral – 25-50 mg/kg 1ml x kg – sendo 80% de Cloridrato Cetamina e 20% de Cloridrato de Xilazina. Tempo de duração da anestesia: 30 a 45 minutos.

O anestésico geral Cloridrato de Cetamina foi aplicado de 25-50 mg/kg, com uma seringa de 3 mm – agulha 0,70 x 0,25 descartável, intraperitoneal, por ser predominantemente usada na medicina veterinária, devido à facilidade de administração comparada com outros métodos parenterais (Figura 4).



Figura 4 – Procedimento anestésico.

4.4.2 Técnica operatória

Na Figura 5 observa-se a marcação do sítio cirúrgico com caneta azul.

Na sequência foi colocado o campo fenestrado e deu-se início ao procedimento cirúrgico em condições estéreis.



Figura 5 – Animal anestesiado com a marcação (delimitação) do campo cirúrgico.

As ratas foram operadas por um único cirurgião. Iniciou-se o procedimento por incisão paratorácica paramediana esquerda de concavidade do lado esquerdo (Figura 6). Para dissecação por planos e exérese da glândula mamária e linfadenectomia dos gânglios da região foi usada a lâmina de bisturi de aço inoxidável nº 15.

Procedeu-se, a seguir, o descolamento dos retalhos.

As Figuras 6, 7 e 8 ilustram o procedimento cirúrgico com a incisão e o deslocamento dos retalhos.

O cirurgião faz a incisão para o deslocamento dos retalhos. No procedimento cirúrgico, para cada animal, foram utilizados os seguintes instrumentos para pequenos procedimentos: cabo de bisturi com lâmina nº 15, uma tesoura de Íris com ponta romba, duas pinças Kely – uma curva e uma reta e um porta-agulhas com vídea.



Figura 6 – Procedimento cirúrgico: incisão e deslocamento dos retalhos.



Figura 7 – Procedimento cirúrgico: incisão no panículo carnoso.



Figura 8 – Procedimento cirúrgico: identificação da glândula mamária.

Na sequência, a glândula mamária foi excisada (Fig. 9).



Figura 9 – Procedimento cirúrgico: início da exérese da glândula mamária.

A seguir o plano de descolamento foi identificado e dissecado (Figura 10).

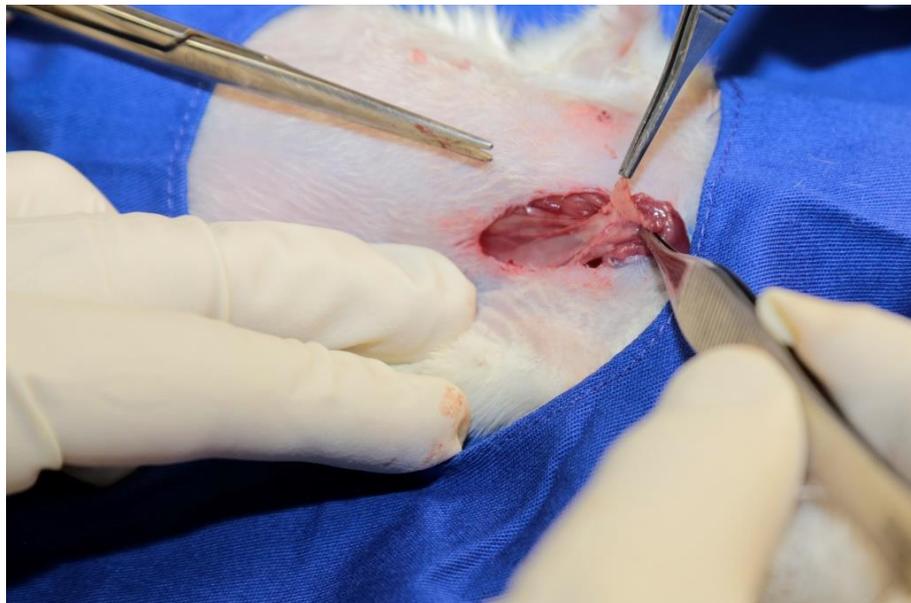


Figura 10 – Exérese da glândula mamária.

A seguir a ressecção glândula mamária (Figuras 11 e 12).



Figura 11 – Glândula mamária ressecada

A glândula mamária sobre gaze umidificada em soro fisiológico (SF).

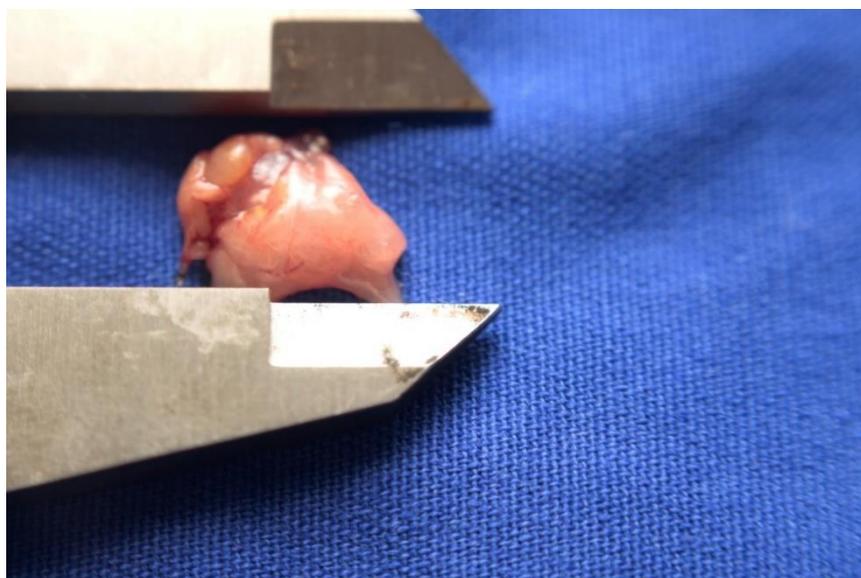


Figura 12 – Glândula mamária ressecada (medição).

A seguir, os gânglios linfáticos foram identificados e retirados com o auxílio de lupa cirúrgica binocular Kepler FD-501-K aumento de 5.0x (Figuras 13 e 14).

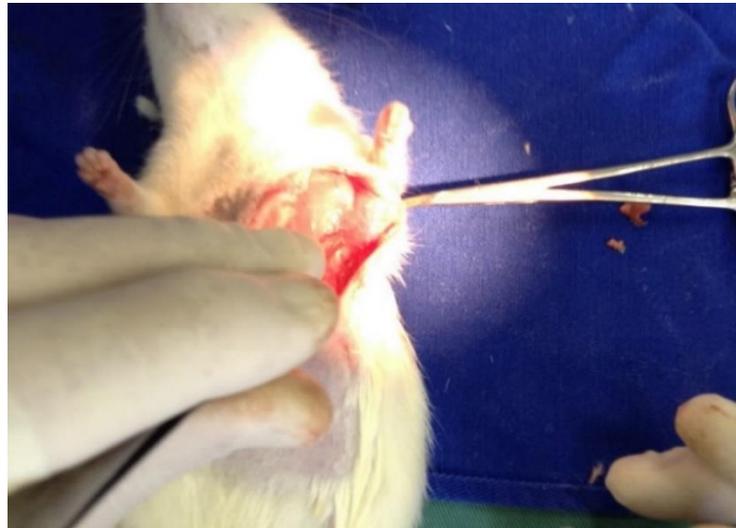


Figura 13 – Gânglios linfáticos identificados com o auxílio de lupa. Identificação, abertura e deslocamento do panículo carnoso nas direções superior, inferior, lateral direito e esquerdo.

Os gânglios linfáticos retirados como última etapa do processo operatório (Fig. 14).

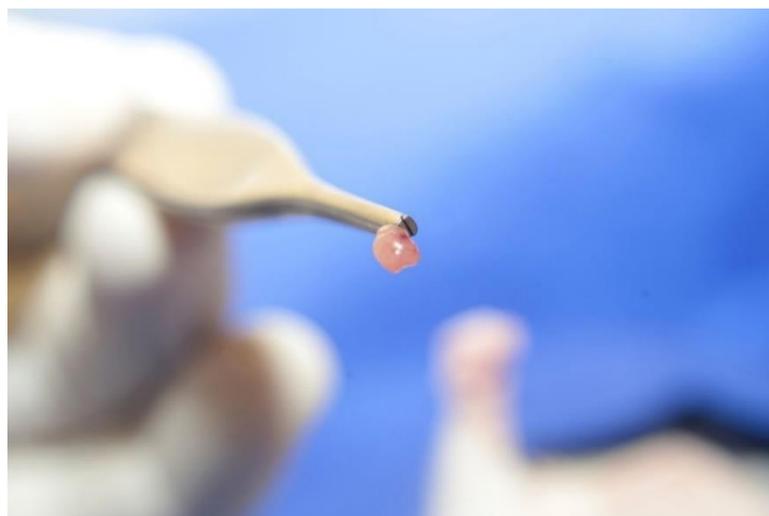


Figura 14 – Glânglio linfático.

A cirurgia durou, em média 20 minutos e as ratas apresentaram boas condições pós-cirúrgicas e boa recuperação.

4.4.3 Terceira Etapa - procedimento pós-operatório

Os procedimentos do pós-operatório foram realizados por etapas, em todos os grupos, conforme descrito a seguir.

4.4.3.1 Exposição/inoculação de substâncias

Grupo I - Controle – neste grupo foi realizado o fechamento da incisão após os procedimentos cirúrgicos. As suturas nos três grupos foram realizadas com fios de sutura agulhados de monofilamento preto (Procure®), nº 4-0 com pontos simples, com intervalo de 2 mm.

Grupo II, imediatamente após a cirurgia foi feito uso tópico no sítio cirúrgico de 1,0 ml de glicose hipertônica anidra 75% D.C.B.: 04485 (HalexIstar®) por meio de instilação, sem extravasamento, com seringa de 3 ml, e em seguida os animais foram suturados.

Grupo III, imediatamente após a cirurgia foi feito uso tópico no sítio cirúrgico de 1,0 ml de 5-FU por meio de instilação com seringa de 3 ml, sem extravasamento (Fig. 15) e, em seguida os animais foram suturados.

Para analgesia pós-cirúrgica imediata foi utilizado Tramadol 15 mg/kg intramuscular, antes da recuperação anestésica.

No pós-operatório foi feita analgesia por três (3) dias consecutivos com Cetoprofeno (5 mg/kg) por via subcutânea a cada 24 horas.



Figura 15 – Instilação do 5-FU no sítio cirúrgico.

A seguir, o cirurgião realizou o fechamento com fio de Mononylon filamentado 4-0, ponto simples, com intervalo de 2 a 3 mm (Fig 16 e 17).



Figura 16 – Síntese da incisão cirúrgica.



Figura 17 – Aspecto final.

Mostra a rata em decúbito dorsal, com sutura simples, finalizada com Mononylon filamentado nº 4-0, com intervalos de 2 e 3 mm.

4.4.3.2 Coleta de material para análise

A cada 24, 48 e 72 horas e nos 7^o e 12^o dias após a cirurgia foi realizado acompanhamento clínico e exame físico como palpação de todos os animais com o intuito de observar e/ou constatar se houve ou não o aparecimento de seroma. Uma vez encontrado, o seroma foi puncionado com uma seringa de 0,70 x 30 mm e mensurado em ml, conforme Apêndices 3 a 5.

Para a coleta do seroma, os animais foram imobilizados, manualmente, em posição de decúbito dorsal e, em seguida, foi feita assepsia com Clorexidina Alcoólica. Uma seringa de 3 mL com agulha de calibre (0,70 x 30 mm) foi utilizada para a punção que foi realizada na

posição perpendicular. O líquido foi aspirado e o volume foi medido. Todos os valores foram anotados em cada grupo. O conteúdo foi descartado após a mensuração.

Destaca-se que, no 12º dia não foi constatado nenhum sinal de seroma por meio do exame físico. Para que não houvesse dúvida todos os ratos foram aspirados (puncionados) com a seringa de 3 mL e agulha de 0,70 x 30 mm.

O acompanhamento diário destes animais não evidenciou nenhum comprometimento na ferida operatória com padrão de cicatrização de primeira intenção. Os animais dos três grupos apresentaram normalidade em todos atos fisiológicos básicos, tais como: respiração, circulação e digestão.

Neste momento o pesquisador tinha conhecimento completo das informações relacionadas aos três grupos, juntamente com o técnico do laboratório.

No 12º dia, os animais foram colocados em posição de decúbito dorsal e, em seguida foi feita a assepsia e os medicamentos foram injetados, Lidocaína (10 mg/mL) foi administrada 10 minutos antes do Tiopental (120 mg/kg intraperitoneal) encerrando o processo da eutanásia.

Após a eutanásia foi realizada a incisão e um fragmento de tecido foi colhido e encaminhado para análise histopatológica.

Foi realizada a remoção de fragmento de 2 x 0,5 cm de área, com 1 cm de profundidade (1 cm³) do quadrante superior externo do tecido muscular e supra muscular da lâmina aponeurótica (Figura 18). Foi desenhada uma linha em cima da cicatriz da primeira cirurgia e na intersecção da metade desse traço foi feita uma linha transversal de 1,0 cm

de comprimento, na incisão hemitorácica e linha paramediana esquerda, formando quadrantes superior e inferior/ direito e esquerdo. Todas as coletas foram realizadas no quadrante superior direito, ressaltando-se que a incisão cirúrgica ocorreu exatamente em cima da cicatriz anterior. Lembrando que a glândula torácica do animal é a mais exuberante.

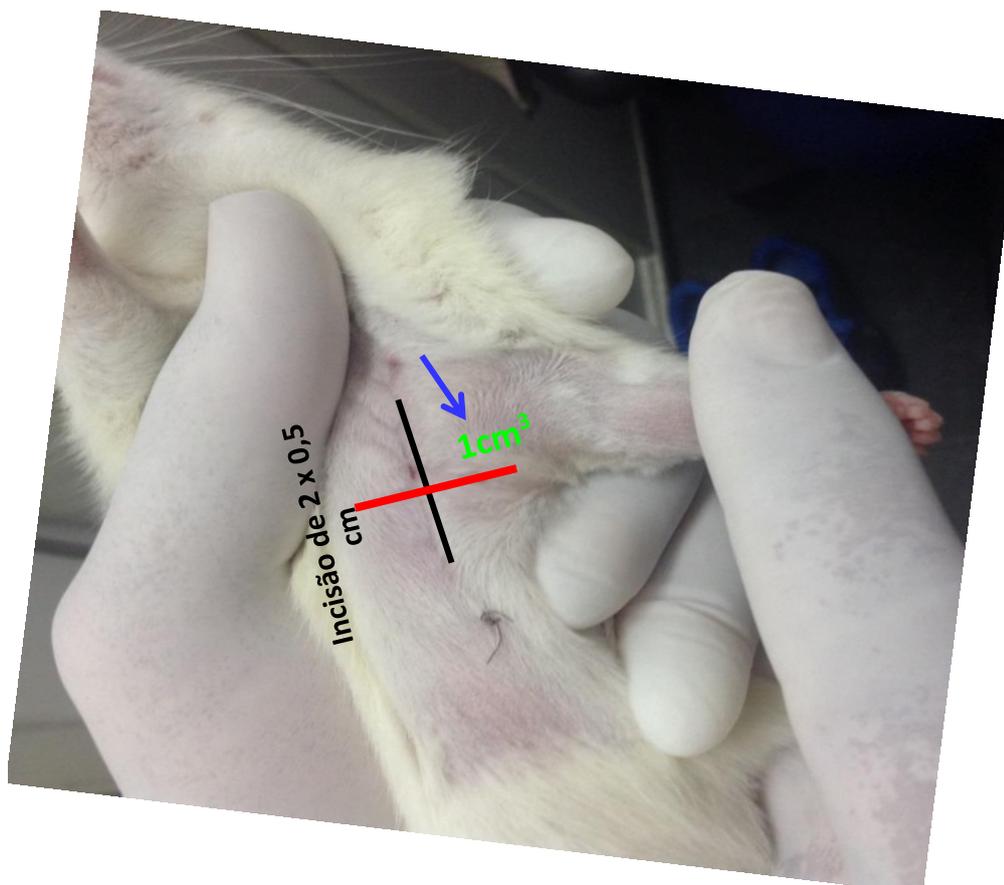


Figura 18 – Coleta de fragmento de tecido para análise histológica.

