

# INFLUÊNCIA DA ICTERÍCIA OBSTRUTIVA NA CICATRIZAÇÃO DA PELE E DE ANASTOMOSE JEJUNAL EM RATOS

## INFLUENCE OF OBSTRUCTIVE JAUNDICE ON WOUND AND JEJUNAL ANASTOMOSIS HEALING IN RATS

Víctor Nunes Arantes<sup>1</sup>

Ricardo Y. Okawa<sup>2</sup>

Walter José Fagundes-Pereyra<sup>3</sup>

Alfredo José Afonso Barbosa<sup>4</sup>

Andy Petroianu, TCBC-MG<sup>5</sup>

**RESUMO:** A cicatrização da pele e do intestino podem ser influenciadas pela elevação da bilirrubina. Com o objetivo de avaliar o possível efeito da icterícia obstrutiva sobre a sutura da pele e de anastomose jejunal, foram estudados 32 ratos, divididos em quatro grupos (n=8) e acompanhados em períodos pós-operatórios de sete e 14 dias. Todos os animais foram submetidos a laparotomia e anastomose jejunal. Os grupos 1 e 2 serviram como controle dos grupos 3 e 4, os quais foram submetidos a ligadura do ducto biliopancreático. Os animais dos grupos 1 e 2 mantiveram o mesmo peso corporal durante todo o período de acompanhamento, enquanto os icterícos apresentaram uma queda ponderal significativa após sete dias ( $p < 0,05$ ). Não houve diferença na resistência da sutura de pele entre os ratos icterícos e não-icterícos. Após duas semanas, a icterícia reduziu a resistência anastomótica jejunal ( $p < 0,01$ ). O exame histológico revelou menor grau de desenvolvimento da fibrose cicatricial nas anastomoses dos ratos icterícos. Conclui-se que a icterícia obstrutiva pode atuar negativamente sobre a cicatrização tissular. Deve-se ressaltar a importância dos fatores associados à icterícia na gênese desse efeito.

**Unitermos:** Icterícia obstrutiva; Variação ponderal; Pele-cicatrização; Jejunu-anastomose; Resistência tênsil; Histologia.

### INTRODUÇÃO

Os efeitos da icterícia obstrutiva sobre os processos cicatriciais ainda são controversos na literatura.<sup>1,2</sup>

Estudos clínicos e experimentais têm demonstrado que agentes locais e sistêmicos,<sup>3,4</sup> tais como desnutrição, hipóxia, deficiência de ácido ascórbico, anemia, diabetes, corticoterapia, obesidade, radiação, doenças malignas, dentre outros, podem influenciar negativamente a cicatrização tissular.<sup>1,2,4,14</sup>

Diversos autores<sup>2,6-8,11-13</sup> mostraram que pacientes icterícos apresentam uma maior incidência de complicações, tais como deiscência de sutura de pele, hérnia incisional e infecção de ferida operatória. Entretanto, a maioria destes trabalhos,

avaliou os efeitos da hiperbilirrubinemia sobre a cicatrização, na vigência de outras afecções.<sup>15</sup> Outros autores não observaram tais resultados, ou os atribuíram a fatores associados à icterícia. Dessa forma, cada fator poderia interferir de forma deletéria no processo de cicatrização e na resistência tecidual, o que acaba por tornar duvidosa a influência direta da icterícia nesse processo.<sup>1</sup> Assim, os modelos experimentais são muito importantes para o esclarecimento destas questões, tendo em vista a possibilidade de se mensurar e controlar de maneira mais adequada tais fatores e, eventualmente, determinar se são primários ou secundários.<sup>15</sup>

Em trabalhos experimentais, utilizando ratos com icterícia obstrutiva, Bayer e Ellis demonstraram que ocorre um

1. Cirurgião Geral e Endoscopista do Hospital de Pronto Socorro João XXIII (FHEMIG) e do Hospital Universitário São José da FCMMG e Bolsista do CNPq.

