
EFEITO DA HIPOVOLEMIA SOBRE A CICATRIZAÇÃO DE ANASTOMOSES COLÔNICAS. ESTUDO EXPERIMENTAL EM RATOS

FELIPE LAUAND
OMAR FÉRES - ASBCP
JOSÉ JOAQUIM RIBEIRO DA ROCHA - TSBCP
ANTÔNIO DORIVAL CAMPOS
FAUSTO GONÇALVES DE CARVALHO

LAUAND F, FÉRES O, ROCHA JJR, CAMPOS AD, CARVALHO FG. Efeito da Hipovolemia Sobre a Cicatrização de Anastomoses Colônicas. Estudo Experimental em Ratos. *Rev bras Coloproct*, 2004;24(4):317-321.

RESUMO: A cicatrização é o processo de reparo tecidual no qual o tecido lesado é substituído por tecido conjuntivo fibroso. A falha na cicatrização das feridas é um problema clínico significativo, sendo a deiscência de anastomose uma complicação importante em pós-operatórios de cirurgias do aparelho digestivo. Certas condições gerais podem prejudicar o processo de cicatrização, tais como a hipovolemia, comum de ocorrer em cirurgias de emergência prejudicando o metabolismo do colágeno. A hidroxiprolina está presente em concentrações elevadas no colágeno, sendo indispensável para a estabilidade da tríplice hélice da proteína. Neste estudo avaliamos a cicatrização de anastomoses colônicas em ratos na vigência de hipovolemia. Dividimos os animais em três grupos experimentais portadores de anastomose colônica, sendo dois deles com hipovolemia de 20% e 40%. Realizamos exame necroscópico para avaliação macroscópica da anastomose colônica e cavidade abdominal, ressecção do segmento com a anastomose para avaliação histopatológica e dosagem de hidroxiprolina. Observamos que o grupo com hipovolemia de 40% apresentou dados necroscópicos e histopatológicos de pior prognóstico do que o grupo controle. O grupo com hipovolemia de 20% diferiu em apresentar apenas três itens histopatológicos de pior prognóstico do que o grupo controle. Não houve diferença estatística na dosagem de hidroxiprolina entre os grupos analisados. Com estes dados pudemos concluir que a hemorragia aguda interfere nos mecanismos de cicatrização do cólon e causa uma maior morbi-mortalidade nestes animais.

Unitermos: Hipovolemia, anastomose, cólon, cicatrização, hidroxiprolina.

INTRODUÇÃO

Pela ação de vários fatores sintetizados por macrófagos, plaquetas, células endoteliais e linfócito T, um ferimento desencadeia uma cascata organizada e complexa de eventos celulares e bioquímicos que resultam na reparação do tecido lesado. A cicatrização é o processo de reparo tecidual no qual o tecido lesado é substituído por tecido conjuntivo fibroso. O processo de cicatrização das feridas pode ser dividido didaticamente em três fases distintas, porém, superpostas: (1) hemostasia e inflamação, (2) fibroplasia e (3) maturação ou remodelagem. Qualquer falha ou

prolongamento em uma fase pode resultar em retardo da cicatrização ou ausência de fechamento da ferida. As falhas na cicatrização das feridas continuam sendo um problema clínico significativo, com grande impacto sobre os custos na assistência à saúde.

O colágeno, glicoproteína composta por três cadeias polipeptídicas em conformação de tríplice hélice, é constituído principalmente pelos aminoácidos glicina, alanina, lisina, prolina, hidroxilisina e hidroxiprolina. A prolilhidroxilase transforma a prolina em hidroxiprolina, que passa a ser um aminoácido exclusivo do colágeno. A hidroxiprolina está presente em concentrações elevadas no colágeno, sendo indispensável para a estabilidade da tríplice hélice da proteína¹.

Estudos anteriores mostraram que a submucosa é a camada intestinal mais importante a ser incluída na sutura. Este princípio continua aceito como verdadeiro

Trabalho realizado no Laboratório de Cirurgia Experimental da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo.

Recebido em 14/12/2004

Aceito para publicação em 13/01/2005

por ser a submucosa a camada que possui o maior teor de colágeno, proteína que confere sustentação à parede intestinal e que é fundamental no processo cicatricial².