Os animais foram retirados pelo pesquisador e descartados no lixo biológico para serem incinerados.

4.5 Preparação das amostras para análise histológica

Após a retirada das amostras estas foram colocadas em formol tamponado neutro a 10% até o momento de preparo das lâminas para análise histopatológica. Para a coloração das lâminas utilizou-se a Hematoxilina/Eosina (HE). Os cortes foram corados com hematoxilina de Mayer, corante básico por 8 minutos e deixados em água da torneira por 20 minutos, em seguida em eosina 0,5%, corante ácido por 30 segundos. Logo após foram desidratados em solução de álcoois 70% crescentes. Foram diafanizadas ou clarificadas com o solvente xilol, depois foram cobertas com bálsamo e lamínulas.

4.6 Análise estatística

A análise estatística de todas as informações coletadas neste trabalho foi, inicialmente feita de forma descritiva. Para as variáveis categóricas foram apresentadas frequências absolutas e relativas e para as variáveis numéricas, medidas-resumo (média, quartis, mínimo máximo e desvio padrão), assim como a confecção de gráficos tipo *Boxplot*.

Para se avaliar o efeito dos tratamentos sobre o volume do seroma ao longo do tempo foi empregado o modelo de Equação de Estimação

Generalizadas (GEE)², com função de ligação logito e distribuição marginal binomial.

A existência de associações entre as variáveis histológicas de natureza categórica e tratamento foi verificada utilizando-se o teste exato de Fisher devido ao tamanho da amostra³.

Para a comparação das médias das variáveis histológicas de natureza numérica por tratamento, empregou-se a análise de variâncias (ANOVA). Em caso de violação desta suposição ou em virtude de dados censurados⁴ utilizou-se alternativamente o teste não-paramétrico de Kruskal-Wallis. Uma vez detectada as diferenças de médias na ANOVA ou no teste de Kruskal-Wallis.

Para os testes estatísticos considerou-se um nível de significância de 5%.

Os modelos GEE foram estimados utilizando-se o *Software Statistical and Data Science STATA*^{®12}. Para as demais análises empregou-se o *software* estatístico *Statistical Package for the Social Sciences (SPSS)*[®] - IBM[®]/SPSS[®] 20.0.

² Zeger, S. L., & Liang, K. Y. (1986). Longitudinal data analysis for discrete and continuous outcomes. *Biometrics*, 42, 121–130.

³ Mais de 20% das caselas de uma tabela de contingência com valores esperados inferiores a 5 casos.

⁴ Linfócitos e Neutrófilos tiveram como limiares de mensuração, respectivamente, valores superiores a 200 e 100.

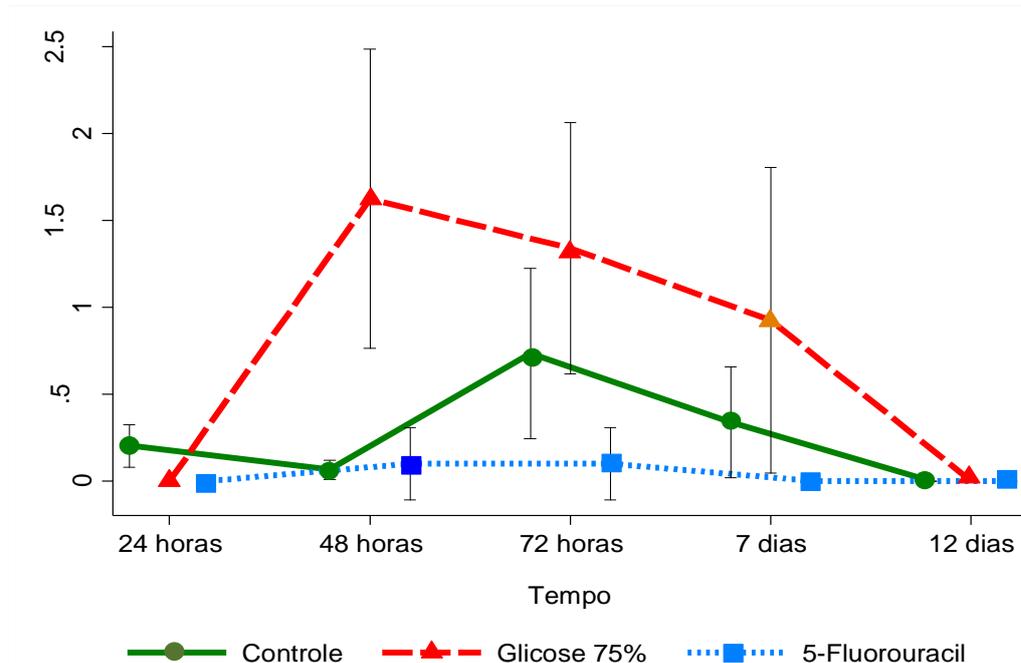
RESULTADOS

5 RESULTADOS

O acompanhamento diário não evidenciou nenhum comprometimento na ferida operatória, no entanto, é importante relatar que uma semana após a realização das cirurgias, um animal do Grupo I - Controle e dois do Grupo II - Glicose 75% apresentaram complicações como deiscência nos ferimentos. Estes animais foram descartados e, imediatamente, substituídos, conforme Protocolo desta pesquisa.

5.1 Resultados Estatísticos

A Figura 19 apresenta as médias do volume do seroma e respectivos intervalos de confiança de 95%, por tipo de tratamento Grupo I – Controle, Grupo II – Glicose 75% e Grupo III – 5-Fluouracil ao longo dos momentos de avaliação (24h, 48h, 72h e nos dias 7º dias e 12º).



GRUPOS	MOMENTOS DE AVALIAÇÃO (mL)					p ¹ (t)
	24 horas	48 horas	72 horas	7 dias	12 dias	
Controle (I)	0,20 ± 0,19 ^B	0,07 ± 0,19 ^B	0,74 ± 0,19 ^A	0,34 ± 0,19 ^B	0,00 ± 0,19 ^B	0,016
Glicose 75% (II)	0,00 ± 0,19 ^B	1,63 ± 0,19 ^A	1,34 ± 0,19 ^A	0,93 ± 0,19	0,00 ± 0,19 ^B	<0,001
5-FU (III)	0,00 ± 0,19	0,10 ± 0,19	0,10 ± 0,19	0,00 ± 0,19	0,00 ± 0,19	0,980
p ² (mL)	0,684	<0,001	<0,001	0,002	1,000	

Nota:

- Efeito de interação tempo e grupo (p<0,001)
- p¹ e p² - níveis descritivos respectivamente dos efeitos de tempo e grupo
- A e B apresentam tempos com médias distintas, segundo teste de Wald com correção de Bonferroni.
- Comparações de grupos, segundo teste de Wald com correção de Bonferroni - 48h , 72h e 7d: glicose 75% > controle = 5-Fluorouracil

Figura 19 – Médias do volume do seroma e respectivos intervalos de confiança de 95% por tratamento ao longo dos momentos de avaliação.

De acordo com a Figura 19, segundo o tipo de tratamento, pode-se notar que a evolução das médias dos volumes do seroma não foi similar para todos os grupos, indicado pela presença de interação entre tratamento

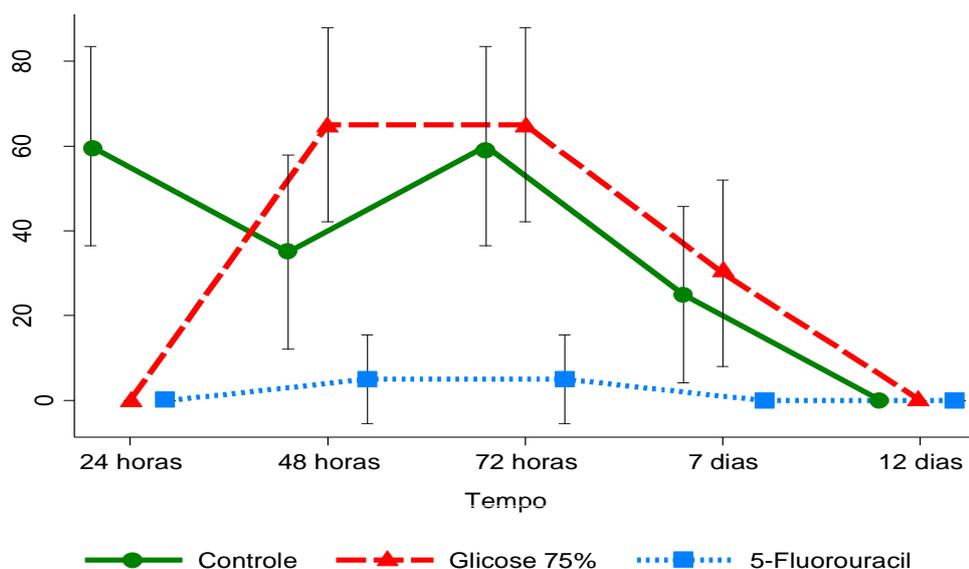
e tempo ($p < 0,001$). Dessa forma, observaram-se médias distintas ao longo do tempo tanto para o Grupo I - Controle ($p = 0,016$) como para o Grupo II - ratas tratadas com Glicose 75% ($p < 0,001$), ao contrário do Grupo III - 5-FU para o qual não foram observadas diferenças de médias ao longo dos momentos de avaliação ($p = 0,980$).

No Grupo I - Controle, a média após 72 horas mostrou-se superior aos dos demais momentos. No Grupo II - Glicose 75%, as médias após 48 e 72 horas apresentaram-se similares e superiores aos de pós 24 horas e 12 dias. Não foram verificadas diferenças de médias no 7º dia pós-operatório com os demais momentos.

Adicionalmente, verificaram-se diferenças de médias entre tratamentos 48 horas ($p < 0,001$), 72 horas ($p < 0,001$) e 7 dias ($p = 0,002$) pós intervenção, diferentemente dos instantes inicial ($p = 0,684$) e final ($p = 1,000$).

Para os instantes 48h, 72h e 7 dias pós-operatório, o Grupo com Glicose a 75% apresentou média superior ao Grupo Controle e 5-FU, similares entre si, conforme comparações de grupos, segundo teste de Wald com correção de Bonferroni.

A Figura 20 apresenta a distribuição por *status* do seroma (ausência ou presença), segundo momentos de avaliação (24h, 48h, 72h e nos 7º e 12º dias) e tratamentos (Grupo I – Controle, Grupo II – Glicose 75% e Grupo III – 5-FU).



GRUPOS	MOMENTOS DE AVALIAÇÃO					p ¹ (t)
	24 horas	48 horas	72 horas	7 dias	12 dias	
Controle (I)	60,0 ± 10,95 ^A	35,0 ± 10,66 ^B	60,0 ± 10,95 ^A	25,0 ± 9,68 ^B	0,0 ± 1,15 ^B	0,041
Glicose 75% (II)	0,0 ± 2,57 ^C	65,0 ± 10,66 ^A	65,0 ± 10,66 ^A	30,0 ± 10,24 ^B	0,0 ± 1,15 ^C	<0,001
5-Fluorouracil (III)	0,0 ± 1,15	5,0 ± 4,67	5,0 ± 4,67	0,0 ± 1,15	0,0 ± 1,15	0,627
p ² (mL)	0,018	0,002	0,001	<0,001	1,000	

Nota:

- Efeito de interação tempo e grupo ($p < 0,001$)
- p¹ e p² - níveis descritivos respectivamente dos efeitos de tempo e grupo
- A, B e C apresentam tempos com médias distintas, segundo teste de Wald com correção de Bonferroni.
- Comparações de grupos 24h: controle > glicose 75% = 5-Fluorouracil; 48h: glicose 75% > 5-Fluorouracil; 72h e 7 dias: controle = glicose 75% > 5-Fluorouracil

Figura 20 – Porcentagem de presença ou não de seroma e respectivos intervalos de confiança de 95% por tratamento ao longo dos momentos de avaliação.

De acordo com a Figura 20, que indica a presença de interação entre tratamento e tempo ($p < 0,001$), pode-se notar que a evolução da ocorrência de seroma não foi similar para todos os grupos. Dessa forma, observaram-se porcentagens distintas ao longo do tempo, tanto para o Grupo I - Controle ($p = 0,041$) como para o Grupo II de ratas tratadas com Glicose

75% ($p < 0,001$), ao contrário do Grupo III 5-FU para o qual não se observou diferenças nas porcentagens de ocorrências de seroma ao longo dos momentos de avaliação ($p = 0,627$).

No Grupo I Controle, as porcentagens após 24 e 72 horas mostraram-se similares e superiores aos dos demais momentos. No Grupo II Glicose 75%, as porcentagens após 48 horas e 72 horas apresentaram-se similares e superiores ao de 7 dias, o que por sua vez foi superior ao dos instantes inicial e final, ou seja, 24 horas e 12 dias. Adicionalmente, foram verificadas diferenças de porcentagens entre tratamentos em todos os instantes, exceto 12 dias pós-intervenção. Após 24 horas de intervenção, o Grupo I Controle apresentou maior ocorrência de seroma, comparativamente aos outros tratamentos que não apresentaram ocorrência de seroma. Na avaliação seguinte (48h pós), o Grupo II Glicose apresentou maior ocorrência do que o Grupo III 5-FU, não sendo possível verificar diferença da porcentagem do Grupo I Controle com os demais grupos.

Após 72 horas e sete dias, os Grupos I e II Controle e Glicose a 75%, respectivamente, apresentaram porcentagens similares e superiores ao do Grupo III - 5-FU. Notou-se que 12 dias pós-intervenção nenhum dos grupos apresentou seroma.

5.2 Análise Histológica

As imagens a seguir foram produzidas por fotomicrografia com Objetiva 200x.

Os animais tratados com 5-FU apresentaram padrão histológico compatível com RIC linfo-histiocitária, Figuras 21 e 22.

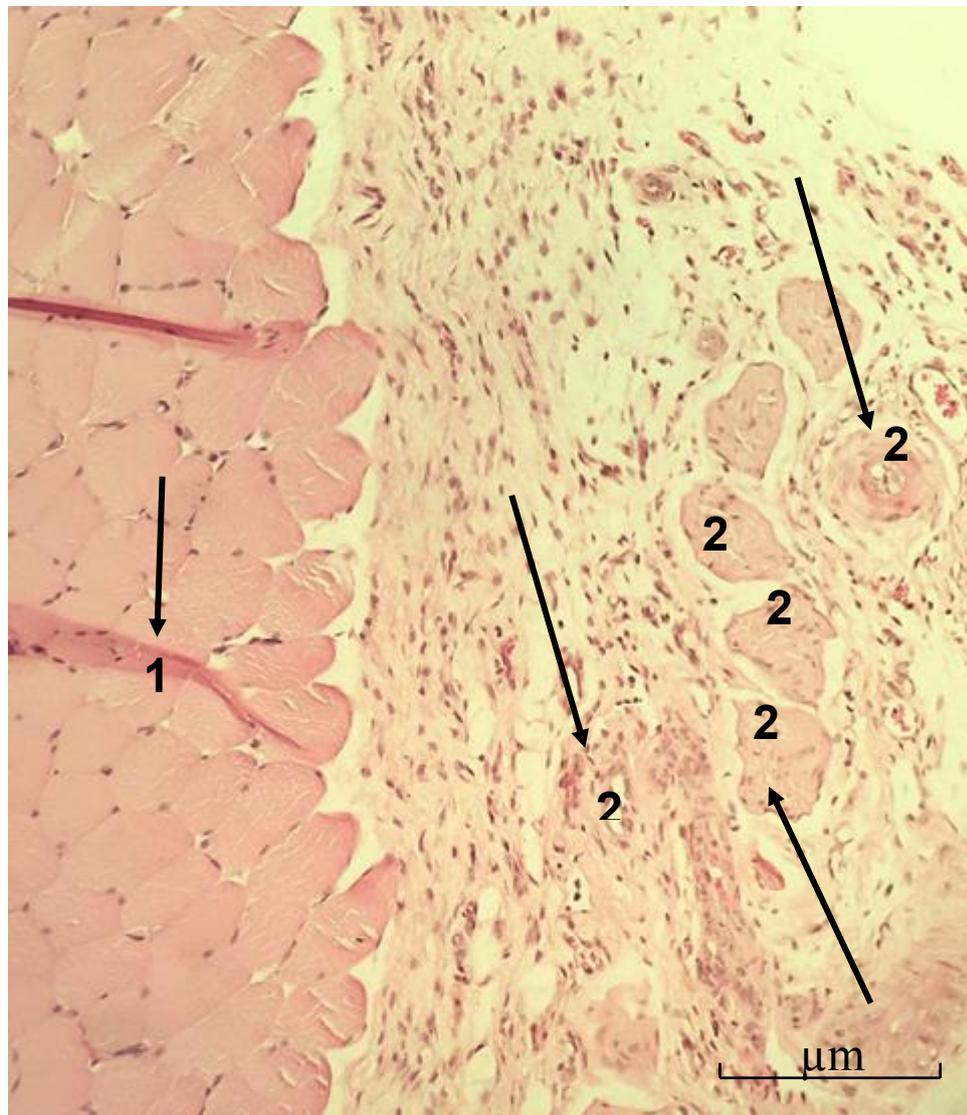


Figura 21 – Análise histológica inflamação Grupo III - 5FU.