2. Médico Residente de Cirurgia Cardiovascular do Hospital das Clínicas da UFMG e Bolsista do CNPq.

3. Médico Residente de Neurocirurgia da Santa Casa de Belo Horizonte e Bolsista do CNPq.

4. Professor Titular do Departamento de Anatomia Patológica da Faculdade de Medicina da UFMG e Pesquisador I do CNPq.

5. Professor Titular do Departamento de Cirurgia da Faculdade de Medicina da UFMG. Docente Livre da EPM – UNIFESP.

Docente Livre da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto – USP. Doutor em Fisiologia e Farmacologia e Pesquisador I do CNPq.

Recebido em 28/12/98

Aceito para publicação em 26/7/99

Trabalho realizado no Departamento de Cirurgia da Faculdade de Medicina da UFMG.

retardo na cicatrização de incisões abdominais e gástricas, com diminuição da resistência da pele, sem, entretanto, alterar a pressão de ruptura do estômago.<sup>16</sup> Esses achados foram atribuídos ao atraso na deposição de colágeno e ao retardo na formação neovascular. Observações estas corroboradas por Than et al e Lee, que evidenciaram ainda menor atividade da hidroxiprolina, redução dos níveis de hemoglobina e do acúmulo de colágeno na cicatrização da pele, além de hipoalbuminemia, após duas semanas da ligadura do ducto biliopancreático.<sup>1,5,9,16</sup> Já Arnaud et al e Delemare et al observaram diminuição da resistência à ruptura do estômago e cólon, nos animais icterícos, respectivamente.<sup>4,5,17</sup>

Apesar dos diversos estudos que relacionaram a hiperbilirrubinemia e os processos cicatriciais, parece ainda haver dúvidas quanto aos efeitos da icterícia na cicatrização e, especialmente, sobre os mecanismos envolvidos.<sup>1,2,8</sup> Com o objetivo de avaliar a influência da icterícia obstrutiva na cicatrização da pele e de anastomose jejunal, seguindo uma linha de pesquisa do nosso laboratório,<sup>18</sup> foi realizado o presente trabalho.

## MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizadas 32 ratas da raça Holtzman, pesando entre 150 e 250 gramas. Os animais foram divididos em quatro grupos (n=8), de acordo com o seguinte protocolo:

Grupo 1 – Sob anestesia inalatória com éter sulfúrico, realizou-se laparotomia mediana e laparorráfia. Esta e as demais laparorráfias foram realizadas com fio de Dácron (Mersilene® 2-0). No sétimo dia pós-operatório, através da mesma via de acesso, seccionou-se o jejunum a 10 cm da transição duodeno-jejunal. Em seguida, os cotos jejunais foram anastomosados com fio de seda 6-0. No sétimo dia desta segunda operação, os ratos foram mortos com superdose inalatória de éter sulfúrico, e o segmento jejunal de 10 cm, contendo a anastomose na sua parte média, foi retirado para estudo da tensão e histologia. Um outro segmento de 10 cm foi retirado imediatamente após o primeiro, para ser comparado com este sob aspecto de resistência (Figura 1).

Grupo 2 – Realizou-se a mesma seqüência de procedimentos descrita para o grupo 1, porém os animais foram mortos no 14º dia após a segunda intervenção.

Grupo 3 – Através de laparotomia mediana, ligou-se o ducto biliopancreático, logo abaixo de sua bifurcação, com fio de seda 4-0. Os demais procedimentos foram conforme o descrito para o grupo 1.

Grupo 4 – Realizou-se a ligadura do ducto biliopancreático, assim como foi descrito para o grupo 3. Os demais procedimentos seguiram o protocolo do grupo 2.

Os ratos receberam água açucarada a 10% nos dois primeiros dias após a anastomose jejunal. A partir do terceiro dia, foi oferecida ração própria para ratos e água à vontade. Os animais foram pesados antes de cada procedimento cirúrgico e no dia em que foram sacrificados. O acompanhamento dos animais foi feito diariamente.

