

EFEITO DA ANEMIA AGUDA NA CICATRIZAÇÃO DE ANASTOMOSES COLÔNICAS. ESTUDO EXPERIMENTAL EM RATOS

LINA PRADO BAFFA
RICARDO L. SANTOS GARCIA
ANTONIO DORIVAL CAMPOS
JOSÉ JOAQUIM RIBEIRO DA ROCHA - TSBCP
OMAR FERES - ASBCP

BAFFA LP; GARCIA RLS; CAMPOS AD; ROCHA JJR; FERES O. Efeito da Anemia Aguda na Cicatrização de Anastomoses Colônicas. Estudo Experimental em Ratos. *Rev bras Coloproct*, 2005;25(1):24-30.

RESUMO: Existem vários fatores, tanto locais como sistêmicos, que interferem na ocorrência das deiscências de anastomoses colônicas, como a vascularização da anastomose, técnica cirúrgica utilizada, uso de agentes farmacológicos e condições gerais do paciente, incluindo a anemia aguda.

Esse estudo experimental teve como objetivo a avaliação da cicatrização da anastomose colônica em ratos na vigência de anemia aguda.

Foram utilizados dois grupos de 20 ratos (grupo controle sem anemia e grupo com anemia aguda – provocada por punção da veia cava inferior com sangramento de 30% da volemia) submetidos a laparotomia para secção segmentar do cólon e confecção de anastomose término-terminal.

Os animais foram sacrificados no 8º dia de pós-operatório. A anastomose, após uma análise macroscópica, foi estudada do ponto de vista bioquímico e histopatológico. Os resultados foram submetidos à análise estatística utilizando os testes de Fisher e de Mann Whitney, com nível de significância menor que 5% ($p < 0,05$).

Os resultados histológicos foram consistentes com cicatrização alterada nos animais anêmicos. Os animais anêmicos apresentaram maior quantidade de fibrina e infiltrado monocitário, que são fatores deletérios na cicatrização e menor quantidade nos parâmetros dilatação linfática, congestão vascular e neoformação vascular, que são fatores adjuvantes na cicatrização de anastomoses.

O presente estudo mostra que isoladamente a anemia aguda causa efeitos adversos negativos nos parâmetros histológicos da cicatrização de anastomoses colônicas.

Unitermos: anastomose colônica, anemia aguda, cicatrização

INTRODUÇÃO

A deiscência de anastomose é uma das mais graves complicações advindas de operações do tubo gastrointestinal, ocasionando grande aumento na morbimortalidade de pacientes^{1,2,3}. Vários estudos confirmaram que há um aumento significativo no índice de mortalidade pós-operatória quando estas deiscências ocorrem no intestino grosso, devido à

presença de fezes na cavidade peritoneal levando a peritonites graves, ocorrendo maior tempo de internação hospitalar e do custo final do tratamento.

Existem vários fatores, tanto locais como sistêmicos, que interferem na ocorrência das deiscências de anastomoses colônicas, como a vascularização da anastomose, a técnica cirúrgica utilizada, o uso de agentes farmacológicos e as condições gerais do paciente⁴.

A submucosa é a principal camada da parede intestinal responsável pela cicatrização, por ser essa camada a que contém maior quantidade de colágeno.

Existem diversas técnicas para a confecção de uma anastomose e várias discussões quanto ao número

Trabalho realizado no Laboratório de Técnica Cirúrgica e Cirurgia Experimental do Departamento de Cirurgia e Anatomia da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto - Universidade de São Paulo.

Recebido em 17/03/2005

Aceito para publicação em 29/03/2005

de planos a serem envolvidos. Halsted, em 1887, preconizou que as anastomoses fossem realizadas em plano único de sutura extramucosa e condenou a sutura em dois planos, afirmando que o segundo plano não constitui fator de segurança, e sim de risco. Fato é que os detalhes estudados envolvem os seguintes aspectos: técnica fechada (asséptica) versus técnica aberta^{5,6}, aproximação de bordas intestinais em inversão, eversão ou alinhadas^{2,7}, anastomoses em plano único e em dois planos de sutura^{8,9}, suturas contínuas versus pontos separados, anastomoses com grampeadores¹⁰ e a diversidade de materiais empregados nas suturas¹¹.