1: Tecido muscular esquelético histologicamente preservado. Tecido conjuntivo-adiposo. **2:** Leve reação inflamatória crônica RIC inespecífica linfo-histiocitária, leve fibrose, leve neoangiogênese, leve congestão vascular sanguínea

Destaca-se que o Grupo III - 5FU apresentou maior infiltrado inflamatório linfocitário.

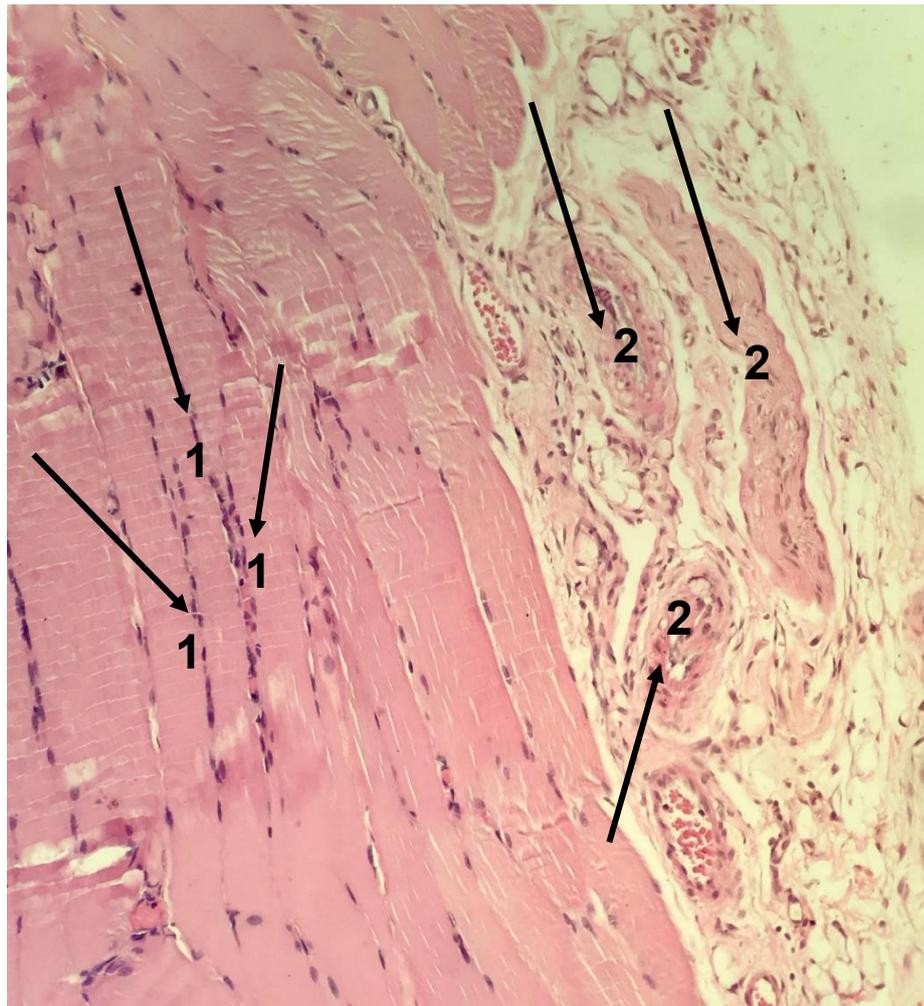


Figura 22 – Análise histológica inflamação Grupo III – 5FU.

1: Tecido muscular esquelético histologicamente preservado. **2:** Tecido conjuntivo-adiposo com leve reação inflamatória crônica RIC inespecífica linfo-histiocitária, leve neangiogênese, leve fibrose.

Os animais pertencentes ao Grupo I – Controle apresentam padrão histológico com infiltrado plasmocitário de macrófagos e neutrófilos – células gigantes Figuras 23 e 24.

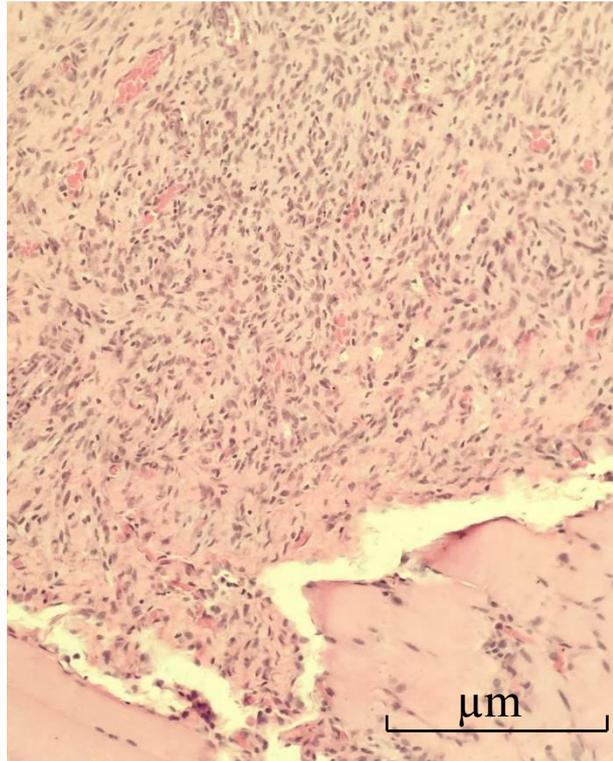


Figura 23 – Análise histológica inflamação - Grupo I - Controle

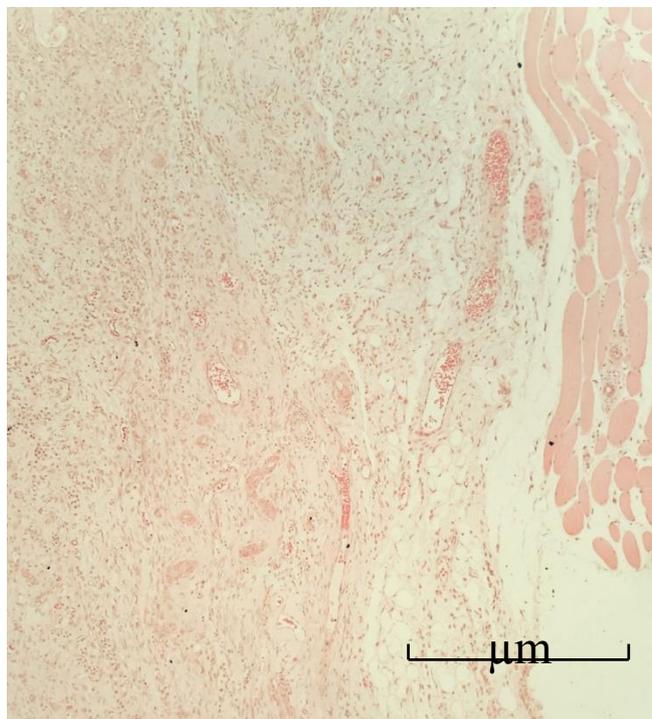


Figura 24 – Análise histológica inflamação – Grupo I – Controle. Fibrose intensa na musculatura.

O Grupo II (n=20) – tratado com Glicose 75% apresentou média inferior do infiltrado inflamatório plasmocitário (Fig. 25 e 26).



Figura 25 – Análise histológica inflamação – Grupo II – Glicose.

1: tecido muscular esquelético - leve reação inflamatória crônica inespecífica (RIC). **2:** tecido conjuntivo-adiposo com leve fibrose, leve reação inflamatória crônica (RIC) inespecífica linfocitária e de histiócitos (linfo-histiocitária) e leve neoangiogênese ou proliferação vascular reativa.

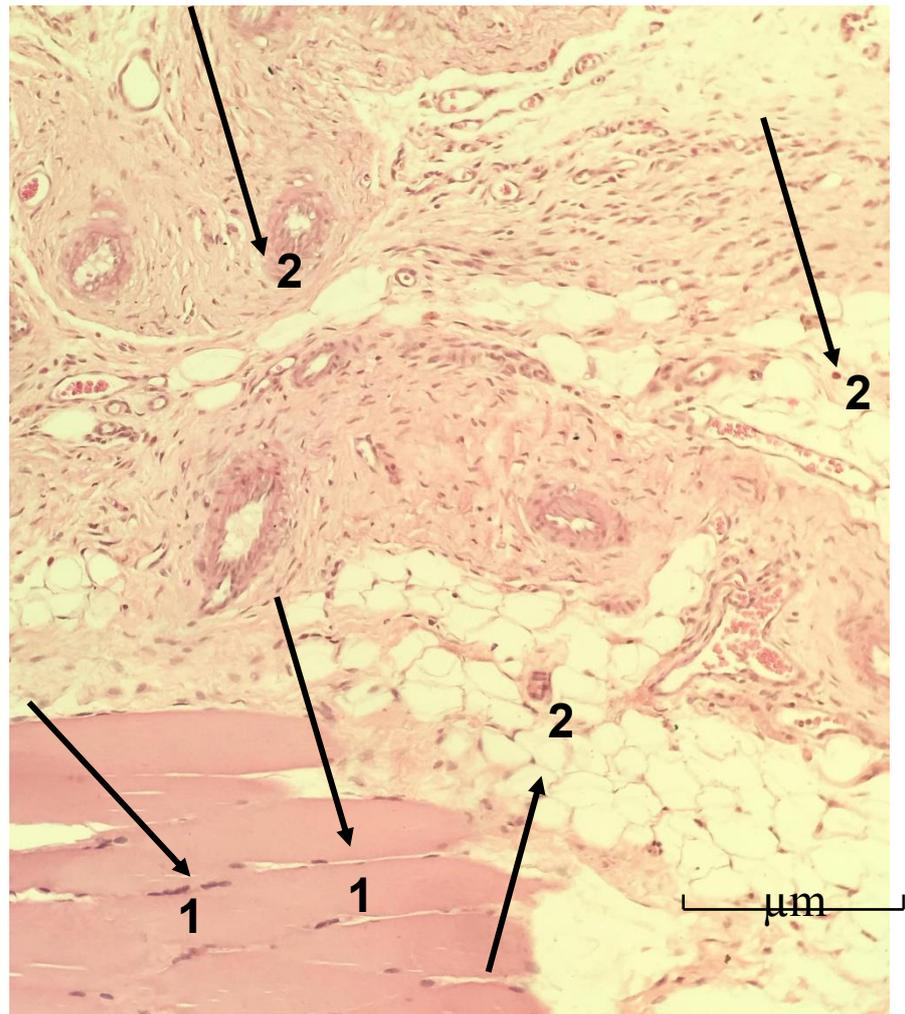


Figura 26 – Análise histológica inflamação – Grupo II - Glucose.

1: Tecido muscular esquelético preservado. **2:** Tecido conjuntivo-adiposo com leve reação inflamatória crônica (RIC) inespecífica linfohistiocitária, leve neoangiogênese, moderada fibrose e leve congestão vascular sanguínea.

A Tabela 1 corresponde à distribuição dos cortes por características histológicas, como inflamação, necrose isquêmica, fibrose, células gigantes de corpo estranho, congestão capilar sanguínea, tecido muscular esquelético inflamado e linfonodos segundo cada tratamento G-III - 5-FU, G-II - Glucose 75% e G-I - Controle.

Tabela 1 – Distribuição dos cortes por características histológicas, segundo os tratamentos Glicose, 5-FU e Controle

Características Histológicas	Tratamento						Total		p
	5-Fluorouracil		Glicose		Controle		N	%	
	N	%	N	%	N	%			
Inflamação (1)	42	100,0%	21	100,0%	18	100,0%	81	100,0%	<0,001
Ausente	10	23,8%	2	9,5%	0	0,0%	12	14,8%	
Leve (1% -- 33%)	11	26,2%	14	66,7%	1	5,6%	26	32,1%	
Moderado (33% -- 66%)	14	33,3%	4	19,0%	3	16,7%	21	25,9%	
Intenso (66% -- 100%)	6	14,3%	1	4,8%	11	61,1%	18	22,2%	
Abscesso	1	2,4%	0	0,0%	3	16,7%	4	4,9%	
Necrose isquêmica	42	100,0%	21	100,0%	18	100,0%	81	100,0%	1,000
Ausente	41	97,6%	21	100,0%	18	100,0%	80	98,8%	
Presente	1	2,4%	0	0,0%	0	0,0%	1	1,2%	
Fibrose (2)	42	100,0%	21	100,0%	18	100,0%	81	100,0%	0,007
Ausente	8	19,0%	2	9,5%	0	0,0%	10	12,3%	
Leve	13	31,0%	4	19,0%	2	11,1%	19	23,5%	
Moderado	9	21,4%	12	57,1%	5	27,8%	26	32,1%	
Intenso	12	28,6%	3	14,3%	11	61,1%	26	32,1%	
Células gigantes de corpo estranho	42	100,0%	21	100,0%	18	100,0%	81	100,0%	0,070
Sim	22	52,4%	12	57,1%	15	83,3%	49	60,5%	
Não	20	47,6%	9	42,9%	3	16,7%	32	39,5%	
Congestão capilar sanguínea (3)	42	100,0%	21	100,0%	18	100,0%	81	100,0%	<0,001
Ausente	5	11,9%	2	9,5%	1	5,6%	8	9,9%	
Leve	28	66,7%	15	71,4%	0	0,0%	43	53,1%	
Moderado	6	14,3%	3	14,3%	6	33,3%	15	18,5%	
Intenso	3	7,1%	1	4,8%	11	61,1%	15	18,5%	
Tecido muscular esquelético inflamado (4)	42	100,0%	21	100,0%	17	100,0%	80	100,0%	0,003
Ausente	20	47,6%	13	61,9%	5	29,4%	38	47,5%	
Leve	11	26,2%	7	33,3%	12	70,6%	30	37,5%	
Moderado	10	23,8%	0	0,0%	0	0,0%	10	12,5%	
Intenso	1	2,4%	1	4,8%	0	0,0%	2	2,5%	
Linfonodos (contagem)¹	42	100,0%	21	100,0%	18	100,0%	81	100,0%	0,474
0	28	66,7%	17	81,0%	16	88,9%	61	75,3%	
1	10	23,8%	3	14,3%	2	11,1%	15	18,5%	
2	4	9,5%	1	4,8%	0	0,0%	5	6,2%	

p - nível descritivo do teste exato de Fisher.

¹ Apesar de a contagem do linfonodo ser de natureza numérica, devido à pequena amplitude observada na amostra (0 a 2), esta variável foi tratada similarmente à de natureza categórica.