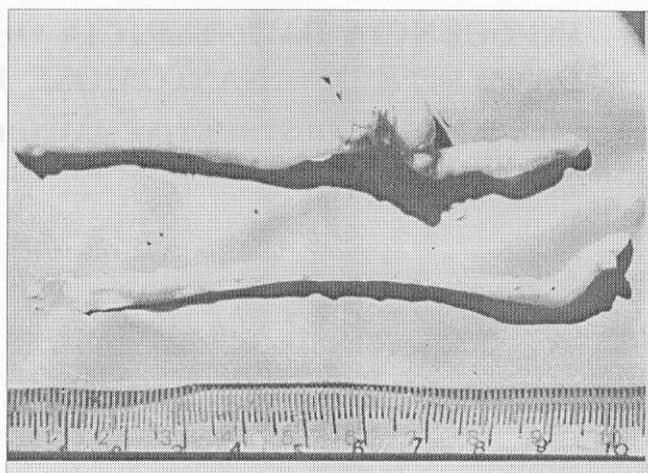


Figura 1 – Segmentos jejunais de aproximadamente 10 cm, um íntegro e outro com anastomose em ratos icterícos ou não

A resistência das anastomoses jejunais foi avaliada de acordo com o seguinte procedimento: a extremidade aboral do segmento jejunal retirado foi amarrada com fio de seda 2-0, sendo que uma cânula de 2 cm foi introduzida no orifício oral e conectada a um sistema de três vias, semelhante ao utilizado para a medida da pressão venosa central em doentes. O terceiro catéter desse sistema foi fixado a uma régua milimetrada medindo 250 cm. Através de uma das vias foi injetada solução salina a 0,9%, lentamente, até a ruptura do segmento intestinal, a uma pressão quantificada pela régua.<sup>16</sup>

O estudo histológico dos segmentos intestinais contendo a anastomose foi realizado sob coloração com hematoxilina e eosina (HE) e tricrômico de Gomori. Mediante-se, com ocular micrométrica, a espessura da neoformação fibrosa, em três regiões diferentes: local da sutura, próximo à borda proximal e próximo à borda distal.

A resistência da pele foi medida através do seguinte procedimento: retirou-se um segmento de 4 cm de comprimento e 1 cm de largura, contendo a sutura realizada da região ventral do animal. Esse segmento foi preso em suas extremidades com duas pinças. Uma das extremidades permaneceu suspensa, conectada pela pinça, e a outra foi fixada a um prato de balança. Dentro desse prato foram colocados pesos progressivamente maiores até a ruptura do segmento da pele. Este peso, à ruptura, representou a força tênsil da pele, conforme mostrado na figura 2.

Optou-se, neste estudo, pela avaliação da cicatriz da pele e da anastomose intestinal, tendo em vista serem estas situações freqüentemente encontradas na prática clínica, em pacientes com icterícia obstrutiva.

Os resultados quantitativos foram comparados pelo teste t de Student e os qualitativos pelo teste qui-quadrado. As diferenças foram consideradas significativas quando seus valores foram maiores do que os correspondentes a  $p=0,05$ , respeitando um limite de confiança de 95% de Cornfield.

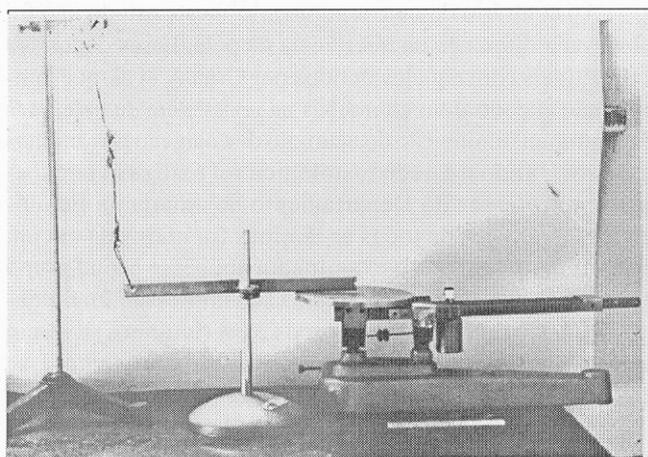


Figura 2 – Sistema de balança utilizado para medir a resistência da pele. O peso da ruptura representou a força tênsil da pele

## RESULTADOS

Todos os animais apresentaram boa evolução pós-operatória. Naqueles com ligadura do ducto biliopancreático, verificou-se, à segunda cirurgia, dilatação ductal proximal, com sinais de colestase hepática e icterícia. As anastomoses estavam pérvias, com aderências exuberantes ao omento e a alças vizinhas, sem sinais de fístula.