Em condições ideais, uma anastomose deve ser bem vascularizada, realizada sem tensão e livre de contaminação bacteriana¹⁰. A infecção peritoneal altera o metabolismo do colágeno retardando a cicatrização e propiciando a deiscência da sutura^{4,12,13,14}. Outros fatores locais que potencializam o aumento das deiscências são: a presença de drenos próximos à linha de sutura, inflamação e neoplasia em bordas e a dose utilizada de radioterapia^{13,15}.

O uso de agentes farmacológicos como a prednisolona, insulina, 5-fluoracil, hormônio de crescimento, diclofenaco sódico, piroxicam, aspirina, indometacina, prostaglandina E1 e de antibióticos, também foi descrito interferindo, de maneira significativa, nas deiscências de anastomoses colônicas^{16,17,18,19}.

Certas condições podem prejudicar o processo de cicatrização, tais como hipotensão arterial, hipovolemia, isquemia intestinal, baixa tensão de oxigênio, neoplasia maligna avançada, desnutrição, desidratação, uremia e idade avançada do paciente^{13,20,21,22,23,24,25,26,27,28}.

Hematócritos vêm historicamente sendo mantidos ³ 30% durante o período pré-operatório apesar das evidências conflitantes de seus efeitos benéficos. Contudo, por causa da contínua preocupação com os riscos associados à transfusão sanguínea, incluindo o risco de transmissão do vírus da hepatite e HIV, hematócritos mais baixos de 20 a 25% são tolerados, evitando-se as transfusões.

Em algumas situações é necessária a realização de cirurgia com anastomose colônica em pacientes portadores de anemia aguda. Esta é uma situação angustiante para o cirurgião, motivando a realização deste trabalho para avaliar a influência da anemia aguda na cicatrização de anastomoses colônicas²⁹.

OBJETIVO

O objetivo deste estudo científico experimental é avaliar a cicatrização de anastomoses colônicas em ratos na vigência de anemia aguda.

MATERIAL E MÉTODOS

Nesse estudo foram utilizados 40 ratos da raça Wistar, hígidos, com peso próximo a 300 gramas, provenientes do Biotério Central da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto – USP. Os animais foram divididos em 2 grupos para avaliação ao fim do estudo em função da anastomose colônica.

Grupo I - (grupo controle): Avaliação da anastomose colônica em 20 ratos sem anemia aguda.

Grupo II - (grupo com anemia aguda): avaliação da anastomose colônica em 20 ratos previamente hígidos com anemia aguda provocada por sangramento de 30% da volemia com ressuscitação com solução de Ringer Lactato no 1º dia, confirmada laboratorialmente pela dosagem do hematócrito no 2º dia.

ORGANOGRAMA

GRUPO I (Controle):

1º dia: Realização de laparotomia mediana, localização e secção segmentar do cólon, confecção de anastomose término-terminal com sutura contínua em plano único com fio mononylon 6-0 e rafia da parede abdominal.

2º dia: Coleta de sangue para dosagem do hematócrito.

8º dia: Realização do sacrifício do animal com exame necroscópico para avaliação macroscópica da anastomose colônica e cavidade abdominal. Ressecção de segmento com anastomose para avaliação histopatológica e dosagem de hidroxiprolina.

GRUPO II (com anemia aguda):

1º dia: Realização de laparotomia mediana para punção da veia cava inferior, com sangramento de 30% da volemia e reposição com solução de Ringer lactato pela veia da cauda do rato. Secção segmentar do cólon, confecção de anastomose término-terminal com sutura contínua em plano único com fio mononylon 6-0 e rafia da parede abdominal.