De acordo com a Tabela 1, verificaram-se distribuições distintas de (1) inflamação ($p < 0,001$), (2) fibrose ($p = 0,007$), (3) congestão capilar sanguínea ($p < 0,001$), (4) tecido muscular esquelético inflamado ($p = 0,003$) e (5) hemorragia antiga ($p < 0,001$) por tratamento.

O Grupo I do Controle apresentou as maiores porcentagens de inflamação intensa (61,1%) contra 14,3% no Grupo III – 5FU; abscesso (16,7% contra 2,4%); de fibrose intensa (61,1% contra 28,6%) no 5-FU, de congestão capilar sanguínea intensa (61,1% contra 7,1%) no 5-FU e de hemorragia antiga leve (83,3% contra 45,2%).

O Grupo II tratado com Glicose hipertônica 75% quando comparado com Grupo III – 5-FU apresentou as maiores porcentagens de inflamação leve (66,7% contra 26,2%), de fibrose moderada (57,1% contra 27,8%) e hemorragia antiga moderada (28,6% contra 4,8%).

Assim, verificou-se que o Grupo III, tratado com 5-FU apresentou porcentagens maiores de inflamações ausentes (23,8% contra até 9,5%) Grupo II - Glicose, de fibrose leve (31,0% contra 9,5%) e, moderado (21,0% contra no máximo 19,0%) comparativamente aos demais grupos.

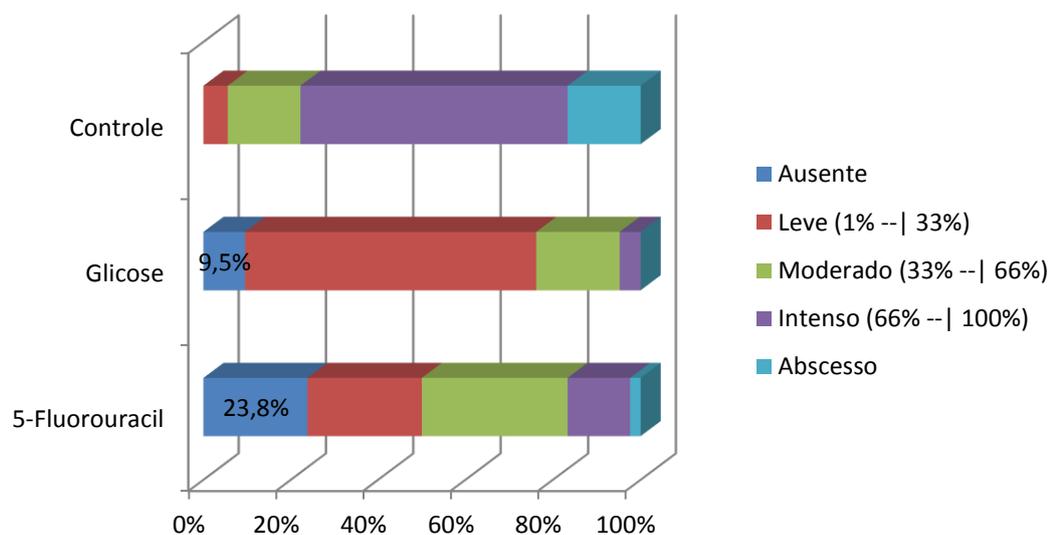
Além disso, este grupo apresentou juntamente com a dos tratados com glicose (Grupo II), as maiores porcentagens de congestão capilar sanguínea leve (acima de 71,4%) e hemorragia antiga leve (47,6%). Em contrapartida, apresentou a maior porcentagem de tecido muscular esquelético inflamado moderado (23,8%).

A Tabela 2 e a Figura 27 ilustram os resultados apresentados.

Tabela 2 – Resumo do resultado da análise histológica da Inflamação.

Inflamação	5-FU	Glicose	Controle
Ausente	23,8%	9,5%	
Leve (1% -- 33%)	26,2%	66,7%	5,6%
Moderado (33% -- 66%)	33,3%	19,0%	16,7%
Intenso (66% -- 100%)	14,3%	4,8%	61,1%
Abscesso	2,4%	0,0%	16,7%

A Figura 27 corresponde ao resumo da Inflamação – uma das características histológicas.

**Figura 27** – Resumo do resultado da análise histológica da Inflamação.

A Tabela 3 corresponde às medidas-resumo de variáveis histológicas por tratamento.

Tabela 3 – Medidas-resumo de variáveis histológicas por tratamento

Variáveis Histológicas	Média	Desvio Padrão	Mínimo	Máximo	1º quartil	Mediana	3º quartil	N	p	Média
Linfócitos (em 10 CGA – campo de grande aumento da área hotspot)										
5-Fluorouracil	55,60 ^B	48,07	0,00	201,00 ⁽¹⁾	20,25	48,50	81,00	42	<0,001 ^a	55,60
Glicose	56,62 ^B	27,27	0,00	102,00	38,00	61,00	76,00	21		56,62
Controle	100,67 ^A	45,03	4,00	235,00	83,25	100,50	115,00	18		100,67
Variáveis Histológicas	Média	Desvio Padrão	Mínimo	Máximo	1º quartil	Mediana	3º quartil	N	p	Média
Plasmócitos (em 10 CGA da área hotspot)										
5-Fluorouracil	0,76	1,01	0,00	4,00	0,00	0,00	1,00	42	0,007 ^a	0,76
Glicose	0,43 ^B	0,75	0,00	2,00	0,00	0,00	1,00	21		0,43
Controle	1,72 ^A	1,67	0,00	6,00	0,00	1,50	2,25	18		1,72
Variáveis Histológicas	Média	Desvio Padrão	Mínimo	Máximo	1º quartil	Mediana	3º quartil	N	p	Média
Macrófagos (em 10 CGA da área hotspot)										
5-Fluorouracil	10,57 ^B	8,49	0,00	36,00	4,00	10,00	14,25	42	0,001	10,57
Glicose	11,24 ^B	5,88	0,00	22,00	8,00	11,00	15,00	21		11,24
Controle	20,67 ^A	11,78	0,00	47,00	12,00	19,00	29,00	18		20,67

Continua ...

Continuação Tabela 3

Variáveis Histológicas	Média	Desvio Padrão	Mínimo	Máximo	1° quartil	Mediana	3° quartil	N	p	Média
> 100	Neutrófilos (em 10 CGA da área hotspot)								0,003 ^a	
5-Fluorouracil	8,36 ^{B'}	31,38	0,00	178,00	0,00	0,00	0,00	42		8,36
Glicose	5,19 ^{B'}	23,11	0,00	106,00	0,00	0,00	0,00	21		5,19
Controle	20,50 ^{A'}	37,54	0,00	101,00 ⁽²⁾	0,00	2,00	17,00	18		20,50
	Angiogênese em 10 HPF								<0,001	
5-Fluorouracil	35,64 ^B	22,51	0,00	90,00	17,25	36,50	50,00	42		35,64
Glicose	41,62 ^B	22,75	0,00	86,00	26,00	39,00	57,50	21		41,62
Controle	110,39 ^A	59,50	0,00	227,00	80,75	93,00	145,25	18		110,39

⁽¹⁾ >200

Linfócitos (em 10 CGA da área hotspot)

⁽²⁾ >100

Plasmócitos (em 10 CGA da área hotspot),

p – nível descritivo da ANOVA ou do teste de Kruskal-Wallis^(a).

(A) e (B) apresentam médias distintas segundo comparações múltiplas de Duncan.

Macrófagos (em 10 CGA da área hotspot)

Neutrófilos (em 10 CGA da área hotspot)

(A') e (B') apresentam médias distintas segundo comparações múltiplas de Dunn-Bonferroni

Angiogênese (em 10 HPF)

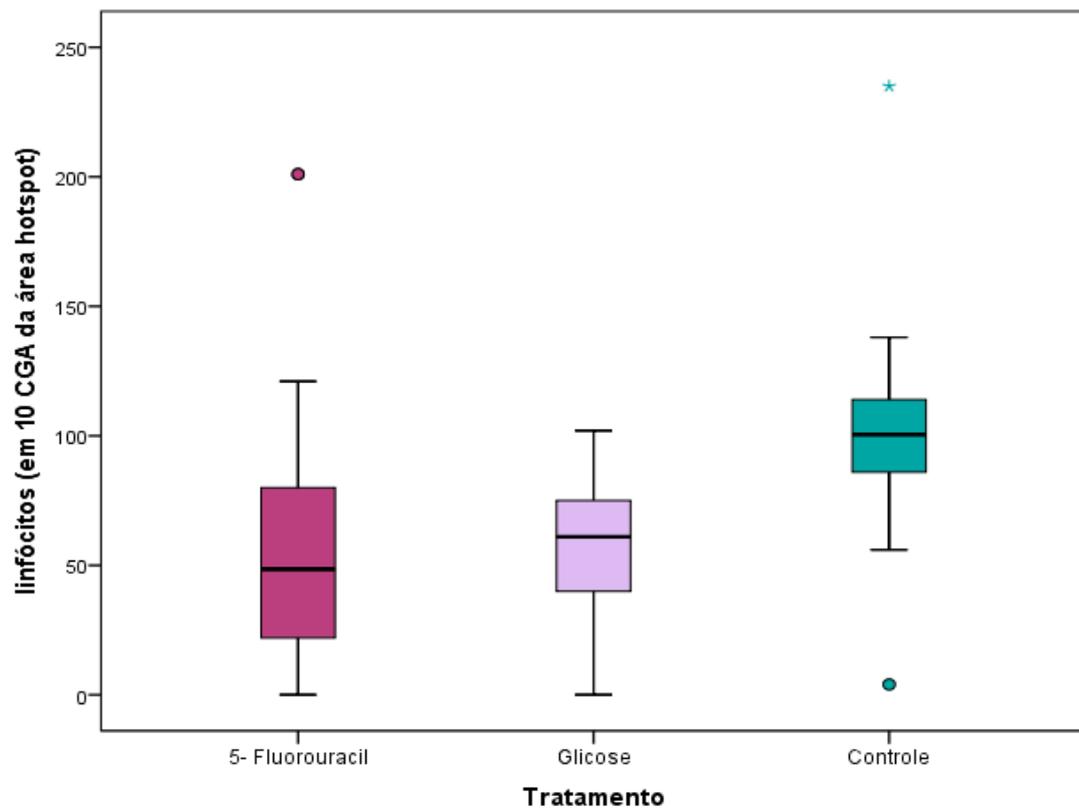


Figura 28 – Box-Plot de Linfócitos por tratamento.

De acordo com a Tabela 3, a qual apresenta as Medidas-resumo de variáveis histológicas por tratamento Grupo III – 5-FU, Grupo II – Glicose 75% e Grupo I – Controle, complementada pela Figura 28 observam-se as diferenças de médias de Linfócitos ($p < 0,001$) (APÊNDICE 2).

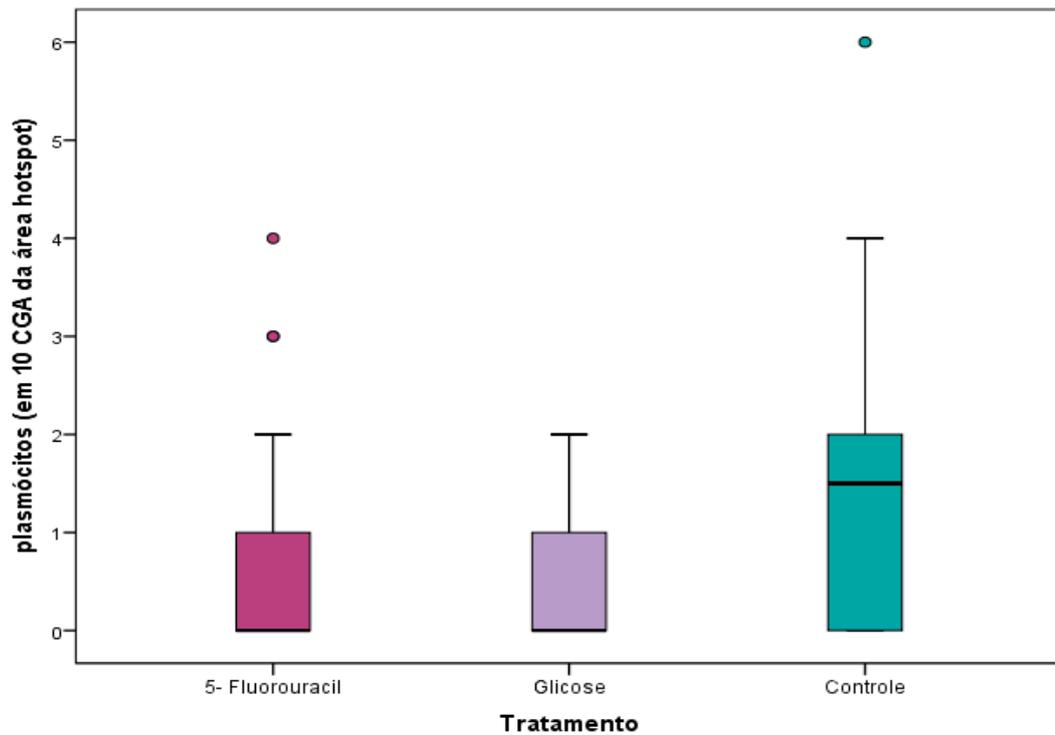


Figura 29 – Box-Plot de Plasmócitos por tratamento.

De acordo com a Tabela 3, a qual apresenta as Medidas-resumo de variáveis histológicas por tratamento Grupo III – 5-FU, Grupo II – Glicose 75% e Grupo I – Controle, complementada pela Figura 29 observam-se as diferenças de médias Plasmócitos ($p = 0,007$) (APÊNDICE 2).

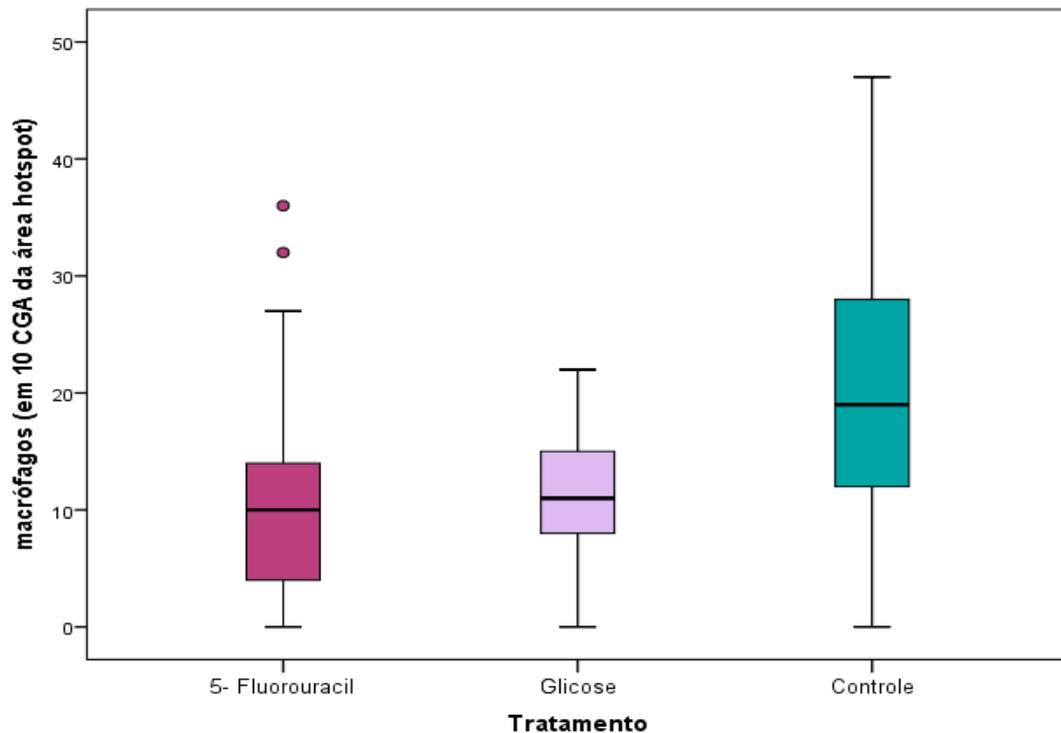


Figura 30 – Box-Plot de Macrófagos por tratamento.