Os animais dos grupos 1 e 2 (controle) mantiveram o mesmo peso corporal durante todo o período de acompanhamento, enquanto os ratos com icterícia obstrutiva apresentaram uma queda ponderal média de 9%, sendo essa diferença significativa nos primeiros sete dias (Tabela 1).

Não houve diferença na resistência da sutura de pele entre os ratos icterícos e não-icterícos (Tabela 2).

A comparação entre as resistências das suturas entéricas com os segmentos íntegros indicou que as anastomoses do grupo 1 e do grupo 4 romperam a níveis inferiores ( $p < 0,01$ ). Já nos grupos 2 e 3, não houve diferenças entre as pressões

Tabela 1  
Variação ponderal (g) em ratos com e sem ligadura do ducto biliopancreático

Grupo	Pré-operatório	Fim do estudo
1	210,7 ± 9,5	221,7 ± 12,2
2	210,5 ± 22,7	221,7 ± 21,5
3	184,9 ± 27,4	164,0 ± 19,6*
4	179,3 ± 21,1	168,2 ± 14,1

(\*)  $p < 0,05$ .

Grupo 1: Anastomose jejunal e acompanhamento durante sete dias

Grupo 2: Anastomose jejunal e acompanhamento durante 14 dias.

Grupo 3: Ligadura ductal, anastomose jejunal e acompanhamento durante sete dias.

Grupo 4: Ligadura ductal, anastomose jejunal e acompanhamento durante 14 dias.

Tabela 2

Avaliação da resistência da cicatrização cutânea ( $g/cm^2$ ) em ratos com e sem ligadura do ducto biliopancreático

Grupo	Pele
1	513,9 ± 95,0
2	547,8 ± 82,9
3	484,3 ± 73,9
4	525,0 ± 54,7

Grupo 1: Anastomose jejunal e acompanhamento durante sete dias.

Grupo 2: Anastomose jejunal e acompanhamento durante 14 dias

Grupo 3: Ligadura ductal, anastomose jejunal e acompanhamento durante sete dias.

Grupo 4: Ligadura ductal, anastomose jejunal e acompanhamento durante 14 dias.

Tabela 3

Avaliação dos níveis pressóricos de ruptura (mmHg) do jejuno íntegro e anastomosado nos ratos com e sem ligadura do ducto biliopancreático

Grupo	Anastomose jejunal	Jejuno íntegro
1	58,0 ± 15,6*	78,7 ± 9,9
2	85,0 ± 21,3	94,2 ± 21,4
3	58,2 ± 19,1	52,3 ± 32,4 <sup>⊗</sup>
4	52,7 ± 20,8* <sup>⊗</sup>	77,7 ± 11,5

(\*) Redução significativa, comparando com o segmento íntegro ( $p < 0,01$ ).

(<sup>⊗</sup>) Redução significativa quando comparado ao grupo controle ( $p < 0,01$ ).

Grupo 1: Anastomose jejunal e acompanhamento durante sete dias.

Grupo 2: Anastomose jejunal e acompanhamento durante 14 dias.

Grupo 3: Ligadura ductal, anastomose jejunal e acompanhamento durante sete dias.

Grupo 4: Ligadura ductal, anastomose jejunal e acompanhamento durante 14 dias.