2º dia: Coleta de sangue para dosagem do hematócrito.

8º dia: Realização do sacrifício do animal com exame necroscópico para avaliação macroscópica da anastomose colônica e cavidade abdominal. Ressecção de segmento com anastomose para avaliação histopatológica e dosagem de hidroxiprolina.

AVALIAÇÃO

Aspecto da cavidade abdominal e da anastomose colônica

Realizado exame necroscópico após o sacrifício do animal, para avaliação de achados na cavidade abdominal, como sinais de peritonite, aderências, as deiscências. Avaliada a presença de abscessos de parede abdominal nos animais.

Avaliação Histopatológica

Após fixação em formol tamponado a 10% as peças foram coradas por hematoxilina-eosina. Feita avaliação histológica analisando indicadores de cicatrização em microscopia óptica, por um observador que desconhecia a que grupo pertencia o animal. Na análise histológica as lâminas foram avaliadas quanto aos seguintes critérios: crosta fibrinoleucocitária, necrose, fibrina, edema, dilatação linfática, congestão vascular, neoformação vascular, hemorragia, eosinófilos, neutrófilos, monócitos, macrófagos, regeneração mucosa, granuloma, proliferação fibroblástica e fibrose. Foi utilizada uma pontuação de 0 a +++ para quantificar cada critério analisado.¹⁹

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 & Stalder³⁸ (1967) e modificada por Medugorac³⁹ (1980), suprimindo-se a fase de secagem em estufa a vácuo.

ANÁLISE ESTATÍSTICA

Utilizamos o teste exato de Fisher e de Mann Whitney para avaliar estatisticamente os valores encontrados pelo experimento, usando um nível de significância menor que 5% ($p < 0,05$).

RESULTADOS

Foram operados 42 ratos previamente hígidos, sendo que 19 pertenciam ao grupo controle e 23 ao grupo com anemia aguda.

Durante o experimento, 3 animais do grupo controle desenvolveram abscessos e 2 morreram. Já no grupo de animais com anemia aguda, em 6 houve abscessos e 6 morreram.

Foi utilizado o teste exato de Fisher para comparar os dois grupos quanto aos parâmetros óbito precoce ($p = 0,2585$) e proporção de abscessos ($p = 1,0000$).

Para avaliar os parâmetros peso, hematócrito e dosagem de hidroxiprolina foi utilizado o teste de Mann Whitney.

Na dosagem de hidroxiprolina dos animais do grupo com anemia aguda no limite inferior foi encontrado o valor de 240mg/100g, no 1º quartil, de 306mg/100g, no 2º quartil um valor de 726mg/100g e no limite superior um valor de 826mg/100g. Nos animais do grupo controle o valor no limite inferior foi de 220mg/100g, no 1º quartil de 363mg/100g, no 2º quartil de 478mg/100g, no 3º quartil de 608mg/100g, e no limite superior de 874mg/100g. (Figura-1)

Os valores encontrados de hematócrito dos animais do grupo anemia aguda no limite inferior, primeiro, segundo, terceiro e quarto quartis foram respectivamente: 28%; 31%; 35%; 36% e 46%. Nos animais do grupo controle os valores encontrados no limite inferior, primeiro, segundo, terceiro e quarto quartis foram respectivamente: 42%; 44%; 46,5%; 49% e 54%. (Figura 2).