De acordo com a Tabela 3, a qual apresenta as Medidas-resumo de variáveis histológicas por tratamento Grupo III – 5-FU, Grupo II – Glicose 75% e Grupo I – Controle, complementada pela Figura 30 observam-se as diferenças de médias Macrófagos ($p = 0,001$) (APÊNDICE 2).

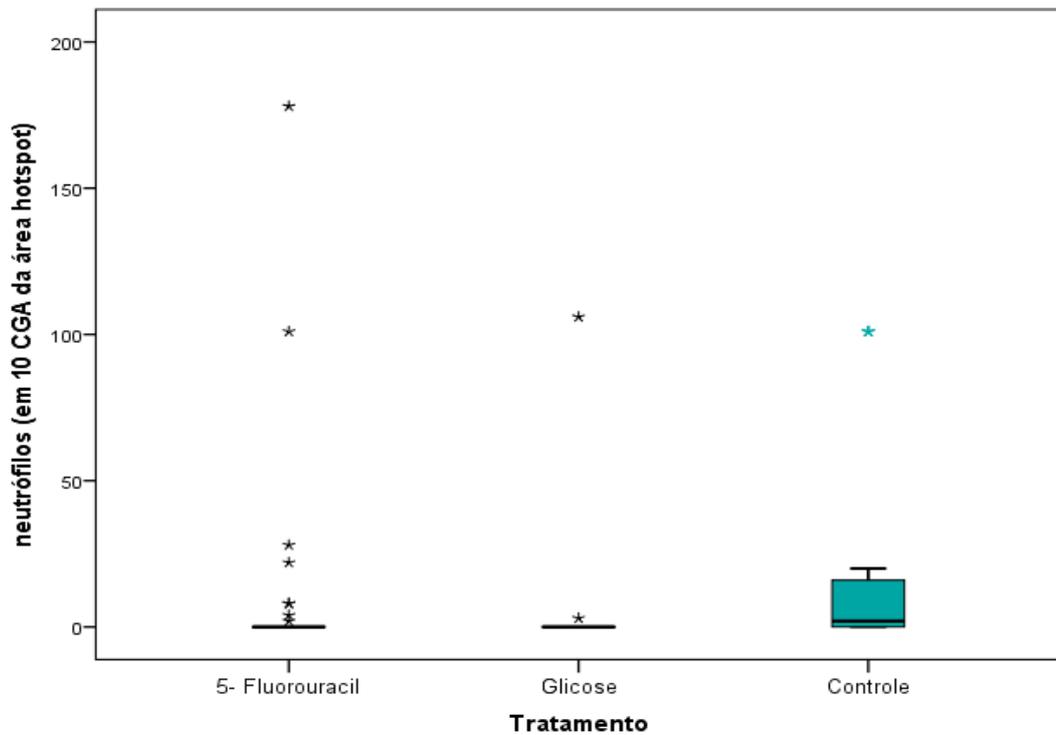


Figura 31 – Box-Plot de Neutrófilos por tratamento.

De acordo com a Tabela 3, a qual apresenta as Medidas-resumo de variáveis histológicas por tratamento Grupo III – 5-FU, Grupo II – Glicose 75% e Grupo I – Controle, complementada pela Figura 31 observam-se as diferenças de médias dos Neutrófilos ($p = 0,003$) (APÊNDICE 2).

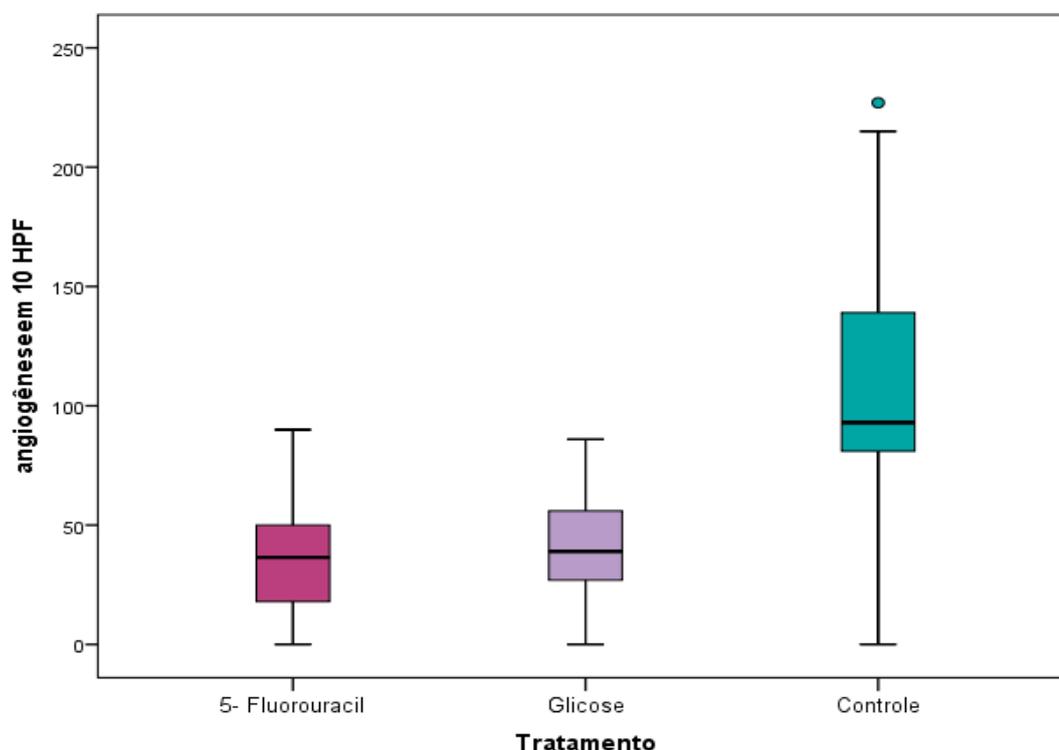


Figura 32 – Box-Plot de Angiogênese por tratamento.

De acordo com a Tabela 3, a qual apresenta as Medidas-resumo de variáveis histológicas por tratamento Grupo III – 5-FU, Grupo II – Glicose 75% e Grupo I – Controle, complementada pela Figura 32 observam-se as diferenças de médias da Angiogênese em ($p < 0,001$) (APÊNDICE 2).

Dessa forma, para todas as variáveis, exceto plasmócitos, verificou-se que as médias dos Grupos II e III tratados com Glicose 75% e 5-FU apresentaram-se similares e inferiores ao do Grupo I Controle. Já para plasmócitos, observaram-se diferenças de médias apenas entre o grupo glicose e controle – o grupo glicose apresentou média inferior ao do grupo controle. Não foi possível identificar diferenças de médias do grupo tratado com 5-FU e demais tratamentos.

DISCUSSÃO

6 DISCUSSÃO

Segundo uma pesquisa global da *International Society of Aesthetic Plastic Surgery* (ISAPS), a abdominoplastia aparece como o 6º procedimento cirúrgico mais realizado do mundo, com um total de 834.674 (7,1% no total), em 2018. No Brasil, houve um crescimento de abdominoplastia segundo a ISAPS de 22% em relação a 2016, com 534.057, atrás apenas de lipoaspiração, mamoplastia de aumento e cirurgia das pálpebras (ISAPS, 2018).

Segundo o Ministério da Saúde (MS), em 2013 foram realizadas 11.931 cirurgias de mastectomia e 3.411 de reconstrução mamária no SUS. Em 2017, segundo dados preliminares, foram 10.186 mastectomias e 3.413 reconstruções mamárias. Os investimentos federais para a reconstrução mamária passaram de R\$ 2,21 milhões, em 2013, para R\$ 2,39 milhões no ano passado (BRASIL, 2018). Para 70% das mulheres que recebem o diagnóstico de câncer de mama no Brasil, a mastectomia, que é a remoção total da mama, acaba sendo o caminho. Os dados são da Sociedade Brasileira de Mastologia (SBM), que alerta sobre a demora na identificação da doença, detectada na maioria dos casos em estágio avançado (SBM, 2018).

Segundo levantamento junto às bases de dados da *National Library of Medicine*, EUA (Medline), Literatura Latino-Americana e do Caribe em Ciências da Saúde (Lilacs), *Scientific Electronic Library on-line* (SciELO) e *The Cochrane Database of Systemic Reviews* (Biblioteca Cochrane), os ratos foram os animais mais empregados em pesquisas, seguido de camundongos, coelhos, cães, porcos e primatas (FAGUNDES & TAHA,

2004). Na Medline, em 85% dos artigos científicos e na Lilacs em 70,5% foram utilizados ratos e camundongos. Esta preferência por utilizar ratos deve-se ao fato de, se comparados aos seres humanos, os ratos apresentam infância breve e muito acelerada, tornam-se sexualmente maduros com cerca de seis semanas. Na idade adulta, cada mês de vida do rato equivale a, aproximadamente a dois anos e meio da vida dos humanos, seis correspondem a 18 anos, 12 meses a 30 anos e 24 meses a 60 anos. As diferenças na anatomia, fisiologia, desenvolvimento e fenômenos biológicos precisam ser consideradas (ANDREOLLO *et al.* (2012). As ratas entram na menopausa entre as idades de 15 a 18 meses, enquanto os seres humanos entre 48 e 55 anos. O rato de laboratório vive em média três anos (QUINN, 2005).

Foram utilizados ratos da linhagem *Wistar*, uma das mais empregadas mundialmente em pesquisas de laboratório, cuja importância se deve ao fato de o Dr. Henry Donaldson e sua equipe terem desenvolvido pesquisas para obter dados fundamentais, principalmente curvas de crescimento do animal, do crânio, do esqueleto e vários órgãos, individualmente. A partir da linhagem *Wistar* foram desenvolvidas outras duas linhagens *Sprague-Dawley* e *Long-Evans*. As linhagens *Wistar* e *Sprague-Dawley* foram gradualmente tornando-se as mais empregadas em todo o mundo nas pesquisas de laboratório. A linhagem *Sprague-Dawley* é mais calma e de fácil manuseio, mais indicados para estudos relacionados com dor, hormônios e comportamento. Já a *Wistar* é indicada para vasculatura/ isquemia (ANDREOLLO *et al.*, 2012).

As fêmeas dos ratos (*Rattus norvegicus*) apresentam cinco pares de glândulas mamárias que se estendem desde a orelha até à base da cauda (FRITH & WARD, n.d.). As fêmeas desta espécie apresentam entre seis a

sete pares de mamilos e a transição da pele coberta com pelos para a pele da base dos mamilos, desprovida de pelos, apresentam glândulas sebáceas.

Razão pela qual a glândula torácica mais difusa, com três mamilos e que, rodeia a base dos membros anteriores foi definida para a mastectomia neste estudo.

Neste estudo o tamanho da amostra (60 ratas *Wistar*) foi validado pelo Teste de Fisher com o valor de ($p < 0,05$). O teste exato de Fisher é um teste de significância estatística utilizado na análise de tabelas de contingência. Embora na prática ele seja empregado quando os tamanhos das amostras são pequenos, é válido para todos os tamanhos de amostra.

Quanto aos critérios de inclusão considerados neste estudo foram idade aproximada de 12 semanas, peso entre 200 e 260 gramas, fêmeas, oriundas do CEDEME. Os critérios de exclusão faziam parte dos Protocolos criados, neste caso, os animais que apresentassem complicações como deiscência, infecção ou óbito seriam, automaticamente descartados e substituídos por outros, mantendo-se o tamanho da amostra em 60 animais. Três animais foram descartados, pois, preencheram os critérios de exclusão do Protocolo deste estudo. Imediatamente, outros três os animais os quais substituíram os que apresentaram deiscência passaram por cirurgias acompanhando os mesmos padrões já estabelecidos neste estudo.

No que se refere ao ambiente foi mantido controlado com: temperatura de 23°C, iluminação artificial (130 a 325 lux) e controle automático do ciclo claro/escuro de 12 horas. A alimentação distribuída foi ração própria para a espécie do tipo (Nuvilab®, CR01) e água filtrada, oferecidas à vontade. Após a cirurgia elas ficaram separadas, individualmente, em gaiolas.

O critério adotado para a coleta do seroma para análise levou em conta dois fatores, quais sejam: o metabolismo exacerbado dos animais e o período em que ocorre a formação do seroma. A avaliação do efeito dos tratamentos sobre o volume do seroma ao longo do tempo empregou o modelo de Equação de Estimação Generalizadas (GEE), com função de ligação logito e distribuição marginal binomial. Em um estudo sobre a formação do seroma e a sua progressão na abdo-minoplastia, em seres humanos, Di MARTINO *et al.*, (2015) encontraram no 11º dia pós-operatório a maior porcentagem, caminhando para uma redução no 18º, chegando ao 32º do pós-operatório com 19 por cento de pacientes com seroma. Neste estudo, com ratas *Wistar*, nas comparações entre os grupos 24h: controle > glicose 75% = 5-Fluorouracil; 48h: glicose 75% > 5-Fluorouracil; 72h e 7 dias: controle = glicose 75% > 5-Fluorouracil. Constatou-se que 12 dias pós-intervenção cirúrgica nenhum dos grupos apresentou seroma, o que corrobora a diferença de metabolismo entre humanos e ratos.

A existência de associações entre as variáveis histológicas de natureza categórica e tratamento foi verificada utilizando-se o teste exato de Fisher devido a amostra ser pequena (60 animais).

Foi realizada a análise dos cortes histológicos da superfície de dissecação que reveste o espaço morto criado pela cirurgia na região da glândula mamária das ratas *Wistar*. Utilizou-se o método semiquantitativo, pois para a maior parte das variáveis procurou-se a área com mais alteração histológica e foram contadas as variantes de interesse em 10 campos de grande aumento (CGA ou HPF) das áreas mais “quentes” (*hot spots*).

A formação de fluidos decorre de multifatores biológicos. O trauma operatório causa resposta inflamatória local, evidenciada pela migração de

macrófagos e leucócitos polimorfonucleares (TITLEY, SPYROU & FATAH, 1997). Em outro estudo BAROUDI & FERREIRA, 1998) concluíram que o seroma ocorria como consequência das forças de cisalhamento entre o retalho cutâneo não aderente e o músculo subjacente.

O seroma é a complicação precoce mais frequente nas abdominoplastias com incidência que varia de 1 a 57%, sendo 10% a média aceita pela maioria dos autores (NAHAS, FERREIRA & GHELFFOND, 2007). Uma verificação na literatura corrobora que estudos retrospectivos apontam menor incidência na formação de seroma quando comparados com estudos prospectivos. Isto pode ocorrer pelo motivo de o seroma ser considerado como uma complicação menor, cujos registros em prontuários nem sempre são feitos (PITANGUY *et al.*, 1995; KHAN, 2008).

O seroma se forma a partir de exsudatos inflamatórios agudos liberados em resposta a trauma cirúrgico e cicatrização de feridas (WATT-BOLSEN *et al.*, 1989; McCAUL *et al.*, 2000), enquanto outros argumentam que o líquido de seroma se origina da linfa (BONEMA *et al.*, 1999; PETREK *et al.*, 1990; OERTLI *et al.*, 1994). Compreender a fisiopatologia de adesão dos tecidos é essencial, pois, ela é multifatorial e abrange a ablação de vasos linfáticos e sanguíneos e o espaço da área de dissecação a qual envolve a elevação do retalho, o que pode facilitar o acúmulo de fluidos. Neste cenário DONCATTO, MEDVEDOVSKY & CALEFFI, 2007) afirmam que a efetividade na prevenção do desenvolvimento do seroma está relacionada a uma obliteração do espaço morto e a sutura do retalho ao leito cirúrgico. Destaca-se que a fisiopatologia do seroma não é totalmente conhecida, no entanto, acredita-se que estão envolvidos os seguintes mecanismos: (i) lesões vasculares e (ii) força de cisalhamento entre a fáscia e o retalho. O líquido seroso

formado sob o retalho após uma abdominoplastia parece ser um exsudato. No pós-operatório inicial é um exsudato inflamatório que lentamente se transforma em exsudato com algumas características semelhantes às da linfa (ANDRADES *et al.*, 2007; ROSSETTO, 2012). ZAWANEH & PUTNAM (2008) tornaram evidente a importância do envolvimento dos linfonodos axilares na formação de seroma lembrando que o fluido dá origem ao mesmo a partir de um vazamento linfático. No que se refere ao universo da abdominoplastia Di MARTINO *et al.* (2010) afirmam que a presença de coleções fluidas não é uma complicação, mas uma evolução regular após a abdominoplastia, assim como para as mastectomias em virtude de enorme movimentação de tecidos.