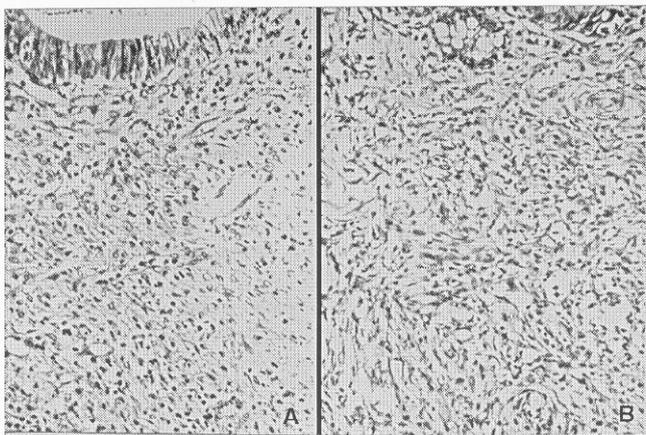
de ruptura das anastomoses e dos segmentos íntegros (Tabela 3). Quando se analisam as variações dos níveis pressóricos de ruptura da anastomose jejunal entre si, ocorre uma redução nos animais do grupo 4 ( $p < 0,01$ ). Logo, parece que a icterícia prolongada (14 dias) diminuiu a resistência da anastomose. Já no segmento íntegro, a icterícia reduziu a pressão de ruptura nos animais do grupo 3 ( $p < 0,01$ ).

O exame histológico revelou nos icterícos, estudados no sétimo dia, tecido de granulação constituído predominantemente por fibroblastos jovens, células mononucleares e polimorfonucleares, além de formação neovascular (Figura 3A).

Nos animais icterícos, acompanhados por 14 dias, observou-se proliferação fibrosa mais conspícua, permeada por fibras colágenas espessas. Portanto, houve redução da espessura da fibrose anastomótica nos ratos icterícos (Figura 3B).

## DISCUSSÃO

A queda ponderal nos ratos icterícos pode ter decorrido da redução na ingestão de alimentos, por inapetência provocada



**Figura 3-A** – Aspecto microscópico do processo cicatricial, na região da anastomose jejunal. No sétimo dia de icterícia, observa-se tecido de granulação com fibroblastos jovens, células mononucleares e polimorfonucleares, além de neoformação vascular. **B** – Após 14 dias, evidenciando-se proliferação fibrosa mais conspícua, permeada por fibras colágenas espessas, com menor fibrose anastomótica. (Hematoxilina e Eosina, 200x)

pela colestase hepática. Apesar de não ter sido objetivo deste estudo, não se pode excluir a importância da proteinemia, dos níveis de hemoglobina e da função hepática, como parâmetros associados à má cicatrização, particularmente nos animais ictericos (sete dias), cuja perda de peso foi significativa. Dados estes também verificados por Holman.<sup>19</sup>

Irvin,<sup>13</sup> avaliando 329 pacientes, 48 ictericos e 281 não-ictericos, observou maior incidência de deiscência de sutura e hérnia incisional nos ictericos (27,1%), quando comparados aos não-ictericos (4,3%) ( $p < 0,001$ ). Tais complicações parecem ocorrer proporcionalmente ao nível de bilirrubina sérica e, exclusivamente, quando a icterícia está associada a doença neoplásica maligna. Não observou alterações como desnutrição e doenças hepáticas.

Segundo Taube (citado por Biondo-Simões),<sup>14</sup> a adição de bilirrubina à cultura de fibroblastos causa alterações morfológicas nos fibroblastos e diminui significativamente o ritmo de multiplicação. Askew et al observaram que não existe alteração na concentração da hidroxiprolina nos ictericos.<sup>8</sup> Já Grande et al e Than et al encontraram diminuição da hidroxiprolina e da prolil-hidroxilase nas feridas de pele de ictericos. Desde que a hidroxilação da prolina faz-se necessária para a estabilidade física e tênsil da molécula de colágeno, estas observações podem ser importantes, pois a síntese e a estabilidade do colágeno são essenciais para a cicatrização.<sup>3,6,8,10</sup>

Em relação ao taurocolato de sódio (sais biliares), quando administrado no pré-operatório, promove aumento na resistência da pele nos ratos ictericos.<sup>8</sup>

A icterícia por sete dias parece influenciar negativamente também sobre o tecido íntegro jejunal, conforme os dados aqui apresentados.