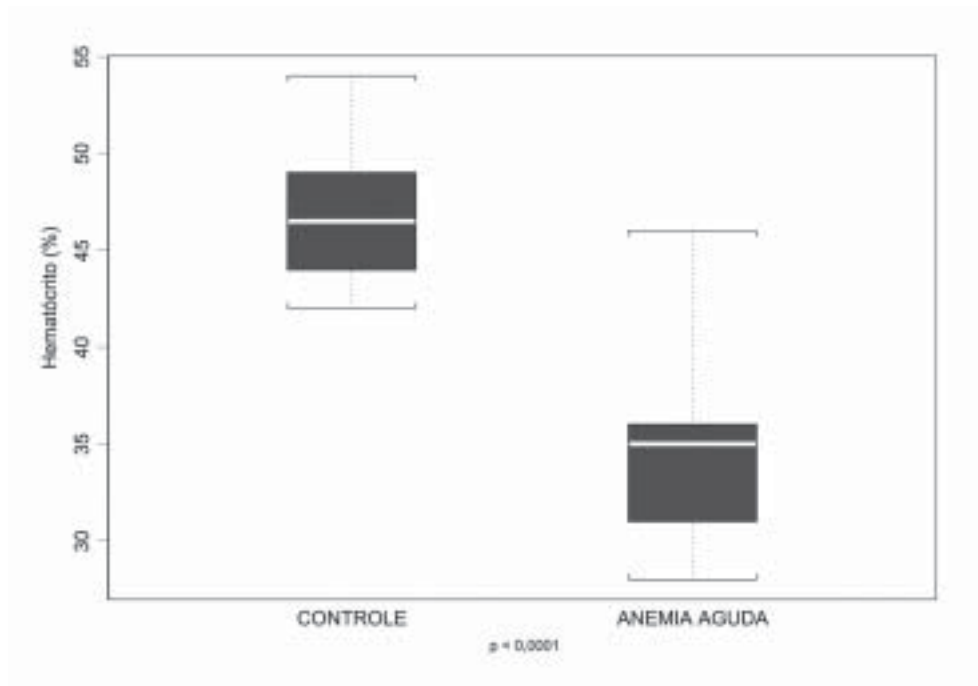


Figura 1 – “Box-plot” da concentração de hidroxiprolina, em $\mu\text{g}/100\text{mg}$ de tecido seco, de ratos dos grupos controle e com anemia aguda.

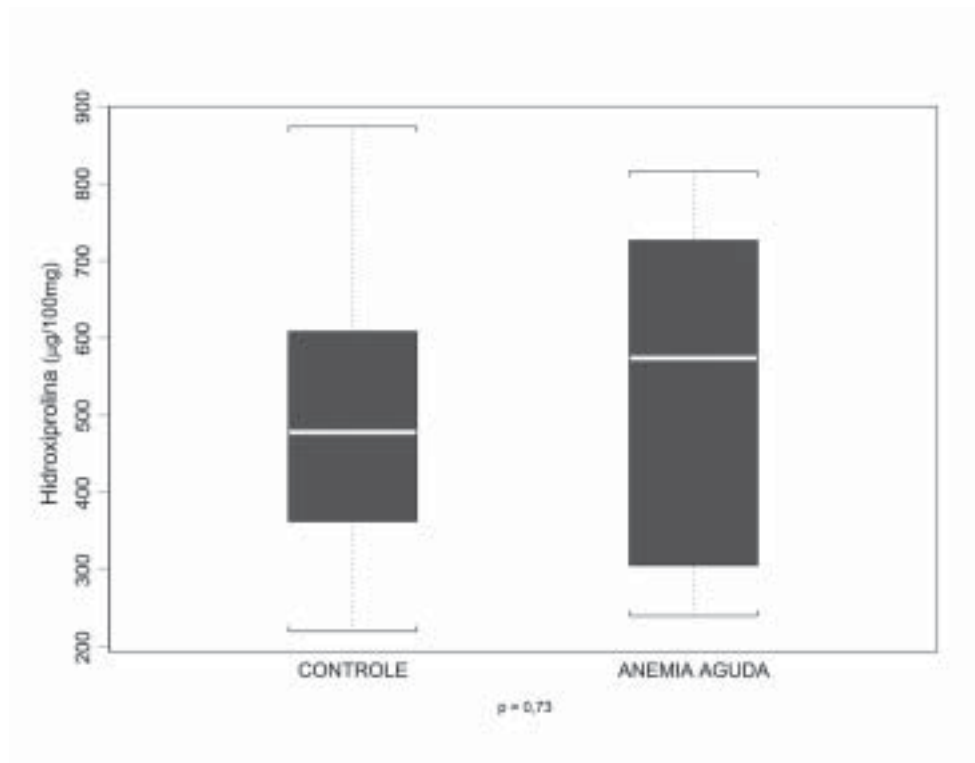


Figura 2 – “Box-plot” da porcentagem de hematócritos, de ratos dos grupos controle e com anemia aguda.

