

Efeito da Desnutrição na Cicatrização de Anastomoses Colônicas: Estudo Experimental em Ratos*

Effects of Malnutrition on Colonic Anastomosis Healing: An Experimental Study in Rats

MANUELA MOLINA FERREIRA¹; JEAN MARC SCIALOM¹; ANTÔNIO DORIVAL CAMPOS²; LEANDRA L. Z. RAMALHO³; JÚLIO SÉRGIO MARCHINI⁴; OMAR FÉRES⁵; JOSÉ JOAQUIM RIBEIRO DA ROCHA⁵

¹ Alunos de graduação da FMRP-USP-SP BRASIL; ² Professor Doutor do Departamento de Medicina Social da FMRP-USP SP BRASIL; ³ Professora Doutora do Departamento de Morfologia da FMRP-USP SP BRASIL; ⁴ Professor Associado do Departamento de Clínica Médica da FMRP-USP SP BRASIL; ⁵ Professores Doutores da Disciplina de Coloproctologia FMRP-USP SP BRASIL.

FERREIRA MM; SCIALOM JM; CAMPOS AD; RAMALHO LLZ; MARCHINI JS; FÉRES O; ROCHA JJR. Efeito da Desnutrição na Cicatrização de Anastomoses Colônicas: Estudo Experimental em Ratos. *Rev bras Coloproct*, 2006;26(3): 239-243.

RESUMO: A deiscência de anastomose é uma das mais graves complicações advindas de operações do tubo gastrointestinal. Algumas condições gerais podem prejudicar o processo de cicatrização, tais como: desnutrição e hipoalbuminemia. Este estudo experimental teve como objetivo avaliar a cicatrização de anastomoses colônicas na vigência de desnutrição protéico-calórica e hipoalbuminemia. Dividimos os animais em dois grupos, sendo um deles o controle e o outro desnutrido (ingestão diária de metade da ração do grupo controle por vinte dias). O peso corporal, a albumina sérica, a evolução clínica, a cavidade abdominal, os aspectos macro e microscópicos da anastomose, a esteatose hepática e a concentração tecidual de hidroxiprolina foram observadas em cada animal. Pudemos notar que o método utilizado para desnutrir os animais mostrou-se eficaz, uma vez que houve redução significativa do peso do grupo experimental. Observamos que o grupo desnutrido apresentou dados necroscópicos de pior prognóstico e mortalidade superior ao grupo controle. Concluímos que a desnutrição influencia negativamente na cicatrização de anastomoses colônicas e aumenta significativamente a mortalidade.

Descritores: desnutrição, anastomose colônica, cicatrização.

INTRODUÇÃO

A cirurgia do aparelho digestivo com anastomose é realizada no tratamento de diversas patologias. Dentre outras complicações, a deiscência de anastomose tem lugar de destaque no que se refere ao aumento da mortalidade de pacientes^{1,2,3}. Nas anastomoses colônicas, particularmente, a ocorrência de deiscência tem maior gravidade pela presença de

fezes na cavidade peritoneal, levando a peritonites críticas^{4,5}.

Existem vários estudos a respeito de condições que possam interferir na frequência da deiscência de anastomoses colônicas, como fatores inerentes à técnica cirúrgica, condições locais, uso de agentes farmacológicos e condições gerais do paciente⁶.

HALSTED, em 1887, afirmou que a submucosa é a camada intestinal mais importante a ser

Trabalho realizado no Departamento de Cirurgia e Anatomia da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo - São Paulo - Brasil.

* Trabalho realizado na Disciplina de Coloproctologia do Departamento de Cirurgia e Anatomia da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto - Universidade de São Paulo (FMRP-USP) - Brasil.

Recebido em 15/08/2006

Aceito para publicação em 18/09/2006

incluída na sutura. Este princípio continua aceito como verdadeiro 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 cicatricial⁷.