Existem vários estudos a respeito de condições que possam interferir na frequência das deiscências de anastomoses colônicas, como fatores inerentes à técnica cirúrgica, condições locais, uso de agentes farmacológicos e condições gerais do paciente³. Todavia, pode ocorrer deiscência mesmo quando a anastomose é feita com todo rigor técnico, uma vez que fatores locais e sistêmicos são também considerados importantes quando se analisa a cicatrização³. A deiscência de anastomose é uma complicação importante em pós-operatório de cirurgias do aparelho digestivo, aumentando a morbi-mortalidade de pacientes^{4,5,6}. No cólon, particularmente, a ocorrência de deiscência de anastomose tem maior gravidade pela ocorrência de fezes em cavidade peritoneal levando a peritonites críticas. A deiscência de anastomoses colônicas é uma complicação cirúrgica potencialmente fatal^{7,8}. Certas condições gerais podem prejudicar o processo de cicatrização, tais como: hipovolemia, hipotensão arterial, isquemia intestinal, baixa tensão de oxigênio, neoplasia maligna avançada, desnutrição, desidratação, uremia e idade avançada do paciente^{9,10}.¹¹. Devido a esta natureza multifatorial, é muito difícil investigar todos os mecanismos de ocorrência e de prevenção das deiscências colônicas. A hipóxia prolongada pode produzir mudanças irreversíveis nos tecidos, inibir a cicatrização de lesões e aumentar a susceptibilidade a infecções. A correção da frequência cardíaca e a pressão parcial de oxigênio não necessariamente significam uma pressão parcial de oxigênio tissular normal, e com isso há uma oxigenação tissular periférica inadequada¹².

A hipovolemia, que é comum ocorrer em cirurgias de emergência, tem mostrado que prejudica o metabolismo do colágeno em lesões da pele e do abdome. Devido à importância, à seriedade e à frequência com que ocorrem as cirurgias em que há a necessidade de realizar anastomoses intestinais em pacientes com hipovolemia, tais como vítimas de acidentes, choque e hemorragia, o objetivo deste estudo científico experimental foi avaliar a cicatrização de anastomoses colônicas em ratos, na vigência de hipovolemia.

MATERIAIS E MÉTODOS

Utilizamos ratos Wistar divididos em três grupos experimentais: Grupo 1 (Controle): no qual foi realizada

avaliação da anastomose colônica em ratos hígidos. Grupo 2: no qual foi realizada avaliação da anastomose colônica em ratos com hipovolemia provocada pela retirada, através de punção da veia cava inferior, de 20% do total da volemia do animal. Grupo 3: no qual foi realizada avaliação da anastomose colônica em ratos hígidos com hipovolemia provocada pela retirada, através de punção da veia cava inferior, de 40% do total da volemia do animal. Todos os animais foram submetidos, após a anestesia, à ressecção de um segmento padronizado do intestino grosso, com confecção imediata da anastomose para restabelecimento do trânsito intestinal, de acordo com as normas institucionais para os cuidados com animais de experimentação.

No 1º dia os animais foram submetidos à anestesia geral com éter sulfúrico, sendo considerados anestesiados quando apresentaram respiração regular e superficial, além de flacidez da musculatura esquelética e ausência de reflexos. Após realizamos, através de laparotomia mediana inferior, secção segmentar do cólon, confecção de anastomose colônica término-terminal em sutura contínua com fio Mononylon 6-0 e rafia da parede abdominal. A intervenção cirúrgica foi realizada obedecendo à seqüência padronizada de etapas proposta por Oliveira¹³. Após a recuperação anestésica, os animais foram colocados em gaiolas, em grupos de cinco, com água e ração à vontade, pelo período de sete dias para recuperação pós-cirúrgica.

No 7º dia realizamos o sacrifício do animal, com exame necroscópico para avaliação macroscópica da anastomose colônica e cavidade abdominal e ressecção do segmento com a anastomose para avaliação histopatológica e dosagem de hidroxiprolina.

Para os grupos 2 e 3 ainda fizemos no 1º dia a retirada, por punção da veia cava inferior, de 20 % e 40 % do volume sanguíneo do animal para causar uma hipovolemia e, por conseqüência, também anemia, e o volume perdido não foi repostado por outro líquido.

Aspecto da Cavidade Abdominal e Anastomose Colônica

Ao exame necroscópico do animal foram avaliados os achados na cavidade abdominal como: sinais de peritonite, aderências, abscessos, deiscências anastomóticas. O exame necroscópico também foi realizado em animais que morreram durante o período do experimento para avaliar a frequência de deiscências em suas anastomoses.

Avaliação Histopatológica

A avaliação histopatológica foi feita analisando indicadores de cicatrização através de microscopia óptica. As condições de cicatrização foram analisadas considerando-se os seguintes indicadores: crosta fibrino-leucocitária; necrose focal; depósitos de fibrina; exsudato neutrofílico; edema; dilatação linfática; congestão vascular; hemorragia focal; exsudato eosinofílico; regeneração mucosa; infiltrado mononuclear; infiltração macrófágica; granulomas; neoformação vascular; proliferação fibroblástica e fibrose.

