

Efeito do ácido ascórbico e da hidrocortisona na cicatrização anastomótica intestinal

Effect of ascorbic acid and hydrocortisone on intestinal anastomotic tension

ANDY PETROIANU, TCBC-MG¹; LUIZ RONALDO ALBERTI, ACBC-MG²; SORAYA DINIZ E SOUZA³; SILMAR GREY MARTINS³

R E S U M O

Objetivo: Comparar a resistência cicatricial de anastomoses jejunais em ratos, submetidos à administração de vitamina C e de hidrocortisona, em distintos períodos pós-operatórios. **Métodos:** Foram estudados 40 ratos Wistar, submetidos à secção e subsequente anastomose término-terminal de segmento jejunal, a 10 cm da flexura duodenojejunal. Os animais foram distribuídos em quatro grupos (n=10): Grupo I - controle; Grupo II - administração de vitamina C oral 100 mg/kg; Grupo III - administração de hidrocortisona intraperitoneal 10 mg/kg; Grupo IV - administração de vitamina C mais hidrocortisona nas doses e vias de administração acima. Avaliaram-se as pressões de ruptura anastomótica no 5º e 21º dias do pós-operatório. **Resultados:** Os ratos que receberam vitamina C isolada ou associada a hidrocortisona tenderam a ter pressão de ruptura maior do que os demais grupos, tanto no 5º quanto no 21º dia pós-operatório. **Conclusão:** A vitamina C contribui para aumentar a resistência das anastomoses jejunais dos ratos durante os primeiros cinco dias do pós-operatório. A resistência das anastomoses jejunais murinas foi pouco influenciada pela administração de corticóide intraperitoneal.

Descritores: Cicatrização. Ácido Ascórbico, Hidrocortisona.

INTRODUÇÃO

Deiscência de anastomose e fístula ocorrem em 5% a 10% dos pacientes submetidos à anastomoses intestinais ⁽¹⁾. Na presença de fístulas, a duração da hospitalização pode duplicar e a mortalidade pós-operatória triplicar ⁽²⁾. Cerca de 20% a 80% de todas as mortes pós-operatórias podem ser atribuídas à fístulas anastomóticas e suas consequências, que incluem abscesso, peritonite e sepse ^(1,2).

A cicatrização baseia-se em complexa sequência de eventos que vai do trauma inicial à reparação do tecido lesado ⁽³⁾. De especial interesse no processo de cicatrização estão os fibroblastos, que são a maior fonte da matriz protéica envolvida na cicatrização tissular. Essas células sintetizam a molécula básica da fibra de colágeno e a libera no espaço extracelular por processo complexo de polimerização. Durante a síntese do colágeno, a prolina é incorporada à cadeia polipeptídica inicial e sofre a ação da peptidilprolina-hidroxilase e do oxigênio molecular, para transformar-se em hidroxiprolina ⁽³⁾. A lisina é incorporada e hidroxilada de forma semelhante. A polimerização do colágeno requer a remoção dos peptídeos terminais e a condensação das lisinas. Suspeita-se que o lactato resultante da hipoxia tissular e o produzido pelos macrófagos estimule o início da produção de colágeno. É importante salientar que a síntese e a deposição de colágeno ocorre paralelamente à neoformação vascular ⁽³⁾.

O ácido ascórbico atua como doador de elétrons para o processo de hidroxilação da prolina, durante a síntese do colágeno, fato esse que leva a suspeitar da sua demanda aumentada nos processos de reparação tecidual ⁽⁴⁾.

Estudos recentes mostraram diversas funções do ácido ascórbico, além daquelas já descritas nos processos de cicatrização de feridas. Atuando como antioxidante, esse ácido é capaz de captar o oxigênio livre decorrente do metabolismo celular, impedindo sua ligação a radicais livres, fenômeno que causaria dano celular ⁽⁵⁾. É provável que o ácido ascórbico também esteja envolvido na manutenção da integridade intracelular, em respostas imunológicas, nas reações alérgicas e na absorção de ferro não hémico ⁽⁵⁾.