Vários métodos para tratamento e prevenção foram desenvolvidos, no entanto, nenhum se mostrou satisfatório. Neste contexto pode-se sugerir que os tratamentos de seroma adotem uma estratégia multidimodal, ou seja, a dissecação meticulosa de tecidos e as técnicas mecânicas devem ser utilizadas em conjunto com as intervenções de biomateriais e farmacológicas (ZAWANETH & PUTNAM, 2008; ESER *et al.*, 2012).

A escleroterapia é uma forma de tratamento destinado, essencialmente ao fortalecimento dos tecidos, por isso, a substância ideal é a que causa esclerose e apresenta características como: quimicamente estável, de fácil uso, fluido, indolor, inócuo, não-coagulante, ativo, eficaz, atóxico, hipoalergênico, com atuação restrita localmente e controlada (SANCHEZ & TROPPER, 1996). Neste contexto dois produtos despertaram o interesse: a glicose hipertônica (50 ou 75%, um esclerosante) e o 5-Fluorouracil (5-FU, um quimioterápico). A glicose hipertônica 50 ou 75%, ainda, é o esclerosante mais usado por ser eficiente, de baixo custo e, praticamente isento de complicações graves, como alergias, reações

sistêmicas e necroses (BELCZAK *et al.*, 2004). Os professores de antanho da Cirurgia Plástica nacional, tais como Prof. Jorge de Moura Andrews e Prof. Willian Primo Calia do Hospital Municipal Vergueiro usavam rotineiramente, a glicose hipertônica 50 ou 75% após a formação do seroma, no entanto, não existem estudos comprobatórios desses resultados. Quanto ao 5-FU, ainda pouco estudado, um único artigo publicado poderia com suas propriedades anti-inflamatórias e anti-angiogênicas ser efetivo na prevenção do seroma, por isso o interesse pela pesquisa.

Medidas para a redução de seroma têm sido preconizadas, tais como: restringir a manipulação do retalho cutâneo; reduzir o tempo de cirurgia; usar drenos de sucção e malhas de compressão no pós-operatório por 30 dias (Di MARTINO *et al.*, 2010; Di MARTINO *et al.*, 2015). Em estudo clínico, NAHAS *et al.*, (2012) verificaram que o uso de cola de fibrina em abdominoplastia não trouxe benefícios quando realizada em seres humanos, forçando-os a interromper o estudo no quinto caso operado. Acreditam que o peso do retalho abdominal ou da pele excisada (SHERMAK, ROTELLINI-COLVET, CHANG, 2008) foi determinante neste processo, visto que a cola de fibrina tem um poder de adesividade baixo.

A formação de seroma é intercorrência pós-operatória prevista em quaisquer cirurgias. Em uma revisão sistemática o seroma foi eleito como a principal intercorrência na Cirurgia Plástica o que reforça e valida os estudos no sentido de preveni-lo (BERGMANN, 2000; RICE *et al.*, 2000; TEKIN *et al.*, 2001; MENON *et al.*, 2003; CHUNG *et al.*, 2006; KOCDOR *et al.*, 2008; ZAWANETH & PUTNAM, 2008).

No que se refere a medicamentos foi encontrado um único artigo com glicose hipertônica 50%, juntamente com a sapilina ou OK-432, que não apenas reduziu a duração da drenagem de sucção, como também

reduziu de forma significativa a formação de seroma e a necessidade de punção aspirativa. O sítio operatório tratado com sapilina (OK-432) ou com a glicose hipertônica 50% cicatrizaram mais rapidamente do que o tratado com solução salina normal (grupo Controle). Nos retalhos cutâneos tratados no grupo Sapilina ocorreu o aumento da angiogênese, sendo esta essencial no processo de cicatrização. Os pesquisadores descobriram que a Sapilina induz à angiogênese, à fibrose, à síntese de colágeno e à remodelação da matriz na incisão, podendo assim ser recomendada como uma alternativa para cirurgias na prevenção de seroma (HUANG *et al.*, 2017). Neste estudo desenvolvido com ratas *Wistar* o uso da glicose hipertônica a 75% apresentou em 66,7% dos casos uma reação inflamatória leve e ausência de inflamação em 9,5%, no entanto, a angiogênese se apresentou diminuída.

Outro estudo relacionado à intervenção farmacológica foi desenvolvido por ESER *et al* (2012) para investigar o efeito da aplicação tópica da fenitoína, um medicamento anti-epileptico, na formação de seroma em mastectomia experimental e modelo linfonodo axilar nível I-II (ALND) em ratas *Wistar*. Segundo as conclusões, o efeito redutor na formação de seroma no grupo da fenitoína pode ter ocorrido devido ao seu efeito anti-inflamatório, antiangiogênico, e de aumento da fibrose. Porém, tanto o efeito redutor de seroma da fenitoína como o efeito na formação do seroma precisam de novos estudos para esclarecimentos mais aprofundados.

Ainda, no que se refere às intervenções farmacológicas KOCDOR *et al.*, em 2008), utilizaram o 5-FU, um quimioterápico, como agente esclerosante na prevenção de seroma, em mastectomia em modelo animal. Os resultados mostraram que o 5-FU não atuou como agente esclerosante,

mas foi altamente efetivo na prevenção da formação de seroma. Eles investigaram não apenas a efetividade do 5-FU na prevenção do seroma, mas, tentaram explicar a fisiopatologia subjacente da sua formação ao quantificar os parâmetros de cicatrização de feridas e as alterações histopatológicas dos locais com seroma. Os mecanismos pressupostos na prevenção do seroma pelo 5-FU não foram elucidados, mas, tanto as propriedades anti-inflamatórias como anti-angiogênicas do 5-FU podem estar relacionadas com a sua prevenção.

No presente estudo resultados semelhantes aos de KOCDOR *et al.*, (2008) foram alcançados. Os mecanismos subjacentes à prevenção do seroma pelo 5-FU, provavelmente estão relacionados a uma redução da inflamação e a diminuição da angiogênese ao invés de um processo fibrótico local. O volume médio de seroma foi significativamente menor no grupo 5-FU ($p = 0,02$; total = 3,669).

Neste estudo ao analisar as medidas resumo do volume de seroma (mL) por tratamento ao longo dos momentos de avaliação, nota-se que não foram observados seroma no 12º dia em todos os grupos. O grupo I – Controle apareceu seroma antes das primeiras 24 horas com pico mais alto antes das 72 horas, no grupo II – Glicose, o seroma se manifestou a partir das 24 horas e foi decrescendo até o 7º dia, enquanto que no grupo III – 5-FU, não foram observadas diferenças de médias ao longo dos momentos de avaliação.

Neste estudo, o 5-FU foi instilado diretamente no leito cirúrgico, onde está presente a maior atividade angiogênica no período inicial de cicatrização de feridas. A prevenção da formação de seroma tornou-se o objetivo mais importante neste estudo, devido à falta de tratamento eficaz para o mesmo. É provável que mecanismos subjacentes à prevenção de

seroma por 5-FU, estejam relacionados a uma redução da inflamação e da angiogênese em vez de um processo fibrótico local como ocorreu, também neste estudo. A média da angiogênese neste estudo apresentou-se maior no Grupo I – Controle e no Grupo II – Glicose (41,62 e 110,39) respectivamente. Nesta pesquisa, o grau de invasividade foi GI3, pois este experimento causou estresse, desconforto e dor, de intensidade intermediária.

Este estudo teve suas limitações no que concerne à reprodutibilidade para seres humanos, fato que despertou o interesse deste pesquisador pela continuidade nesta linha de pesquisa, pois, não se pode comparar o metabolismo do animal com a economia humana (GUYTON & HALL, 2017).

Devem ser consideradas, ainda, outras opções terapêuticas e preventivas na formação de seroma, os fatores angiogênicos precisam ser avaliados em outros estudos para se conhecer a patogênese do seroma e investigar outras terapias anti-inflamatórias e anti-angiogênicas para a formação do seroma.

Perspectivas para futuras pesquisas: Estudar a fisiopatologia da formação do seroma; investigar outros fármacos; curativos e malhas; táticas cirúrgicas; bisturi de ozônio e micro-jateamento para descolamento de retalhos.

CONCLUSÃO

7 CONCLUSÃO

O uso do 5-Fluorouracil apresentou melhor resultado na prevenção da formação do seroma em ratas *Wistar*. Já a Glicose Hipertônica a 75% foi efetiva em menor intensidade.

REFERÊNCIAS

8 REFERÊNCIAS

Andrades P, Prado A, Danilla S, Guerra C, Benitez S, Sepulveda S, *et al.* Progressive tension sutures in the prevention of postabdominoplasty seroma: a prospective, randomized, double-blind clinical trial. *Plast Reconstr Surg.* 2007; 120(4):935-46.

Andrades P, Prado A. Composition of postabdominoplasty seroma. *Aesth Plast Surg.* 2007;31:514-8.

Andreollo NA, Santos EF, Araújo MR, Lopes LR. Rat's age versus human's age: what is the relationship? *ABCD Arq Bras Cir Dig* 2012; 25(1):49-51.

Augusto ACMP. Caracterização anatomopatológica de nódulos cutâneos em animais exóticos. [Mestrado em Veterinária]. Lisboa: Universidade Técnica de Lisboa, 2012.

Baroudi R, Ferreira CA. Contouring the hip and the abdomen. *Clin Plast Surg.* 1996 Oct; 23(4):551-72; discussion 572-3.

Baroudi R, Ferreira CAF. Seroma: How to avoid It and how to Treat It. *Aesthetic Surgery Journal.* November/December 1998, 18(6):439-441.

Belczak CEQ, Godoy JMP, Belczak Neto J *et al.* Variation in level of glycemia after sclerotherapy performed with 10 ml of 75% hypertonic glucose. *J Vasc Br* 2004; 3(2):127-30.

Bergmann A. Prevalência de linfedema subsequente a tratamento cirúrgico para câncer de mama no Rio de Janeiro. Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós-graduação em Saúde Pública, Escola Nacional de Saúde Pública, Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro. 2000.

Bezerra FJF, Moura RMG. Using Baroudi-Ferreira's technique to closure latissimus dorsi's flap donor site. *Rev. Soc. Bras. Cir. Plast.* 2007; 22(2):103-6.

Biotério Central [Internet]. São Paulo: USP; 2017. Produtos e serviços oferecidos pelo Centro de Bioterismo; [citado 03 out. 2017]. Disponível em:

http://biot.fm.usp.br/index.php?mpg=03.00.00&tip=RATO&ID_ani=178ca_ract=sim. Acesso em 09/03/2014.

Blaschke M, Cameron S, Emami K, Blumberg J, Wegner U, Nischwitz M and Ramadori G. Measurement of 5-FU plasma levels in patients with advanced cancer: correct approach to practical procedures is essential. *International Journal of Clinical Pharmacology and Therapeutics*, Vol. 49 – No. 1/2011 (83-85).

Bonema J, Ligtenstein DA, Wiggers T, van Geel AN. The composition of serous fluid after axillary dissection. *Eur J Surg*. 1999 Jan; 165(1): 9-13.

Brasil. DOU. Seção I nº 187. ISSN 1677-7042. Conselho de Controle de Experimentação Animal.

Chaouat M, Levan P, Lalanne B, Buisson T, Nicolau P, Mimoun M. Abdominal dermolipectomies: early postoperative complications and long-term unfavorable results. *Plast Reconstr Surg*. 2000 Dec;106(7):1614-8; discussion 1619-23.

Choi MS, Kim HK, Kim WS, Bae TH, Kim MK. A comparison of triamcinolone acetonide and fibrin glue for seroma prevention in a rat mastectomy model. *Annals of Plastic Surgery*. 2012, 69(2);209-12.

Chung TL, Holton III LH, Goldberg NH *et al*. Seroma prevention using *Mytilus edulis* Protein in a rat mastectomy model. *J Comp*. 2006, 12(5):442-5.

Di Martino M, Nahas FX, Barbosa MVJ, Ayaviri NAM, Kimura AK, Barella SM, Novo NF, Ferreira LM. Seroma in lipoabdominoplasty and abdominoplasty: a comparative study using ultrasound. *Plast Reconstr Surg*. 2010 Nov; 126(5):1742-51.

Di Martino M, Nahas FX, Kimura AK, Sallum N, Ferreira LM. Natural evolution of seroma in abdominoplasty. *Plast Reconstr Surg*. 2015 Apr; 135(4): 691e-8e.

Di Martino MD; Nahas FX, Novo NF *et al*. Seroma em lipoabdominoplastia e abdominoplastia: estudo ultrassonográfico comparativo. *Rev. Bras. Cir. Plást*. 2010; 25(4):679-87.

Doncatto LF, Medvedovsky S, Caleffi M. The use of suction drains in patients submitted to the mastectomy and breast reconstruction with TRAM lap. *Arq Catarineses de Med* 2007; 36(1):116-9.

- Eroğlu E, Süleyman O, Ekrem U, Kalayci M, Oktay O, Tilmaz M. Reducing seroma formation with fibrina glue in a animal mastectomy model. *European J of Surgical Oncology* 1996; 22: 137-9.
- Eser M, Gökceimam M, Eyvaz K, Tural F, Geçer MÖ, Göktas S *et al.* Effect of local bleomycin sulfate application on seroma formation in a rat mastectomy and axillary lymph node dissection model. *Eur J Pharmacol.* 2014, 15; 723-375-80.
- Eser M, Tural F, Kement M, Göktas S, Kaptanoglu L, Gökceimam M, *et al.* Effect of local phenytoin on seroma formation after mastectomy and axillary lymph node dissection: an experimental study on mice. *BMC Surgery*, 2012, 12:25. doi:10.1186/1471-2482-12-25.
- Frith CH, Ward JM. Color atlas of neoplastic and non-neoplastic lesions in aging mice. (n.d.).
- Guyton AC, Hall JE. Fundamentos de fisiologia médica. 13. Ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2017.
- Huang H, Kong D, Y Liu, Q Cui, Wang K, Zhang D, J Wang, Zhai M, Yan J, Zhang C, Wu G. Sapylin promove a cicatrização de feridas em retalhos de pele de rato. *Am J Transl Res.* 2017 15 de junho; 9 (6): 3017-3026. PubMed PMID: 28670389; PubMed Central PMCID: PMC5489901.
- Keeble E, Meridith A. BSAVA Manual of rodents and ferrets. Gloucestershire: British Small Animal Veterinary Association, 2008.
- Kocdor MA, Yildiz DK, Kocdor H. *et al.* Effects of locally applied 5-Fluorouracil on the prevention of post mastectomy seromas in a rat model. *Eur Surg Res* 2008; 40:256-62.
- Lindsey WH, Becker DG, Hoare JR, Cantrell RW. Comparison of topical fibrin glue, fibrinogen, and thrombin in preventing seroma formation in a rat model. *Laryngoscope.* 1995; 105: 241-3.
- Lindsey WH, Masterson TM, Spotnitz WD, Wilhelm MC, Morgan RF. Seroma prevention using fibrin glue in a rat mastectomy model. *Arch Surg.* 1990; 125:305-307.
- McCaul JA, Aslaam A, Spooner RJ, Louden I, Cavanagh T, Purushotham AD. Aetiology of seroma formation in patients undergoing surgery for breast cancer. *Breast.* 2000;9(3):144-8.