Para avaliar os critérios histológicos foi utilizado o teste exato de Fisher cujos resultados estão na Tabela-1.

Tabela 1 – Resultados histopatológicos com diferença estatística.

	0	+	++	+++
Fibrina				
controle	4	1	6	6
anêmico	0	8	3	6
Monocitos				
controle	0	11	6	0
anêmico	0	6	6	5
Dilatação Linfática				
controle	2	2	3	10
anêmico	0	8	6	3
Congestão Vascular				
controle	0	0	4	13
anêmico	0	7	4	6
Neoformação Vascular				
controle	0	0	3	14
anêmico	0	6	4	7

$p < 0.05$

DISCUSSÃO

A cicatrização de feridas envolve eventos complexos ainda não completamente entendidos. O trato gastrointestinal requer avaliação independente, pois possui características próprias, já que apresenta apenas um décimo do colágeno presente na pele.³⁶

Ainda existem controvérsias sobre o papel da anemia aguda na cicatrização de anastomoses. Schrock et al. descreveram uma taxa de deiscência colônica significativamente mais alta em pacientes anêmicos.¹³ Assim acredita-se que anemia seja menos prejudicial que hipovolemia³⁰, pela intuição clínica um hematócrito mais baixo, com diminuída capacidade de carrear oxigênio deverá retardar a cicatrização em

algum nível. Estudos com animais para investigar o papel da anemia aguda na cicatrização de feridas são numerosos e freqüentemente conflitantes, com a maioria avaliando a pele e o tecido subcutâneo.^{31,32,33,34,35} Sandblom mostrou que hemorragia aguda em coelhos levou a diminuição na força de tensão no tecido cicatrizado.³⁷ No entanto não foi feita reposição de volume, assim desidratação e má nutrição foram variáveis geradoras de confusão levando a posterior reavaliação das conclusões originais.

No presente estudo fizemos um modelo agudo de sangria, seguido de reposição do volume perdido com solução isotônica.

Um volume de sangria de 30% foi escolhido por duas razões: para simular a condição humana de choque hemorrágico moderado não letal, e pelo fato dos ratos tolerarem bem essa perda de volume, segundo projeto piloto realizado previamente ao presente estudo.

A remoção de 30% do volume sanguíneo levou a um hematócrito médio de 34,28% no grupo anemia aguda. O hematócrito médio no grupo controle foi de 47,85%, assim concluímos que os dois grupos são distintos estatisticamente com um $p < 0,0001$.

Foi observado que não houve diferença estatística significativa entre o peso dos animais dos dois grupos. O índice de abscesso de parede abdominal e o número de óbitos precoces dos animais foram maiores no grupo anemia aguda em relação ao grupo controle; entretanto, não houve diferença estatística significativa. Na dosagem de hidroxiprolina também não houve diferença estatística significativa, isso nos leva a concluir que a anemia aguda atua em outros parâmetros do processo cicatricial não relacionados à hidroxiprolina.

Os resultados histológicos foram consistentes com cicatrização alterada nos animais anêmicos. Os animais anêmicos apresentaram maior quantidade de fibrina e infiltrado monocitário, que são fatores deletérios na cicatrização e menor quantidade nos parâmetros dilatação linfática, congestão vascular e neoformação vascular, que são fatores adjuvantes na cicatrização de anastomoses.

O presente estudo mostra que isoladamente a anemia aguda causa efeitos adversos negativos nos parâmetros histológicos da cicatrização de anastomoses colônicas.