Certas condições gerais podem prejudicar o processo de cicatrização, tais como hipertensão arterial, hipovolemia, isquemia intestinal, baixa tensão de oxigênio, neoplasia maligna avançada, desidratação, uremia, desnutrição^{8,9,10,11,12,13,14}. Existem relatos de que a hipoalbuminemia e a desnutrição podem levar a uma diminuição na efetividade do processo cicatricial, o que leva a um aumento das deiscências de parede abdominal e das anastomoses colônicas¹⁶. No entanto, os trabalhos até agora realizados no sentido de pesquisar esse fato, foram feitos através da medida da pressão necessária para romper a cicatriz anastomótica^{17,18,19,20,21}.

Há situações em que é necessária a realização de cirurgia com anastomose de cólon em pacientes portadores de desnutrição e hipoalbuminemia. Isto acontece, por exemplo, em cirurgias de urgência quando não existe a possibilidade de correção de déficit nutricional. Este fato motivou-nos a realização do presente trabalho, para testar a influência da desnutrição e hipoalbuminemia na cicatrização de anastomoses colônicas.

OBJETIVO

O objetivo deste estudo experimental é avaliar a cicatrização de anastomoses colônicas em ratos, na vigência de desnutrição protéico-calórica e hipoalbuminemia.

MATERIAL E MÉTODOS

Utilizamos 46 ratos Wistar inicialmente hígidos, provindos do Biotério Central da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto-USP. Neste estudo, os animais foram separados em dois grupos experimentais, que foram avaliados ao término do estudo em função da anastomose colônica. 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.

· **Grupo I** (Grupo controle): avaliação da anastomose colônica em 15 ratos previamente hígidos, sem desnutrição.

· **Grupo II** (Desnutrição protéico-calórica): avaliação da anastomose colônica em 33 ratos previamente hígidos, com desnutrição protéico-calórica provocada por alimentação restrita à metade da ração normalmente ingerida pelos ratos.

Para conseguirmos a desnutrição do grupo em estudo, administramos metade da ração oferecida ao grupo controle durante 21 dias²². A ração utilizada foi de um mesmo lote de ração, usualmente utilizada pelo biotério (*Nuvital Nutrientes*, LTDA Colombo/PR®).

Delineamento Experimental

Grupo I (Controle):

1º dia: Pesagem e alimentação com ração à vontade durante 7 dias. Pesagem da quantidade de ração ingerida.

7º dia: Pesagem, realização de laparotomia mediana e secção segmentar de cólon; confecção de anastomose colônica término-terminal com sutura contínua com fio mononylon 6-0 e rafia da parede abdominal. Coleta de 2 ml de sangue para dosagem de albumina, coleta de material hepático para biópsia.

14º 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 (Desnutrição):

1º dia: Pesagem e alimentação com metade da ração ingerida pelo grupo controle, durante 21 dias.

21º dia: Pesagem, realização de laparotomia mediana e secção segmentar de cólon; confecção de anastomose colônica término-terminal com sutura contínua com fio mononylon 6-0 e rafia da parede abdominal. Coleta de 2 ml de sangue para dosagem de albumina, coleta de material hepático para biópsia.

28º 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 semelhante à do grupo I.

AVALIAÇÃO

Aspecto da cavidade abdominal e da anastomose colônica

Ao exame necroscópico do animal foram avaliados os achados na cavidade abdominal, tais como: sinais de peritonite, aderências, abscessos, deiscências anastomóticas.

Avaliação histopatológica

Cólon: Após o sacrifício do animal, a peça de necropsia retirada do cólon foi fixada em formol tamponado a 10% e coradas por hematoxilina-eosina e por tricrômio de Masson. A avaliação histopatológica foi feita analisando indicadores de cicatrização através de microscopia óptica.

Fígado: Após o sacrifício do animal, a peça de necropsia retirada do fígado foi fixada em formol tamponado a 10% e coradas por hematoxilina-eosina e por tricrômio de Masson. A avaliação histopatológica foi feita através da análise da porcentagem do parênquima hepático com esteatose, atribuindo um escore de 0 a 4. O escore 0, equivale em 0 a 5% do campo marcado, o escore 1, entre 5 e 25%, o escore 2, entre 25 e 50%, o escore 3, entre 50 e 75% e o escore 4, entre 75 e 100%. Foi determinado um escore médio para cada rato.