De acordo com estudos recentes, o intestino circunvizinho que participa da reação à lesão de uma anastomose jejunal perde grande parte de seu colágeno por lise, reduzindo assim a sua resistência ^(3,6). Esses dados sugerem importante papel da vitamina C sobre o processo de cicatrização. Todavia, a sua administração suplementar com o intuito de melhorar os processos cicatriciais é ainda debatida.

Por outro lado, os efeitos dos corticosteróides sobre a cicatrização de feridas continuam contraditórios. Eles têm sido responsabilizados por deiscências de feridas operatórias, fístulas e retardo na cicatrização anastomótica. Atuando como antiinflamatório, eles levariam à diminuição dos mediadores responsáveis pela proliferação de fibroblastos, reduzindo assim a produção de colágeno ⁽⁷⁾.

Trabalho realizado no Departamento de Cirurgia, Faculdade de Medicina. Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, MG, Brasil.
1. Professor Titular do Departamento de Cirurgia da Faculdade de Medicina – Universidade Federal de Minas Gerais – UFMG; 2. Professor Adjunto do Departamento de Cirurgia da UFMG; 3. Médico.

Dentro de uma linha de pesquisa⁽⁸⁻¹⁰⁾, o objetivo do presente trabalho foi avaliar o efeito do ácido ascórbico e da hidrocortisona sobre a cicatrização anastomótica intestinal de ratos em distintos períodos do pós-operatório.

MÉTODOS

Este trabalho experimental foi realizado de acordo com as recomendações das Normas Internacionais de Proteção aos Animais e da Declaração de Helsinki, tendo sido aprovado pelo Comitê de Ética em Experimentação Animal da Universidade Federal de Minas Gerais.

Foram estudados 40 ratos machos albinos da raça Wistar, pesando entre 200 e 250 gramas. Os animais, provenientes do Biotério Central da Escola de Veterinária da UFMG, foram mantidos em gaiolas com cinco animais, onde receberam ração para ratos e água à vontade. Eles permaneceram em adaptação e observação do estado de saúde por 20 dias. Realizou-se exame minucioso em cada animal a fim de garantir a ausência de sinais de doença.

Os ratos foram anestesiados com injeção intramuscular na região glútea de cloridrato de quetamina a 5%, na dose de 35 mg/kg (0,7 ml/kg) associado a cloridrato de xilazina a 2%, na dose de 6 mg/kg (0,3 ml/kg) e a maleato de acepromazina a 1%, na dose de 2 mg/kg (0,2 mL/kg). Quando necessário, foi aplicada adicionalmente metade da dose inicial dos anestésicos. Em seguida, foi realizada laparotomia mediana (3 cm de extensão). Identificado o segmento jejunal a 10 cm da flexura duodenojejunal, foi realizada sua secção. Confeccionou-se a anastomose jejunal término-terminal com pontos separados de categute vicryl 4-0. A parede abdominal foi fechada em dois planos com fio de polipropileno 3-0. Os ratos recuperaram-se espontaneamente da anestesia.

Os animais operados foram distribuídos aleatoriamente em 4 grupos (n=10): Grupo I, controle, animais submetidos apenas à laparotomia; Grupo II, anastomose jejunal e administração oral de vitamina C na dose de 100 mg/kg/dia; Grupo III, anastomose jejunal e administração intraperitoneal de hidrocortisona na dose de 10 mg/kg/dia; Grupo IV, anastomose jejunal e administração de vitamina C oral (100 mg/kg/dia) e hidrocortisona intraperitoneal (10 mg/kg/dia).

Tanto a vitamina C quanto a hidrocortisona foram iniciadas três dias antes da operação e mantidas durante todo o período de acompanhamento pós-operatório.

Os animais foram avaliados diariamente. A vitamina C foi acrescentada à água oferecida aos animais, de acordo com resultado do projeto-piloto que determinou a quantidade média de água que os ratos ingeriam por dia (80 mL). Os frascos com água e vitamina C foram envolvidos com papel alumínio para evitar a ação da luz sobre a vitamina C. Os animais receberam água e ração para ratos à vontade. Os animais foram acompanhados diariamente, receberam o mesmo tipo e quantidade nutricional e permaneceram alojados em gaiolas com número de animais idêntico (n = 5).