SUMMARY: Several factors, both of a local and systemic nature, participate in the occurrence of anastomosis dehiscence, such as the anastomosis vascularization, the surgical techniques used, the use of pharmacological agents, and the general conditions of the patient, including acute anemia.

The objective of the present experimental study was to assess the healing of colonic anastomoses in rats in the presence of acute anemia.

Two groups of 20 rats each were used, a control non-anemic group and a group with acute anemia caused by puncture of the inferior vena cava with a bleeding volume of 30% of total blood. The animals were submitted to laparotomy for segmental resection of the colon and the execution of an end-to-end anastomosis.

The animals were sacrificed on the 8th postoperative day. The anastomosis was inspected macroscopically and then submitted to biochemical and histopathological study. Data were analyzed statistically by the Fisher and Mann-Whitney tests, with the level of significance set at 5% or less ($p < 0.05$).

The histological results were consistent with altered healing in the anemic animals. These animals presented a larger amount of fibrin and of monocytic infiltrates which are deleterious factors in the healing process, and lower lymphatic dilation, vascular congestion and neovascularization, which are adjuvant factors in anastomosis healing.

The present study showed that acute anemia alone has negative adverse effects on the histological parameters of colonic anastomosis healing.

Key words: colonic anastomosis, acute anaemia, healing

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Bearhs, O.H. Complications of colonic surgery. **Surg. Clin. North Am.:**1967 v. 47, p. 983-8.
- Goligher, J.C. et al Anastomotic dehiscence after anterior resection of rectum and sigmoid. **Br. J. Surg.:**1970; v.57, p. 109-18.
- Debas, H.T. & Thomson, F.B. A critical review of colectomy with anastomosis. **Surg. Gynecol. Obstet.:**1972; v.135, p. 747-52.
- Hawley, P.R. Causes and prevention of colonic anastomotic breakdown. **Dis. Colon Rectum:**1973; v.16, p. 272-7
- Halsted, W.S. Circular suture of the intestine: an experiment study. **Am. J. Med. Sci.:**1887; v.75, p. 436-6.
- Kerr, H.H. The development of intestinal surgery. **JAMA:**1923; v.81, p. 641-7.
- Getzen, L.C. Clinical use of everted intestinal anastomoses. **Sur. Gynecol. Obstet.:** 1966;v.123, p. 1027-36.
- Gorodiche, J. & Jourdan, P. Anastomoses digestives en un plan de suture. **Sem. Hop. Pari:**1951; v. 27, p. 3740-7.
- Kiss, D.R. et al. Anastomose em plano único de sutura na cirurgia cólica eletiva. **Rev. Paul. Méd.:**1976; v. 87, p. 64-6.
- Nance, F.C. New techniques of gastrointestinal anastomoses with EEA stapler. **Ann. Surg.:**1979; v.189, p.587-600, .
- Cowley, L.L. One layer end-on intestinal anastomoses using fine monofilament steel sutures. **Am. J. Surg.:**1969; v.118, p. 177-81.
- Ravo, B. Colorectal anastomotic healing and intracolonic bypass procedure. **Surg. Clin. North Am.:**1988; v.68, p. 1267-94.
- Schrock, T.R. et al Factors contributing to leakage of colonic anastomoses. **Ann. Surg.:**1973, v.177, p.513-8 .
- Dunphy, J.E. The cut gut. **Am. J. Surg.:**1967; v.113, p. 646-7.
- Berliner, S.D. et al Intraoperative drains in surgery of the colon. Clinical evaluation of 454 cases. **Am. J. Surg.:**1967; v. 113, p. 646-7.
- Sayan, M. et al. The effect of oral sodium taurocholate on endotoxemia and intestinal anastomotic wound healing in rats with obstructive jaundice. **Surg. Today:**1997; v.27(10), p.953-7.
- Comert, M. et al. The effect of pentoxifyline on the healing of intestinal anastomosis in rats. **Surg. Today.:**2000;v.30(10), p.896-902.
- Fernandes, L.C. et al. Comparative study of intestinal anastomosis with manual suture and biofragment ring in dog under corticosteroid administration. **Rev. Assoc. Med. Bras.,** v. 46(2), p.113-120.
- Sousa, J.B. Efeitos da cicatrização de anastomoses no intestino delgado de coelhos tratados com diclofenaco sódico. **Ribeirão Preto, 1989. 104p. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo.**
- Gilmour, D.G. et al. The effect of hypovolaemia on colonic blood flow in the dog. **Br. J. Surg.:**1980; v.67, p.82-84 .
- Cohen, S.R. et al. Healing of ischemic colonic anastomoses in the rat: role of antibiotic preparation. **Surgery.:**1985;v.97, p. 443-6.
- Sheridan, W.G. et al. Tissue oxygen tension as a predictor of colonic anastomotic healing. **Dis. Colon Rectum, :**1973;v.30, p.513-8.