- Melo I, Brito CB, Silva RM, Janeiro MJC, Pinto-Ribeiro RS. Escleroterapia de varizes e substâncias esclerosantes. In: Brito CJ. *Cirurgia Vascular – Cirurgia Endovascular – Angiologia*. Rio de Janeiro: Revinter; 2002. p. 1066-89.
- Menon NG, Downing S, Goldberg NH, Silverman RP. Seroma prevention using an albumin-glutaraldehyde-based tissue adhesive in the rat mastectomy model. *Ann Plast Surg* 2003;50:639-643.
- Miyake RK, Miyake H, Duarte FH, Duarte FH, Fidelis RJR. Microvarizes e telangiectasias. In: Pitta GBB, Castro AA, Burihan E, editores. *Angiologia e cirurgia vascular: guia ilustrado [Internet]*. Maceió: Uncisal/ECMAL & LAVA; 2003. [citado 20 mar. 2013]. p. 1-16. Disponível em <http://www.lava.med.br/livro>.
- Nahas FC, di Martino M, Ferreira LM. Fibrin glue as a substitute for quilting suture in abdominoplasty. *Plast Reconstr Surg*. 2012 Jan, 212e-213e.
- Nahas FX, Ferreira LM, Ghelfond C. Does quilting suture prevent seroma in abdominoplasty? *Plast Reconstr Surg*. 2007 Mar;119(3):1060-4; discussion 1065-6.
- Oertli D, Laffer U, Haberthuer F, Kreuter U, Harder F. Perioperative and postoperative tranexamic acid reduces the local wound complication rate after surgery for breast cancer. ... *Br J Surg*. 1994 Nov; 81(11):1693.
- O'Malley B. *Anatomía y fisiología clínica de animales exóticos. Estructura y función de mamíferos, aves, reptiles y anfibios*. Zaragoza: Servet, 2007.
- Petrek JA, Peter MM, Nori S, Knauser C, Kinne WD, Rogatko A. Axillary lymphadenectomy – a prospective, randomized trial of 13 factors influencing drainage, including early or delayed arm mobilization. *Arch Surg*. 1990; 125, 378.
- Porter KA, O'Connor S, Rimm E, Lopez M. Electrocautery as a factor in seroma formation following mastectomy. *Am J Surg*. 1998;176:8-11.
- Quinn R. Comparing rat's to human's age: How old is my rat in people years? *Nutrition*, 2005: 21:775-7.
- Qvamme G, Axelsson CK, Lanng C, Mortensen M, Wegeberg B, et al. Randomized clinical trial of prevention of seroma formation after

mastectomy by local methylprednisolone injection. *BJS* 2015, 102:1195-1203.

Ramelet AA, Monti M. *Phlebology: The Guide*. New York: Elsevier/ Editions Scientifiques Et (1 de novembro de 1999), 1999.

Rice DC, Morris SM, Sarr MG, Farnell MB, Heerden JA van, Grant VS, Rowland CM, Ilstrup DM, Donohue JH. Intraoperative topical tetracycline sclerotherapy following mastectomy: A prospective, randomized trial. *Journal of Surgical Oncology* 2000; 73: 224-27.

Rossetto LA de de, Garcia EB, Abla LF, Neto MS, Ferreira LM. Quilting suture in the donor site of the transverse rectus abdominis musculocutaneous flap in breast reconstruction. *Ann Plast Surg*. 2009 Mar;62(3):240-3.

Rossetto LA de O. Seroma na área doadora do retalho musculocutâneo transverso do reto do abdome, em pacientes submetidas à reconstrução de mama. [Tese]. São Paulo: Unifesp, 2011, 106 p.

Rossetto LA, Abla LEF, Garcia EB, Ferreira LM. Seroma e pontos de adesão na área doadora do retalho TRAM, nas pacientes submetidas a reconstrução de mamas: estudo clínico, prospectivo e aleatório. *Revista Brasileira de Cirurgia Plástica*, 2012; (27): 57.

Sánchez CF, Tropper U. *Tratado de Escleroterapia, Flebectomía. Ambulatoria y Úlceras Venosas*. Buenos Aires: Fundación. Flebológica; 1996. p. 45-57.

Sanders RP, Goodman NC, Amiss LR Jr, Pierce RA, Moore MM, Marx G, Morgan RF, Spotnitz WD. Effect of fibrinogen and thrombin concentrations on mastectomy seroma prevention. *Journal of Surgical Research*, 1996; 61(1):65-70.

Shermak MA, Rotellini-Colvet LA, Chang D. Seroma development following body contouring surgery for massive weight loss: patient risk factors and treatment strategies. *Plastic and Reconstructive Surgery*. 2008; 122(1):280-88.

Silverman RO, Elisseff J, Passaretti D, Huang W, Randolph MA, Yaremchuk MJ. Transdermal photopolymerized adhesive for seroma prevention. *Plast Reconstr Surg*. 1999; 103(2):531-5.

Spotnitz WD, Mintz PD, Avery N, Bithell TC, Kaul S, Nolan SP. Fibrin glue from stored human plasma. An inexpensive and efficient method for local blood bank preparation. *Am Surg*. 1987 Aug;53(8):460-2.

Stedman, TL. *Medical Dictionary*. 26th ed. Baltimore (USA): Willians & Wilkins; 1995.

Tekin E, Kocdor MA, Saydam S, Bora S, Harmancioglu O. Seroma prevention by using *corynebacterium parvum* in a rat mastectomy model. *Eur Surg Res* 2001 May-Jun; 33(3):245-8.

The Free Merriam – Webster Dictionary. Fluorouracil - Definition and More. Retrieved 2014; 11-19.

Thomaz JB, Rodolfo Jr R. Escleroterapia de veias varicosas e das telanectasias. In: Thomaz JB. *Síndromes venosas – diagnóstico e tratamento*. Rio de Janeiro: Revinter, 2001, p. 325-331.

Titley OG, Spyrou GE, Fatah MF. Preventing seroma in the latissimus dorsi flap donor site. *Br J Plast Surg*. 1997 Feb;50(2):106-8.

Tufik S *et al*. *Princípios éticos e práticos do uso de animais de experimentação*. São Paulo: UNIFESP, 2004.

Zawaneh PN, Putnam D. Materials in surgery: A review of biomaterials in Postsurgical tissue adhesion and seroma prevention. *Tissue Engineering: Part B*, 2008; 14(4):377-91.

Zawaneh PN, Singh SP, Padera RF, Hederson PW, Spector JA, Putnam D. Design of an injectable synthetic and biodegradable surgical biomaterial. *PNAS*, 2010; 107(24):11014-19.

Zeger SL, Liang KY. Longitudinal data analysis for discrete and continuous outcomes. *Biometrics*, 1986; 42, 121–130.

NORMAS ADOTADAS

NORMAS ADOTADAS

Academia Brasileira de Letras. Vocabulário Ortográfico da Língua Portuguesa. 5. ed. São Paulo: Global, 2009. 976 p.

Bireme. Centro Latinoamericano e do Caribe de Informação em Ciências da Saúde. DeCS: descritores em ciências da saúde. Disponível em: http://http://decs.bvs.br/cgi-bin/wxis1660.exe/decserver/?IsisScript=../cgi-bin/decserver/decserver.xis&interface_language=p&previous_page=homepage&previous_task=NULL&task=start.

Cobea (Colégio Brasileiro de Experimentação Animal) – Princípios éticos da experimentação animal. [citado 2017 Nov 11]. Disponível em: <http://www.meusite.com.br/cobea/index.htm>.

Descritores em Ciências da Saúde (DeCS) [Internet]. São Paulo: Biblioteca Regional de Medicina (Bireme) – [citado 2017 Nov 11]. Disponível em: <http://decs.bvs.br/>

Ferreira, LM, Petroianu A, Aloise AC, Hochman B, Brandt CT, Veiga DF, Furtado FMGP, Nahas FX, Campos JHO, Ely PB, Marques RG. Projetos, dissertações e teses: orientação normativa: guia prático. São Paulo: Red Publicações, 2017.

International Committee of Medical Journal Editors. Uniform requirements for manuscripts submitted to biomedical journals: writing and editing for biomedical publication [Internet]. Philadelphia (PA): ICMJE Secretariat office, American College of Physicians; [updated 2008 Oct; cited 2010 May 23]. Available from: URL: <http://www.icmje.org>.

List of journal indexed for Medline. Washington: National Library of Medicine. 2005 Jun – [citado 2017 Nov 11]. Disponível em: <ftp://nlmpubs.nlm.nih.gov/online/journals/ljiweb.pdf>

Kilkenny C, Browne WJ, Cuthill IC, Emerson M, Altman DG. Improving bioscience research reporting: The ARRIVE guidelines for reporting animal research. PLoS Biol. 2010 Jun 29; 8(6):e1000412.

Nomina anatômica veterinária [Internet]. International Committee on Veterinary Gross Anatomical Nomenclature. 2012 [citado 2017 Nov 11] 5.ed. Disponível em: http://www.wava-amav.org/Downloads/nav_2012.pdf

Normas para utilização de animais de laboratório na pesquisa e ensino na Unifesp [Internet]. São Paulo: Centro de Desenvolvimento de Medicina Experimental (Cedeme/Unifesp) – [citado 2017 Nov 11]. Disponível em: <http://www.unifesp.br/centros/cedeme/normas.htm>.

Terminologia Anatômica. Terminologia Anatômica Internacional. São Paulo: Manole; 2001. 248 p.

Uniforme requirements for manuscripts submitted to biomedical journal. Writing and editing for biomedical publication [Internet]. Vancouver (CA): International Committee of Medical Journals Editors. 2007 – [citado 2017 Nov 11]. Disponível em: <http://www.icmje.org>.

APÊNDICES

APÊNDICE 1 – Comitê de Ética



COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA



, 14 de setembro de 2016
CEUA N 5707230915

Ilmo(a). Sr(a).

Pesquisador(a): Sidney Bandeira Cartaxo

Depto/Disc: Cirurgia Plástica

Pesquisadores associados: Emanuel Barreto Cabral (unifesp); Dr. Fábio Xerfan Nahas (orientador)

Título do projeto: "Efetividade da Glicose Hipertônica 75 por cento e do 5-fluorouracil na prevenção do seroma: Estudo experimental em animais análise quantitativa".

Parecer Consubstanciado da Comissão de Ética no Uso de Animais UNIFESP/HSP

O tema a ser abordado trata das intercorrências médico-cirúrgicas em ratos de laboratório, mastectomizadas com linfadenectomia do mesmo lado, decorrentes do surgimento de seroma no pós-operatório. Em qualquer procedimento cirúrgico poderá ocorrer um efeito não desejado, e quando isto ocorre diz-se que é uma intercorrência clínica. Esta definição, apesar de inespecífica e genérica, deve ser considerada pelo cirurgião. A formação de seroma pode ocorrer após qualquer cirurgia envolvendo a elevação de retalhos de pele e é uma causa potencial de morbidade significativa em pacientes. Embora os mecanismos fisiopatológicos da formação do seroma permaneçam pouco esclarecidos, sabe-se que a criação de um espaço potencial entre as camadas adjacentes de tecido contribui para este processo. Para o presente projeto serão utilizadas 60 ratas *Rattus norvegicus* da raça Wistar-EPM, fêmeas, com peso entre 200 e 260 gramas, idade aproximada de 12 semanas (doze), oriundas do Biotério Central da Universidade Federal de São Paulo - CEDEME. As ratas serão mastectomizadas com linfadenectomia do lado esquerdo e divididas em 3 grupos (controle, glicose e 5-Fluorouracil). Para tanto, os animais serão anestesiados e em posição de decúbito ventral será realizada a tricotomia, em seguida a incisão paratoráxica paramediana esquerda de concavidade do lado esquerdo, dissecação por planos e exereses da glândula mamária e linfadenectomia dos gânglios da região. Todas as ratas serão operadas por um único operador experiente e calibrado.

ANIMAIS

Serão utilizados:

60 ratos heterogênicos Wistar, fêmeas, 230g, 12 semanas

Procedência: CEDEME

Manutenção: Centro de Terapia Celular e Molecular - CTCMol

Cronograma do estudo, início previsto para: Agosto/2016 com término previsto para: Agosto/2018

A Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade Federal de São Paulo/Hospital São Paulo, na reunião de 06/09/2016, **ANALISOU** e **APROVOU** todos os procedimentos apresentados neste protocolo.

1. Comunicar toda e qualquer alteração do protocolo.
2. Comunicar imediatamente ao Comitê qualquer evento adverso ocorrido durante o desenvolvimento do protocolo.
3. Os dados individuais de todas as etapas da pesquisa devem ser mantidos em local seguro por 5 anos para possível auditoria dos órgãos competentes.
4. **Relatórios parciais** de andamento deverão ser enviados **anualmente** à CEUA até a conclusão do protocolo.



COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA

COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA



Atenciosamente

Profa. Dra. Monica Levy Andersen
Coordenadora da Comissão de Ética no Uso de Animais
Universidade Federal de São Paulo

APÊNDICE 2 – Teste de Kolmogorov-Smirnov para normalidade

Variáveis Histológicas	Kolmogorov-Smirnov		N
	z	p	
<i>Linfócitos</i>	0,89	0,402	81
Plasmócitos	1,96	0,001	81
Macrófagos	0,64	0,814	81
<i>Neutrófilos</i>	3,67	<0,001	81
Angiogênese	0,92	0,365	81
Linfonodos	2,99	<0,001	81

APÊNDICE 3 – Grupo I – Controle

GRUPO I - CONTROLE					
Rata Nº	24 horas (ml)	48 horas (ml)	72 horas (ml)	7 dias (ml)	12 dias (ml)
1	0,75	0,25	2,00	0,00	0,00
2	0,50	0,10	1,00	0,00	0,00
3	0,10	0,00	4,00	2,00	0,00
4	0,00	0,00	0,10	0,00	0,00
5	0,20	0,10	2,00	1,50	0,00
6	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
7	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
8	0,00	0,00	0,00	0,75	0,00
9	0,90	0,45	0,50	2,00	0,00
10	0,20	0,20	1,00	0,50	0,00
11	0,00	0,00	0,50	0,00	0,00
12	0,50	0,00	2,00	0,000	0,00
13	0,10	0,00	0,00	0,00	0,00
14	0,20	0,00	0,00	0,00	0,00
15	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
16	0,30	0,10	0,60	0,00	0,00
17	0,20	0,00	0,90	0,00	0,00
18	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
19	0,00	0,00	0,10	0,00	0,00
20	0,10	0,10	0,00	0,00	0,00

APÊNDICE 4 – Grupo II – Tratado com Glicose 75%

GRUPO II -TRATADO COM GLICOSE 75%					
Rata Nº	24 horas (ml)	48 horas (ml)	72 horas (ml)	7 dias (ml)	12 dias (ml)
1		1,5	1,5	2,5	0,00
2		2,00	2,00	0,00	0,00
3		2,00	2,00	6,00	0,00
4		3,00	3,00	6,00	0,00
5		5,00	5,00	2,00	0,00
6		0,50	0,50	0,00	0,00
7		0,00	0,00	Cps	0,00
8		0,00	0,00	0,00	0,00
9		1,50	1,50	0,00	0,00
10		0,50	0,50	0,00	0,00
11		3,00	3,00	1,00	0,00
12		3,00	3,00	1,00	0,00
13		0,50	0,50	0,00	0,00
14		0,00	0,00	0,00	0,00
15		0,00	0,00	0,00	0,00
16		4,00	4,00	Cps	0,00
17		0,00	0,30	0,00	0,00
18		0,00	0,00	0,00	0,00
19		0,00	0,00	0,00	0,00
20		6,00	0,00	0,00	0,00

APÊNDICE 5 – Grupo III – Tratado com 5-Fluorouracil

GRUPO III - TRATADO COM 5-FLUOROURACIL					
Rata Nº	24 horas (ml)	48 horas (ml)	72 horas (ml)	7 dias (ml)	12 dias (ml)
1	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
2	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
3	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
4	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
5	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
6	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
7	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
8	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
9	0,00	2,00	2,00	0,00	0,00
10	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
11	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
12	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
13	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
14	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
15	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
16	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
17	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
18	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
19	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
20	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00

ANEXOS

ANEXO I – Análise histológica – Inflamação Grupo 5-Fluorouracil (Tratamento)