Estudo Bioquímico

Foi realizada a dosagem de hidroxiprolina do segmento ressecado durante a necrópsia, observando a retirada cuidadosa dos fios de sutura. O processo de extração de hidroxiprolina foi realizado segundo a técnica proposta por Stegemann & Stalder¹⁴ (1967) e modificada por Medugorac¹⁵ (1980), suprimindo-se a fase de secagem em estufa a vácuo.

Análise Estatística

Utilizamos a análise de Ridits para os dados qualitativos. Para a análise da dosagem de hidroxiprolina utilizamos a análise de variância (ANOVA). Utilizamos um nível de significância menor que 5% ($p < 0,05$).

RESULTADOS

Podemos observar na Figura-1 que o grupo 3 apresentou maior número de óbitos do que os outros grupos ($p < 0,01$). Também o grupo 3 apresentou maior quantidade de aderências ($p < 0,001$) e de abscessos ($p < 0,01$) em relação aos outros grupos. O grupo 2 não apresentou diferença estatística em relação ao grupo controle.

Na Figura-2 os dados mostram que o grupo 3 apresentou maior quantidade de deiscência anastomótica ($p < 0,001$) e maior quantidade de sinais macroscópicos de peritonite ($p < 0,001$). O grupo 2 não diferiu estatisticamente do grupo controle.

A Figura-3 nos mostra que o grupo 3 apresentou maior quantidade de necrose focal ($p < 0,01$), hemorragia ($p < 0,01$) e crosta fibrino-leucocitária ($p < 0,001$) enquanto que o grupo 2 apresentou maior

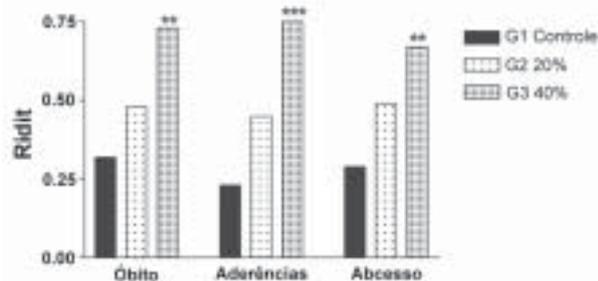


Figura 1 – Efeito da hipovolemia sobre o número de óbitos, aderências e abscesso (Grupos 2 e 3) na cicatrização de anastomose colônica em comparação com ratos previamente hígidos (Grupo1) (n=9 a 13 animais por grupo). ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$.

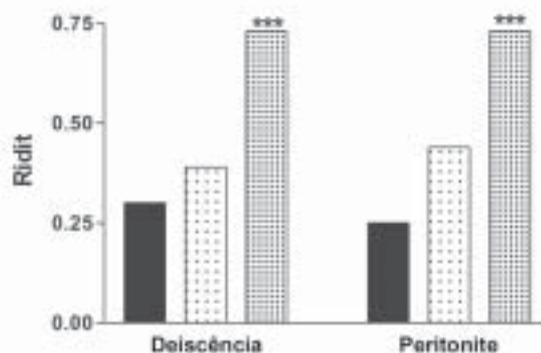


Figura 2 – Efeito da hipovolemia sobre deiscência anastomótica e sinais de peritonite (Grupos 2 e 3) na cicatrização de anastomose colônica em comparação com ratos previamente hígidos (Grupo1) (n=9 a 13 animais por grupo). ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$.

quantidade de hemorragia ($p < 0,01$) que o grupo controle, não diferindo estatisticamente nos outros itens.

Por outro lado, o grupo 3 apresentou menos regeneração mucosa ($p < 0,001$), neoformação vascular ($p < 0,001$) e edema ($p < 0,05$) do que o grupo controle. O grupo 2 apresentou apenas diferença estatística em relação à neoformação vascular ($p < 0,01$), havendo uma diminuição da neoformação vascular (figura 4).

Em relação à hidroxiprolina (figura 5), não observamos diferença estatística entre os diferentes grupos estudados.