Ao contrário de outros autores,<sup>1,5,9</sup> neste estudo não foi observada diferença na resistência da pele. Esses dados são compatíveis com aqueles obtidos por Greany et al, que também não encontraram alterações na resistência da pele, mas encontraram diminuição do acúmulo de colágeno nos animais ictericos.<sup>15</sup> Todo o estudo histológico foi realizado por apenas um professor do Departamento de Anatomia Patológica. A avaliação de todas as lâminas foi realizada em um único tempo, sem que o examinador soubesse a qual grupo pertencia cada lâmina. Ao final, a sua impressão foi nitidamente no sentido de que os grupos 3 e 4 (ictericos) tiveram uma espessura da fibrose cicatricial menor. Entretanto, esse dado qualitativo não foi quantificado.

A obstrução biliar extra-hepática leva à colestase e ao aumento do conteúdo intracelular de bilirrubina. Com isso, ocorre aumento dos níveis de bilirrubina e de sais biliares que se acompanham de lesão hepatocelular, com conseqüente alteração da síntese protéica, do metabolismo de aminoácidos, carboidratos e lípidios, além da diminuição do fluxo portal e isquemia funcional.<sup>4,10,11,16</sup>

Embora a vida média da albumina seja relativamente longa (20 a 26 dias), alterações em sua concentração podem ser encontradas, tardiamente, nos ictericos.<sup>4,11</sup> Outro aspecto refere-se ao sistema de coagulação, no qual são afetados o fibrinogênio, a protrombina e os fatores V, VII, IX e X, especialmente, devido à má absorção das vitaminas A, D e K, pela ausência de sais biliares.<sup>10,11,14</sup> Logo, teremos menos fibrinogênio e menos trombina para polimerizá-lo à fibrina.

A dificuldade na formação de fibrina talvez possa explicar o atraso na chegada de fibroblastos à cicatriz. Assim, pode-se esperar interferência no início da fase inflamatória do processo de cicatrização, fazendo com que esta se prolongue e, conseqüentemente, retarde todo o processo. Isto poderia, eventualmente, explicar o atraso da angiogênese e da fibroplasia.<sup>14</sup> Além disso, a colestase parece bloquear os mecanismos de imunidade celular não específica, ocasionando diminuição da função fagocitária e da atividade dos linfócitos.<sup>9,11,19-24</sup> Isto poderia facilitar a chegada de microorganismos, levando à colangite e à bacteremia, contribuindo assim para explicar a alta incidência de fenômenos sépticos nos ictericos.<sup>4,6,10,14,20,21</sup>

É curioso o fato de apesar de ainda haver controvérsias na relação entre a hiperbilirrubinemia e a cicatrização, após o início da década de 90, as publicações sobre o assunto sofreram uma redução importante.

Conclui-se que a icterícia obstrutiva está relacionada à perda ponderal, ao retardo no desenvolvimento da fibrose cicatricial e reduz a resistência anastomótica jejunal, a médio prazo, embora não esteja claro se isso ocorre devido ao efeito direto da hiperbilirrubinemia, ou a fatores associados, ou ambos. Portanto, novas investigações fazem-se pertinentes, visando elucidar tais questões.

## ABSTRACT

*Obstructive jaundice may influence skin and small bowel healing. The effects of obstructive jaundice on skin suture and jejunal anastomoses were assessed on 32 rats, divided into four groups (n=8). The animals were sacrificed at postoperative days seven and 14 days. All animals underwent to laparotomy and jejunal anastomoses. The rats of groups 3 and 4 were also submitted to biliopancreatic duct ligation. The jaundiced rats showed a significant weight loss, in seven days after surgery ( $p<0,05$ ). The resistance of jejunal anastomosis decreased after 14 days of jaundice ( $p<0,01$ ). However, this condition did not interfere with the skin healing. Histological study showed reduced amount of fibrosis surrounding the anastomoses of the jaundiced rats. The results of the present study suggest that obstructive jaundice interfere negatively with the healing of jejunal anastomoses. However, other factors related to jaundice must be considered as well.*