Cada grupo de ratos foi subdividido em dois subgrupos (n=5) para estudo no 5º e no 21º dias do pós-operatório. Nesses períodos, avaliaram-se as pressões de ruptura anastomótica por meio de um tensiômetro de mercúrio de três vias.

Decorrido o tempo de acompanhamento, a morte dos animais foi induzida com dose letal inalatória de éter após anestesia geral com cloridrato de quetamina e cloridrato de xilazina nas mesmas doses anteriormente utilizadas.

Após desfazerem-se as aderências abdominais, com cuidado, foi retirado um segmento jejunal medindo 10 cm, tendo a anastomose em sua parte média. A parte distal desse segmento foi amarrada com fio de seda 2-0 e a parte proximal conectada a um tensiômetro eletrônico que mediu a tensão de ruptura do segmento intestinal.

Além disso, os seguintes parâmetros foram avaliados: variação ponderal ocorrida durante o período de acompanhamento dos animais; presença de complicações pós-operatórias gerais e da anastomose; avaliação histológica do tecido cicatricial.

Os estudos histológicos foram conduzidos em preparações coradas por hematoxilina-eosina e por tricrômico de Gomori. Mediu-se a espessura da neoformação fibrosa cicatricial, em três regiões diferentes (próximo à extremidade cranial, na parte média e próximo à borda caudal)

Os ratos foram pesados no início do experimento e imediatamente após a sua morte.

Foram utilizados os testes *one-way* ANOVA seguido pelo teste de Tukey-Kramer para comparar os pesos e a tensão de ruptura entre os grupos. As diferenças foram consideradas significativas para valores correspondentes a $p < 0,05$.

RESULTADOS

Os animais evoluíram satisfatoriamente. O retorno do trânsito digestório foi confirmado desde o primeiro dia do pós-operatório, pela presença de fezes nas gaiolas. Nenhuma deiscência anastomótica foi observada.

A tabela 1 mostra a variação ponderal dos animais nos diferentes períodos do pós-operatório. Observou-se que houve aumento de peso progressivo no decorrer do período de acompanhamento sem diferença entre os grupos ($p = 0,23$).

A tabela 2 mostra os valores pressóricos médios da ruptura anastomótica no 5º e no 21º dias do pós-operatório. Observou-se que não houve diferenças entre as pressões encontradas nos grupos, apesar de a vitamina C influenciar favoravelmente a resistência dos grupos II e IV. A falta de diferença estatística pode ser devida ao pequeno número de animais em cada grupo.

Como era de se esperar, a resistência após 21 dias foi maior do que a encontrada após cinco dias nos grupos controle e submetido apenas a hidrocortisona (grupos I e III). Já em presença de vitamina C (grupos II e IV) a resistência anastomótica aos cinco dias aproximou-se daquela registrada após 21 dias.

Tabela 1 - Variação ponderal (média \pm desvio padrão da média) de ratos nos 5° e 21° dias do pós-operatório.

GRUPOS	VARIACÃO PONDERAL (g) *		
	Inicial	5° dia	21° dia
Grupo 1	223,4 \pm 15,1	228,1 \pm 9,7	247,6 \pm 15,3
Grupo 2	219,6 \pm 11,3	229,3 \pm 12,8	252,2 \pm 13,1
Grupo 3	226,8 \pm 17,6	232,7 \pm 9,8	245,9 \pm 11,1
Grupo 4	217,4 \pm 13,9	228,1 \pm 17,5	258,3 \pm 15,4

· Grupo I: controle, animais submetidos apenas a laparotomia.

· Grupo II: anastomose jejunal e administração oral de vitamina C na dose de 100 mg/kg/dia.

· Grupo III: anastomose jejunal e administração intraperitoneal de hidrocortisona na dose de 10 mg/kg/dia.

· Grupo IV: anastomose jejunal e administração de vitamina C oral (100 mg/kg/dia) e hidrocortisona intraperitoneal (10 mg/kg/dia).