23. Irvin, T.T. & Goligher, J.C. A etiology of disruption of intestinal anastomoses. **Br. J. Surg.**:1973; v.60, p. 461-4.
24. Daly, J.M. et al. Effects of protein depletion on strenght of colonic anastomoses. **Surg. Gynecol. Obstet.**, :1972;v. 134, p.15-21.
25. Hartmann, M. et al. Importance of dehydration in anastomotic and subcutaneous wound healing: an experimental study in rats. **Eur. J. Surg.**:1992; v.158, p.79-92.
26. Colin, J.F. et al. The effect of uremia upon wound healing. **Br. J. Surg.**,:1979;v.66, p.793-7.
27. Irvin, T.T. et al. Abdominal wound healing in jaundice patients. **Br. J. Surg.**,:1978; v.65, p. 521-2.
28. Than, T. et al. Skin prolin hidroxylase in patients with obstructive jaundice. *The Lancet*,:1974; v.5, p. 807-8.
29. Buchmiller-Crair, T.L. et al. Effect of acute anemia on the healing of intestinal anastomoses in the rabbit. **J. of Trauma**, v.51(2), p.363-8, 2001.
30. Hunt TK, Rabkin J, von Smitten K. Effects of edema and anemia on wound healing. **Current Stud Hematol Blood Transfus.** 1986; 53:101-111.
31. Jurkiewicz MJ, Garret LP. Studies on the influence of anemia on wound healing. **Am. Surg.** 1964; 30:23-25.
32. Jacobson MJ, Vanprohaska J. The healings of wounds in iron deficiency. *Surgery.* 1965;57:254-258.
33. Besser EL, Ehrenhaft JL. The relationship of acute anemia to wound healing. **Surgery.** 1943;14:239-245.
34. Trueblood HW, Nelson TS, Oberhelman HA Jr. The effect of acute anemia and iron deficiency anemia on wound healing. **Arch Surg.** 1969;99:113-116.
35. Sanberg N, Zederfeldt B. Influence of acute hemorrhage on wound healing in the rabbit. **Acta Chir Scand.** 1959/1960;118:367-371.
36. Brasken P, Lehto M, Renvall S. Changes in the connective tissue composition of submucosal layer of colonic anastomosis: an immunohistologic study in rats. **Acta Chir Scand.** 1989;155:413-419
37. Sandblom P. The tensile strength of the healing wounds: an experimental study. **Acta Chir Scand Suppl.** 1994;89:1-108.
38. Stegemann H, Stalder K - Determination of hydroxyproline. **Clin Chim Acta**, v.18(2):267-73, 1967.
39. Medugorac I - Collagen content in different areas of normal and hypertrophied rat myocardium. **Cardiovasc Res**,1980: v.14(9):551-4.

Endereço para correspondência:

OMAR FERES
Disciplina de Coloproctologia
Departamento de Cirurgia e Anatomia
Hospital das Clínicas da FMRP-USP
14.048-900 - Ribeirão Preto (SP)