CONTROLE	inflamação 1- leve=1 a 33% 2- mod: >33 a 66 3- int: >66 a 100 4- abscesso 0=ausente	linfócitos (em 10 CGA da área hotspot)	plasmócitos (em 10 CGA da área hotspot)	macrófagos (em 10 CGA da área hotspot)	neutrófilos (em 10 CGA da área hotspot)	angiogêneseem 10 HPF	necrose isquêmica (leve, mod e int.) 0= ausente	fibrose (= infl. leve=1 mod=2 e int=3) 0= ausente	células gigantes de corpo estranho (sim=1; não=2)	congestão capilar sanguínea (leve=1, mod=2, int=3.) 0=ausente	linfonodos (número)	tecido muscular esquelético inflamado (leve=1, mod=2 e int=3.) 0=ausente	hemorragia antiga (leve=1, mod=2 e int=3.) 0=ausente	Observação	
PS15-79	2	56	0	12	0	69	0	3	2	3	0	1	0	tec. musc. esq., adiposo e glandular.	
PS15-80	2	63	0	27	8	84	0	3	1	3	0	2	1	tec. musc. esq., adiposo.	
PS15-81	1	31	0	12	0	40	0	1	2	1	0	0	1	tec. musc. esq. e adiposo.	
PS15-82	1	28	0	4	0	18	0	1	1	1	1	0	0	tec. musc. esq. e adiposo marrom.	
PS15-83	1	32	1	8	0	31	0	1	2	1	0	0	0	tec. musc. esq. e adiposo.	FOTO
PS15-84	0	22	0	6	0	11	0	1	2	1	0	0	0	tec. musc. esq. e adiposo.	FOTO
PS15-85	0	15	0	3	0	9	0	0	2	1	0	0	0	tec. musc. esq. e adiposo.	FOTO

Continua

Continuação Anexo I

PS15-86	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0	0	0	0	tec. musc. esq. e adiposo.	FOTO
PS15-87	1	52	1	6	8	44	0	1	1	1	0	0	0	tec. musc. esq. e adiposo.	
PS15-88	1	22	1	3	0	27	0	1	2	1	0	0	1	tec. musc. esq. e adiposo.	
PS15-89	0	10	0	2	0	12	0	1	2	1	0	0	0	tec. musc. esq. adiposo e marrom.	
PS15-90	1	38	0	13	0	47	0	1	0	2	0	0	1	tec. musc. esq. e adiposo.	
PS15-91	1	22	1	10	0	23	0	1	2	1	0	0	1	tec. musc. esq. e adiposo.	
PS15-92	1	15	1	4	0	21	0	1	2	1	0	0	0	tec. musc. esq. adiposo e glandular.	
PS15-93	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0	0	0	0	tec. musc. esq. e adiposo.	
PS15-94	0	6	0	1	0	12	0	0	2	0	0	0	0	tec. musc. esq. adiposo e glandular.	
PS15-95	1	15	0	4	0	33	0	1	2	1	1	1	0	tec. musc. esq. adiposo e marrom.	
PS15-96	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0	0	0	0	tec. musc. esq. e adiposo.	
PS15-97	0	12	0	3	0	28	0	0	1	1	0	0	0	tec. musc. esq. e adiposo.	

Continua

Continuação Anexo I

PS15-98	0	25	0	4	0	10	0	0	2	1	0	0	0	tec. musc. esq. e adiposo.
PS15-99	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0	0	0	0	tec. musc. esq. e adiposo.
PS15-100	2	84	2	14	0	39	0	1	2	1	1	0	1	tec. musc. esq. e adiposo.
PS15-101	2	88	1	20	28	65	0	3	2	2	0	2	2	tec. musc. esq. e adiposo.
PS15-102	2	110	3	18	2	60	0	2	1	1	1	1	1	tec. musc. esq. e adiposo.
PS15-103	3	55	1	14	178	38	0	3	1	1	2	2	1	tec. musc. esq., adiposo e glandular.
PS15-104	2	75	2	36	0	54	0	3	1	2	0	1	0	tec. musc. esq. e adiposo.
PS15-105	3	102	2	18	0	50	0	3	1	1	1	2	0	tec. musc. esq. e adiposo.
PS15-106	3	121	3	20	22	48	0	3	1	2	0	2	1	tec. musc. esq. adiposo e glandular.
PS15-107	2	45	0	12	0	50	0	2	1	1	0	1	1	tec. musc. esq., adiposo e marrom.
PS15-108	1	26	0	4	0	30	0	2	1	1	1	1	1	tec. musc. esq., adiposo e glandular.
PS15-109	3	> 200 + agregado linfóide	2	10	0	53	0	3	1	1	0	1	0	tec. musc. esq. e adiposo.

Continua

Continuação Anexo I

PS15-110	2	98	1	8	0	37	0	2	1	1	2	2	1	tec. musc. esq. e adiposo.
PS15-111	3	102	1	19	0	42	0	3	1	2	0	1	1	tec. musc. esq. e adiposo.
PS15-112	2	80	0	13	0	40	0	2	1	1	2	2	1	tec. musc. esq. e adiposo.
PS15-113	2	53	1	10	0	68	0	3	1	1	1	2	2	tec. musc. esq. e adiposo.
PS15-114	2	65	0	9	0	35	0	3	1	1	0	2	1	tec. musc. esq. e adiposo.
PS15-115	1	34	0	8	0	15	0	1	1	1	1	1	1	tec. musc. esq., adiposo e marrom.
PS15-116	2	70	1	10	0	25	0	2	1	1	0	1	1	tec. musc. esq. e adiposo.
PS15-117	3	114	2	20	0	63	0	2	1	2	1	2	3	tec. musc. esq., adiposo e marrom.
PS15-118	2	80	1	12	0	40	0	2	1	1	2	1	1	tec. musc. esq., adiposo e marrom e tec. glandular.
PS15-119	2	67	0	15	4	36	0	2	2	1	1	0	0	tec. musc. esq., adiposo e marrom.
PS15-120	4	> 200	4	32	> 100/CGA	90	1	3	1	3	0	3	1	tec. musc. esq. e adiposo.

ANEXO II – Análise histológica Inflamação – Grupo Controle

CONTROLE	inflamação 1- leve=1 a 33% 2- mod: >33 a 66 3- int: >66 a 100 4- abscesso 0= ausente	linfócitos (em 10 CGA da área hotspot)	plasmócitos (em 10 CGA da área hotspot)	macrófagos (em 10 CGA da área hotspot)	neutrófilos (em 10 CGA da área hotspot)	angiogênese em 10 HPF	necrose isquêmica (leve, mod e int.). 0= ausente	fibrose (= infl. leve=1 mod=2 e int=3) 0= ausente	células gigantes de corpo estranho (sim=1; não=2)	congestão capilar sanguínea (leve=1, mod=2, int=3.) 0=ausente	linfonodos (número)	tecido muscular esquelético inflamado (leve=1, mod=2 e int=3.) 0=ausente	hemorragia antiga (leve=1, mod=2 e int=3.) 0=ausente	Observação	
PS 15-61	3	125	1	15	0	81	0	3	1	3	1	0	1	fibrose envolve o mus, adiposo e nervos. Presença de gordura marrom.	
PS 15-62	3	103	1	32	0	94	0	3	1	3	0	1	1	fibrose envolve o mus, adiposo e nervos. cels gigantes a fragm refringentes	
PS15-63	3	235	2	28	16	78	0	3	1	3	0	1	1	IDEM anterior	FOTO
PS15-64	2	94	0	12	1	92	0	2	1	3	0	1	1	fibrose envolve músculo. Cels gigantes em fragm refringentes	
PS15-65	2	90	3	10	0	128	0	3	1	3	0	0	1	fibrose intensa em musc. Tem adiposo marrom.	FOTO
PS15-66	3	91	2	17	9	82	0	3	1	3	0	0	1	fibrose envolve glândulas	

Continua

Continuação ANEXO II

PS15-67	2	56	0	4	3	28	0	1	1	2	0	1	1		
PS15-68	4	110	6	26	>100/CGA	196	0	3	2	3	0	—	1	abscesso central. Fragm. de epiderme	FOTO
PS15-69	4	138	4	33	>100/CGA	227	0	3	1	3	0	0	1	abscesso central. Tecido glandular. colônias bacterianas.	FOTO
PS15-70	4	114	2	28	>100/CGA	215	0	3	1	3	0	1	1	abscesso. tecido glandular	
PS15-71	3	86	0	14	12	164	0	2	1	3	0	1	1	alguns eosinófilos	
PS15-72	3	106	1	47	5	92	0	2	1	2	0	1	3		
PS15-73	3	75	0	12	0	80	0	2	1	2	0	1	2		
PS15-74	1	4	0	0	0	0	0	1	2	0	0	0	0	infl: 1%. presença de tecido glandular	
PS15-75	3	105	2	21	0	88	0	2	1	2	0	1	1	Presença tecido glandular	
PS15-76	3	64	1	15	0	95	0	3	1	2	1	1	1	linfonodo não reativo.	
PS15-77	3	98	2	26	0	108	0	3	1	2	0	1	1	Presença tecido glandular	
PS15-78	3	118	4	32	20	139	0	3	2	3	0	1	1	Presença tecido glandular	

ANEXO III – Análise histológica Inflamação – Grupo Glicose (Tratamento)

CONTROLE	inflamação 1- leve=1 a 33% 2- mod: >33 a 66 3- int: >66 a 100 4- abscesso 0=ausente	linfócitos (em 10 CGA da área hotspot)	plasmócitos (em 10 CGA da área hotspot)	macrófagos (em 10 CGA da área hotspot)	neutrófilos (em 10 CGA da área hotspot)	angiogêneseem 10 HPF	necrose isquêmica (leve, mod e int.). 0= ausente	fibrose (= infl. leve=1 mod=2 e int=3) 0= ausente	células gigantes de corpo estranho (sim=1; não=2)	congestão capilar sanguínea (leve=1, mod=2, int=3.) 0=ausente	linfonodos (número)	tecido muscular esquelético inflamado (leve=1, mod=2 e int=3.) 0=ausente	hemorragia antiga (leve=1, mod=2 e int=3.) 0=ausente	Observação
PS15-20	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0	0	0	0	Presença de tecido muscular esquelético e tecido adiposo congestos.
PS15-21	2	102	0	18	0	27	0	3	2	1	1	1	1	tec. musc esq, adiposo maduro e adiposo marrom. agregado linfoide
PS15-22	2	80	2	15	0	54	0	3	2	2	0	3	1	tec musc esq, adiposo e marrom
PS15-23	2	73	0	22	0	67	0	2	2	2	2	1	3	tec musc esq, adiposo e marrom
PS15-24	1	56	0	12	0	25	0	1	1	1	1	0	0	tec musc esq, adiposo e marrom
PS15-25	1	31	0	8	0	24	0	1	1	1	0	0	0	tec musc esq, adiposo e marrom
PS15-26	2	92	1	21	0	78	0	2	1	2	0	1	2	tec musc esq, adiposo e marrom

Continua

Continuação ANEXO III

PS15-27	1	58	0	12	0	36	0	1	1	1	1	1	2	tec musc esq, adiposo e marrom	FOTO
PS15-28	1	36	0	8	0	18	0	1	1	1	0	0	0	tec musc esq, adiposo.	
PS15-29	1	29	0	10	0	32	0	2	2	1	0	0	0	tec musc esq, adiposo	FOTO
PS15-30	1	40	1	7	0	62	0	2	2	1	0	0	0	tec musc esq, adiposo	
PS15-31	1	82	0	9	3	39	0	2	1	1	0	1	1	tec. musc esq,adiposo	
PS15-32	1	42	0	15	0	43	0	2	1	1	0	0	0	tec. musc esq,adiposo	
PS15-33	1	69	0	13	0	35	0	2	1	1	0	0	2	tec musc esq, adiposo.	
PS15-34	1	68	0	14	0	53	0	2	2	1	0	0	2	tec musc esq, adiposo.	
PS15-35	1	61	0	5	0	50	0	2	1	1	0	0	0	tec musc esq, adiposo.	
PS15-36	1	77	2	10	0	56	0	2	1	1	0	0	2	tec musc esq, adiposo.	
PS15-37	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0	0	0	0	tec musc esq, adiposo. agregado linfoide	
PS15-38	1	75	1	11	0	59	0	2	1	1	0	1	1	tec musc esq, adiposo.	
PS15-39	1	47	0	8	0	30	0	2	0	1	0	1	0	tec musc esq, adiposo.	
PS15-40	3	71	2	18	106	86	0	3	1	3	0	0	2	tec musc esq, adiposo.	

FONTES CONSULTADAS

FONTES CONSULTADAS

Altman DG. Practical statistics for medical research. London: Chapman & Hall; 1991.

Comitê de Ética em Pesquisa [Internet]. São Paulo: Universidade Federal de São Paulo (Unifesp). – [citado 2017 Nov 11]. Disponível em:

<http://www.unifesp.br/reitoria/orgaos/comites/etica/>

Curso de manipulação de animais em laboratório [Internet]. Salvador (BA): Fundação Oswaldo Cruz, 2005 – [citado 2017 Nov 11]. Disponível em:

http://www.cpqgm.fiocruz.br/arquivos/bioterio_apostila.pdf.

Donnenberg A. Statistics of immunological testing. In: Donnenberg A, editor. Handbook of Human Immunology. 2.ed. Boca Raton: CRC Press; 2008. p. 29-62.

Hochman B, Nahas FX, Ferreira LM. Fotografia aplicada na pesquisa clínico-cirúrgica. Acta Cir Bras. 2005;20(supl.2):19-25.

Hochman B, Nahas FC, Oliveira Filho RS, Ferreira LM. Desenhos de pesquisa. Acta Cir Bras. 2005;20(supl.2):2-9.

Murray RS. Estatística. 3.ed. São Paulo: Afiliada; 1993, 640 p.

Maroco J. Análise estatística com utilização do SPSS. 2. ed. Lisboa: Silabo; 2003. 508 p.

Pereira TA, Montero EFS. Terminologia DeCS e as novas regras ortográficas da língua portuguesa: orientações para uma atualização. [Internet]. Acta Cir Bras. 2016;27(7):509-14. [citado 2018 Fev 03]. Disponível em

<http://www.scielo.br/pdf/acb/v27n7/a14v27n7.pdf>

Princípios éticos no uso de animais de laboratório [Internet]. Sociedade Brasileira de Ciência em Animais de Laboratório – Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (SBCAL-COBEA). [citado 2017 Nov 11]. Disponível em:

http://www.cocea.org.br/index.php?option=com_content&view=article&id=102&Itemid=119???/

Vieira S. Bioestatística: tópicos avançados. 2. ed. Rio de Janeiro: Campus; 2004. 212 p.

Vieira S. Introdução à Bioestatística. Rio de Janeiro: Campus; 1991.

GLOSSÁRIO

GLOSSÁRIO

Desvio Padrão (DP)	é uma das principais medidas de dispersão de dados, pode ser definida como a raiz quadrada da variância. Sua medida representa o quanto os dados se afastam da média.
Erro Padrão (EP)	o erro padrão é uma medida da precisão da média amostral. É obtido dividindo o desvio padrão pela raiz quadrada do tamanho da amostra.
1º Quartil (1º Q)	o primeiro quartil é uma medida de posição que representa que pelo menos 25% das respostas são menores que ele.
2º Quartil (2º Q)	o segundo quartil também conhecido como mediana é uma medida de posição que representa pelo menos 50% das respostas são menores que ele.
3º Quartil (3º Q)	o terceiro quartil é uma medida de posição que representa que pelo menos 75% das respostas são menores que ele
P-valor	é uma estatística utilizada para sintetizar o resultado de um teste de hipóteses. Formalmente, o p-valor é definido como a probabilidade de se obter uma estatística de teste igual ou mais extrema que aquela observada em uma amostra, assumindo como verdadeira a hipótese nula. Como geralmente, define-se o nível de significância em 5%, um p-valor menor que 0,05, gera evidências para rejeição da hipótese nula do teste.