* $p = 0,23$ (One way ANOVA e teste de comparação múltipla de Tukey-Kramer).

Tabela 2 - Pressão média (cm/Hg) de ruptura anastomótica de jejuno murino.

Grupos	Dia Pós-Operatório	
	5°	21°
I	14,0 \pm 6,3 *	24,0 \pm 4,0
II	18,9 \pm 5,1	18,4 \pm 6,5
III	16,8 \pm 5,6 *	23,2 \pm 3,9
IV	22,6 \pm 8,2	22,7 \pm 6,8

Notas: * Pressão menor do que a registrada no mesmo grupo após 21 dias ($P < 0,05$)

· Grupo I: controle, animais submetidos apenas a laparotomia.

· Grupo II: anastomose jejunal e administração oral de vitamina C na dose de 100 mg/kg/dia.

· Grupo III: anastomose jejunal e administração intraperitoneal de hidrocortisona na dose de 10 mg/kg/dia.

· Grupo IV: anastomose jejunal e administração de vitamina C oral (100 mg/kg/dia) e hidrocortisona intraperitoneal (10 mg/kg/dia).

Por outro lado, a administração de corticóide isolado (Grupo III), acompanhou-se de menor resistência anastomótica do que os grupos II e IV, nos quais houve a administração de vitamina C.

Ao estudo macroscópico da cicatrização no 5° dia pós-operatório, observou-se, no Grupo III, área cicatricial mais frouxa. Já nos demais grupos, a cicatrização era mais firme. Não houve infecção ou outras anomalias cicatriciais.

Na avaliação histológica, verificou-se, no 5° dia do pós-operatório, nos Grupos II e IV, aumento na quantidade de fibras colágenas, presença de infiltrado inflamatório constituído por polimorfonucleares, plasmócitos, linfócitos e macrófagos, além de congestão vascular. No Grupo III, ainda no 5° dia, notou-se padrão morfológico mais heterogêneo, com reação inflamatória além de menor número de fibroblastos e feixes de colágeno. No 21° dia do pós-operatório, em todos os grupos, constatou-se padrão morfológico mais homogêneo em relação à primeira semana, com melhor arranjo de fibroblastos entremeados por fibras colágenas mais firmes e ordenadas. Não houve diferença entre os animais que receberam e os que não receberam hidrocortisona. Já no 21° dia do pós-operatório, os feixes de colágeno se encontravam mais espessos em comparação às duas semanas iniciais, apresentando distribuição mais ordenada e paralela entre si, sem diferença entre os aspectos dos quatro grupos avaliados.

DISCUSSÃO

Fatores que afetam a cicatrização anastomótica vêm sendo pesquisados continuamente^(1,2,4-7). Entretanto, resultados de estudos experimentais que investigam a cicatrização em anastomoses intestinais apresentam resultados conflitantes^(6,7,11,12). Embora existam estudos com corticosteróides e outras substâncias para avaliar sua influência em fenômenos cicatriciais, pouco se pesquisou sobre o ácido ascórbico⁽¹³⁻¹⁵⁾.

No presente trabalho, as doses de ácido ascórbico e de hidrocortisona foram escolhidas com base em trabalhos anteriores, que verificaram ser essas as concentrações mínimas capazes de afetar a cicatrização de feridas e passíveis de uso em seres humanos sem levar a efeitos tóxicos⁽¹⁴⁻¹⁶⁾. O uso do fármaco desde três dias antes do ato cirúrgico e mantido até o dia em que os animais foram mortos, seguiu orientações da literatura e teve o objetivo de assegurar e seu efeito farmacológico desde o início das reações tissulares ao trauma⁽¹⁶⁾.

Os resultados obtidos no presente trabalho sugerem que a vitamina C contribui positivamente para as fases iniciais dos processos cicatriciais. De acordo com estudo piloto deste trabalho, a resistência cicatricial antes do 5° dia é ainda muito tênue, o que dificulta sua mensuração e a análise do efeito do ácido ascórbico. Mesmo assim, observou-se que nos grupos tratados com a vitamina C, a tensão foi maior em relação ao Grupo Controle. Entretanto, estes dados não permitem explicar a fisiopatologia desses achados.