**Key Words:** *Obstructive jaundice; Jejunal anastomoses; Weight; Wound healing; Resistance; Histology.*

## REFERÊNCIAS

1. Ellis H: Wound healing – *Ann Roy Coll Surg* 1977;59:382-7.
2. Armstrong CP, Dixon JM, Duffy SM, et al – Wound healing in obstructive jaundice. *Br J Surg* 1984;71:267-70
3. Hunt TK – The physiology of wound healing: *Ann Emerg Med* 1988; 17:1.265-73.
4. Delemarre JB, Van de Velde CJ, de Brauw LM, et al – Internal biliary drainage, parenteral nutrition, and variation in the total parenteral nutrition feeding solution. *J Parenter Enterol Nutr* 1990;14: 629-33.
5. Arnaud JP, Humbert W, Eloy MR, et al – Effect of obstructive jaundice on wound healing. *Am J Surg* 1981;141:593-6.
6. Grande L, Garcia-Valdecasas JC, Fuster J, et al – Obstructive jaundice and wound healing. *Br J Surg* 1990;77:440-2.
7. Than T, Evans HS, Ryan CJ, et al – Rupture strength of skin wounds in jaundice rats. *Br J Exp Pathol* 1979;60:107-10.
8. Askew AR, Bates GJ, Balderson, et al – Jaundice and the effect of sodium taurocholate taken orally upon abdominal wound healing. *Surg Gynecol Obstetr* 1984;159:207-209.
9. Lee E – The effect of obstructive jaundice on the migration of reticulo-endothelial cells and fibroblasts into early experimental granulomata. *Br J Surg* 1972;59:875-7.
10. Kurzer A – Aspectos clínicos de la cicatrización. *Cirurgia* 1987;11: 103-7.
11. O'Connor MJ – Mechanical biliary obstruction. *Am Surgeon* 1985; 51: 245-251.
12. Ihász M, Radnai A, Szalay F, et al – Early complications of gastric resection. *Acta Chirurg Hungar* 1991;32:183-196.
13. Irvin TT, Vassilakis JS, Chattopadhyay DK, et al – Abdominal wound healing in jaundice patients. *Br J Surg* 1978;65:521-2.
14. Biondo-Simões MLP – O processo de cicatrização na icterícia obstrutiva. *Medicina (Ribeirão Preto)* 1997;30:192-97.
15. Greaney MG, Van Noort R, Smythe A, et al – Does obstructive jaundice adversely affect wound healing? *Br J Surg* 1979;66: 478-81.
16. Bayer I, Ellis H – Jaundice and wound healing. *Br J Surg* 1976;63: 392-6.
17. Arnaud JP, Bruant P, Adloff M – L'ictère rétionnel modifie t-il les processus de cicatrization? *J Chir (Paris)* 1981;118:513-16.
18. Arantes VN, Okawa RY, Silva AA, et al – Efeito da metilprednisolona sobre a tensão anastomótica jejunal. *Arq Gastroenterol* 1994; 31: 97-102.
19. Holman JM, Rikkers LF – Biliary obstruction and host defense failure. *J Surg Res* 1982;32:208-13.
20. Rola-Pleszcynski M, Hensen SA, Vincent MM, et al – Inhibitory effects of bilirubin on cellular immune responses in man. *J Pediatric* 1975; 86:690-6.
21. Freduccia TD, Scott-Conner CEH, Grogan JB – Profound suppression of lymphocyte function in early biliary obstruction. *Am J Med Sci* 1988; 296:39-44.
22. Rougheen BT, Drath DB, Kulkarni AD, et al – Impaired non-specific cellular immunity in experimental cholestasis. *Ann Surg* 1987; 206:578-82.
23. Vane DW, Redlich P, Weber T, et al – Impaired immune function in obstructive jaundice. *J Surg Res* 1988;45:287-93.
24. Frase IA, Krakowka S, Ringler S, et al – Lymphocyte function in obstructive jaundice. *Br J Surg* 1989;157:405-9.

## ENDEREÇO PARA CORRESPONDÊNCIA

Dr. Walter José Fagundes-Pereyra  
Rua Nossa Senhora da Conceição, 402  
31130-240 – Belo Horizonte – MG