DISCUSSÃO

A deiscência de anastomose é uma complicação importante em pós-operatórios de cirurgias do aparelho digestivo, aumentando a morbi-mortalidade de

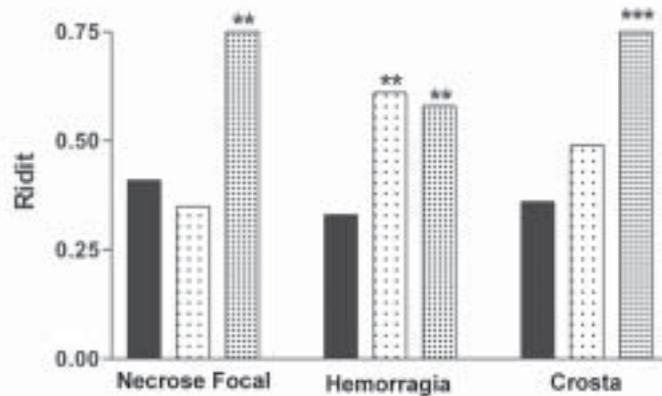


Figura 3 – Efeito da hipovolemia sobre parâmetros histopatológicos como a necrose focal, hemorragia e crosta fibrino-leucocitária (Grupos 2 e 3) na cicatrização de anastomose colônica em comparação com ratos previamente hígidos (Grupo1) (n=9 a 13 animais por grupo). **p<0,01, ***p<0,001.

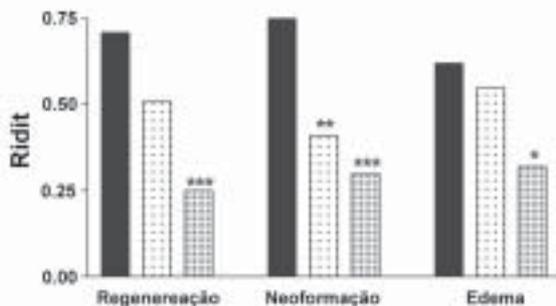


Figura 4 – Efeito da hipovolemia sobre parâmetros histopatológicos como a regeneração mucosa, neoformação vascular e edema (Grupos 2 e 3) na cicatrização de anastomose colônica em comparação com ratos previamente hígidos (Grupo1) (n=9 a 13 animais por grupo). *p<0,05, **p<0,01, ***p<0,001.

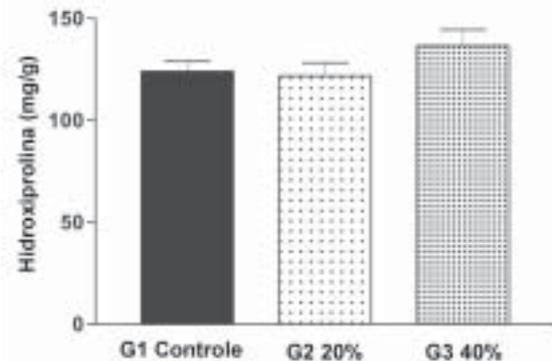


Figura 5 – Efeito da hipovolemia na concentração de hidroxirolina (mg/g de tecido) (n=9 a 13 animais por grupo).

pacientes. Os dados encontrados mostram que quanto mais importante for a hipovolemia, pior será a cicatrização. O maior número de óbitos, aderências, abscessos, deiscências e peritonites no grupo 3 confirmam essa afirmação. Nossos dados também mostram que no cólon a ocorrência de deiscência de anastomose tem maior gravidade pela ocorrência de fezes em cavidade peritoneal levando a peritonites críticas.

O maior número de óbitos confirma dados da literatura que mostram que a deiscência de anastomoses colônicas é uma complicação cirúrgica potencialmente fatal e que certas condições gerais podem prejudicar o processo de cicatrização, tais como o fator estudado: hipovolemia. Devido a esta natureza multifatorial, é muito difícil investigar todos os mecanismos de ocorrência e de prevenção das deiscências colônicas.

A hipovolemia, processo comum que ocorre em cirurgias de emergência, tem mostrado que prejudica o metabolismo do colágeno em lesões da pele e do abdome, mas os dados obtidos mostram que não se obteve diferença entre os três grupos no que se refere à dosagem de hidroxirolina, mostrando que os animais que chegam à cicatrização da anastomose completa, mesmo com hipovolemia, têm o colágeno suficiente para viabilizar o processo da cicatrização.

Dados da literatura mostram que a hipóxia prolongada pode produzir mudanças irreversíveis nos tecidos, inibir a cicatrização de lesões e aumentar a susceptibilidade à infecções. Em relação aos dados histopatológicos, pode-se notar que o grupo 3 apresentou vários achados que são prejudiciais à cicatrização (necrose focal, hemorragia, crostas) maiores que o grupo controle e o grupo 2. O grupo 3

também apresentou menor regeneração, neoformação vascular e edema. Isto também mostra que a hipovolemia é deletéria à cicatrização.