Um outro aspecto que merece consideração é o fato de a administração de hidrocortisona em presença de vitamina C não ter reduzido a resistência da anastomose jejunal, assim como ocorreu quando o corticóide foi administrado isoladamente. No entanto, são necessárias mais pesquisas antes de se compreender melhor esse fenômeno.

Investigações em anastomoses entéricas em vários animais mostraram mudanças acentuadas nas concentrações de colágeno, ocorrendo principalmente na primeira semana pós-operatória. Levando-se em conta que a maior parte das complicações (deiscências, fístulas) ocorrem no período pós-operatório imediato e sendo o colágeno de

fundamental importância na manutenção de tensão na parede intestinal, julga-se pertinente supor que a administração de vitamina C possa ser benéfica na clínica cirúrgica⁽¹⁷⁾.

Segundo Chowcat⁽¹⁸⁾, a colagenase é sintetizada sob demanda e controlada por um inibidor tecidual de metaloproteinase. A suplementação de vitamina C mesmo que não tenha influência sobre essas enzimas, oferece aporte maior de substrato, que poderia ser responsável por reações químicas indutoras de síntese de colágeno^(15,16).

A transposição dos achados experimentais para a clínica deve ser cautelosa. Apesar de alguns trabalhos evidenciarem efeito benéfico da vitamina C, outros mostram que mecanismos inflamatórios (células e mediadores químicos) são os responsáveis pela regulação da síntese de colágeno⁽¹⁹⁾.

Um outro fator de destaque, é a influência negativa de microorganismos capazes de produzir enzimas colagenolíticas, que ocasionariam o desequilíbrio entre a

síntese e a degradação de colágeno⁽¹⁹⁾. Isso sugere que além da técnica cirúrgica e dos cuidados perioperatórios, a administração suplementar de vitamina C possa ser benéfica no sentido de restabelecer o equilíbrio metabólico. Essa hipótese poderia contribuir para explicar em parte, os valores de tensão maiores encontrados nos grupos em que se administrou a vitamina C.

A vitamina C teve a tendência de contribuir para resistência maior das anastomoses jejunais de ratos durante os primeiros cinco dias do pós-operatório. Além disso, a resistência das anastomoses jejunais murinas foi pouco influenciada pela administração de corticóides por via intraperitoneal. Mesmo em presença de corticóides, a vitamina C elevou precocemente a resistência anastomótica até seus maiores níveis pós-operatórios.

Quanto à hidrocortisona, ela não foi responsável pelo decréscimo de valores pressóricos na tensão anastomótica tanto em curto prazo quanto em tempo mais prolongado.

A B S T R A C T

Objective: The effects of vitamin C and hydrocortisone on anastomotic healing process are controversial. The objective of the present paper was to compare the jejunal anastomotic tension in different postoperative periods. **Methods:** 40 male rats weighing 200 to 400 grams were submitted to laparotomy. The jejunum was transversally cut 10 cm from the duodenojejunal flexure, and subsequently anastomosed. The rats were divided into four groups (n=10). Group I - control, Group II - oral administration of vitamin C (100 mg/kg), Group III - intraperitoneal administration of hydrocortisone (10 mg/kg), and Group IV - administration of vitamin C and hydrocortisone at the above mentioned doses. The anastomotic resistance was determined by using bursting pressure test on the 5th and 21st postoperative days. **Results:** The resistances of the groups with vitamin C, isolated or associated to hydrocortisone trend to be higher in both postoperative periods. However, the administration of intraperitoneal steroid did not change the resistance of murine jejunal anastomosis. **Conclusion:** The results of the present study suggest that vitamin C enhances the resistance of jejunal anastomosis in the rat.

Key words: Healing, Ascorbic Acid, Hydrocortisone.

REFERÊNCIAS

- Lim SW, Lim SB, Park JY, Park SY, Choi HS, Jeong SY. Outcomes of colorectal anastomoses during pelvic exenteration for gynaecological malignancy. *Br J Surg.* 2008, 95: 770-3.
- De Nardi P, Panzeri F, Staudacher C. Prospective trial evaluating new circular and linear stapler devices for gastrointestinal anastomosis: preliminary data. *Tech Coloproctol.* 2008, 12: 69-72.
- Ehrlich HP. Wound closure: evidences of cooperation between fibroblasts and collagenous matrix in scar contractor. *Eye* 1988;2:149-50
- Qiao H, Bell J, Juliao S, Li L, May JM. Ascorbic Acid Uptake and Regulation of Type I Collagen Synthesis in Cultured Vascular Smooth Muscle Cells. *J Vasc Res.* 2008, 31: 15-24.
- Gupta AD, Dhundasi SA, Ambekar JG, Das KK. Effect of l-ascorbic acid on antioxidant defense system in testes of albino rats exposed to nickel sulfate. *J Basic Clin Physiol Pharmacol.* 2007, 18: 255-66.
- Cronin K, Jackson DS, Dumphy JE. Changing bursting strength and collagen content of the healing colon. *Surg Gynecol Obstet.* 1968;126:747-53.
- Jex RK, VanHeerden JA, Wolff BG. Gastrointestinal anastomosis: factors affecting early complications. *Ann Surg.* 1987, 206: 138-41.
- Arantes VN, Okawa RY, Pereyra WJF, Barbosa AJA, Petroianu A. A influência da icterícia obstrutiva na cicatrização da pele e de anastomose jejunal em ratos. *Rev Col Bras Cir.* 1999;26:269-73.
- Arantes VN, Okawa RY, Silva AA, Barbosa AA, Petroianu A. Efeito da metilprednisolona sobre a tensão anastomótica jejunal. *Arq Gastroenterol.* 1994;31:97-101.
- Melo MAB, Almeida LM, Barbosa AJA, Petroianu A. Cicatrização de anastomose colônica em ratos submetidos a diferentes preparos colônicos. *Rev Bras Colo-Proct.* 1996;16:19-22.
- Del-Rio JV, Beck DE, Opelka FG. Chronic perioperative steroids and colonic anastomotic healing in rats. *J Surg Res.* 1996;66:138-42.
- Barbul A. Immune aspects of wound repair. *Clin Plast Surg.* 1990;17:433-42.
- Taylor TV, Rimmer S, Day B, Butcher J, Dymock IW. Ascorbic acid supplementation in the treatment of pressure sores. *Lancet* 1974;2:544-6.
- Vaxman F. Can the wound healing process be improved by vitamin supplementation? *Eur Surg Res.* 1996;28:306-14.
- Vaxman F. Effect of pantothenic acid and ascorbic acid supplementation on human skin wound healing process. *Eur Surg Res.* 1995;3:158-66.
- Vaxman F. Improvement in the healing of colonic anastomoses by vitamin B-5 and C supplements. *Ann Chir.* 1990;44: 512-20.
- Lacroix B, Didier E, Grenier JF. Role of panthotenic and ascorbic acid on wound healing processes. *Int J Vitam Nutr Res.* 1988;58:407-13.
- Chowcat NL, Savage FJ, Hembry RM, Boulos PB. Role of collagenase in colonic anastomoses: a reappraisal. *Br J Surg.* 1988;75:330-3.

19. Robinson MC. Disturbances of wound healing. *Ann Emerg Med* 1988;17:1274-8.

Recebido em 27/11/2008

Aceito para publicação em 28/01/2009

Conflito de interesse: nenhum

Fonte de financiamento: nenhuma

Como citar este artigo:

Petroian A, Alberti LR, Souza SD, Martins SG. Efeito do ácido ascórbico e da hidrocortisona na cicatrização anastomótica intestinal. *Rev Col Bras Cir.* [periódico na Internet] 2009; 36(6). Disponível em URL: <http://www.scielo.br/rcbc>

Endereço para correspondência:

Prof. Andy Petroianu

E-mail: petroian@medicina.ufmg.br