Podemos concluir, com base em nossos dados, que a hipovolemia influencia negativamente a cicatrização de anastomoses colônicas.

SUMMARY: The healing is the process of tecidual repair in which the injured tissue is replaced by fibrous connective tissue. The defect in the healing is a significant clinical problem, so the anastomosis dehiscence is an important complication in digestive system post-surgery. Certain general conditions can harm the healing process, such as the hypovolemia, that is common to occur in urgent surgeries, being harmful to the collagen metabolism. The hydroxyproline appears in great concentration in the collagen, so it is indispensable to the stability of the triple helix of this protein. In this study we evaluated the healing of colonic anastomosis in rats in the presence of hypovolemia. We divided the animals into three experimental groups with colonic anastomosis and two of these groups had hypovolemia of 20% and 40%. Necroscopic examination was made for macroscopic evaluation of the colonic anastomosis and abdominal cavity. The removal of the anastomosis segment for hystopatologic evaluation and the dosage of hydroxyproline were also performed. We observed that group 3 with 40% of hypovolemia presented necroscopic and hystopatologic data of worse prognosis than control group. The group with 20% of hypovolemia had only three hystopatologic data of worse prognosis than control group. There was no statistical significance of hydroxyproline dosage in the three groups. These data suggest that acute hemorrhage interferes in the mechanisms of colonic healing and causes an increase in morbid-mortality.

Key words: Hypovolemia, anastomosis, healing, hydroxyproline.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Forrest L - Current concepts in soft connective tissue wound healing. **Br. J. Surg.**, v.70:133-40, 1983.
2. Halsted WS - Circular suture of the intestine, an experimental study. **Dis Colon Rectum**, v.27(12):838-41, 1984.
3. Hawley PR - Causes and prevention of colonic anastomotic breakdown. **Dis. Colon Rectum**, v.16:272-7, 1973.
4. Swinton NW, Scherer WP, Mendelssohn AW, Nahra KS - Complications of colonic surgery. **Surg Clin North Am**, v.48(3):553-8, 1968.
5. Debas HT, Thomson FB - A critical review of colectomy with anastomoses. **Surg. Gynecol. Obstet.**, v.135:747-52, 1972.
6. Goligher JC, Graham NG, De Dombal FT - Anastomotic dehiscence after anterior resection of rectum and sigmoid. **Br. J. Surg.**, v.57:109-18, 1970.
7. Buchmiller-Crair TL, Kim CS, Won NH, Chopourian HL, Shaw KS, Fonkalsrud EW - Effect of acute anemia on the healing of intestinal anastomoses in the rabbit. **J Trauma**, v.51(2):363-8, 2001.
8. Koruda MJ, Rolandelli RH - Experimental studies on the healing of colonic anastomoses. **J. Surg. Res.**, v.48(5):504-15, 1990.
9. Gilmour DG, Aitkenhead AR, Hothersall AP, Ledingham IM - The effect of hipovolaemia on colonic blood flow in dog. **Br. J. Surg.**, v.67:82-4, 1980.
10. Cohen SR, Cornell CN, Collins MH, Sell JE, Blanc WA, Altman RP - Healing of ischemic colonic anastomoses in the rat: role of antibiotic preparation. **Surgery**, v. 97:443-6, 1985.
11. Hartmann M, Jonsson K & Zederfeldt B - Importance dehydration in anastomotic and subcutaneous wound healing: an experimental study in rats. **Eur. J. Surg.**, v.158:79-82, 1992.
12. Niinikoski J - Tissue oxygenation in hypovolaemic shock. **Ann. Chirn. Res.**, v.9 (3):151-6, 1977.
13. Oliveira PG - Estudos dos efeitos de uma prostaglandina sintética, o Misoprostol, sobre a cicatrização de anastomoses no intestino grosso de ratos. **Dissertação de Mestrado**, FMRP-USP, p.13-25, 1989.
14. Stegemann H, Stalder K - Determination of hydroxyproline. **Clin Chim Acta**, v.18(2):267-73, 1967.
15. Medugorac I - Collagen content in different areas of normal and hypertrophied rat myocardium. **Cardiovasc Res**, v.14(9):551-4, 1980.

Endereço para correspondência:

Prof. Dr. Omar Féres
Departamento de Cirurgia e Anatomia –
Disciplina de Colo-Proctologia
Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto (USP)
Avenida dos Bandeirantes, 3900 - Monte Alegre.
14.049-900 - Ribeirão Preto (SP)
E-mail: feresomar@netsite.com.br / lauandf@yahoo.com.br
Tel. (16) 602-2509