Estudo bioquímico

Foi realizada a dosagem de hidroxiprolina do segmento ressecado durante a necropsia, observando a retirada cuidadosa dos fios de sutura. O processo de extração de hidroxiprolina foi realizado segundo a proposta de Stegemann & Stalder²³ e modificada por Medugorac²⁴, suprimindo-se a fase de secagem em estufa a vácuo.

Análise Estatística

Utilizamos a análise de Ridits para os dados qualitativos. Também foi utilizado o teste de Mann-Whitney e o teste não paramétrico de Kruskal-Wallis, aproximado para grandes amostras, para comparações de mais de duas amostras independentes. Usamos um nível de significância menor que 5% ($p < 0,005$).

RESULTADOS

A evolução do peso dos animais dos grupos controle e desnutrido (fig. 1) indica diferença estatística

ca significativa ($p < 0,001$). Em relação à albumina e à presença de esteatose hepática não foi encontrada diferença. A mortalidade durante o processo de desnutrição foi de 15%. Já a mortalidade pós-operatória (fig. 2), no grupo controle foi de 6% e no grupo desnutrido de 53%, o que nos levou a aumentar o número de animais deste grupo, visando a uma amostra significativa para comparação. Na figura 3, observa-se que o grupo desnutrido apresentou maior quantidade de abscessos,

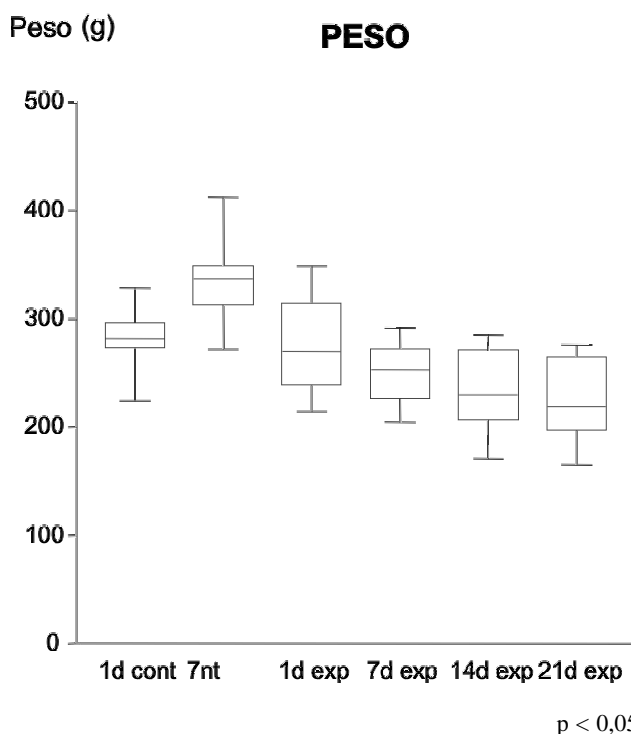


Figura 1 - Evolução do peso dos animais durante o experimento.

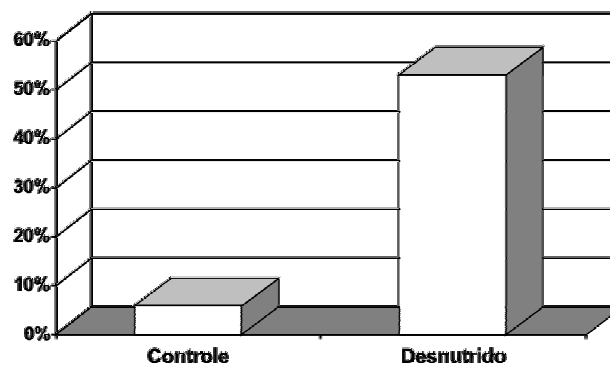


Figura 2 - Mortalidade comparando-se os animais do grupo controle e do desnutrido, observando-se diferença estatística entre os 2 grupos.

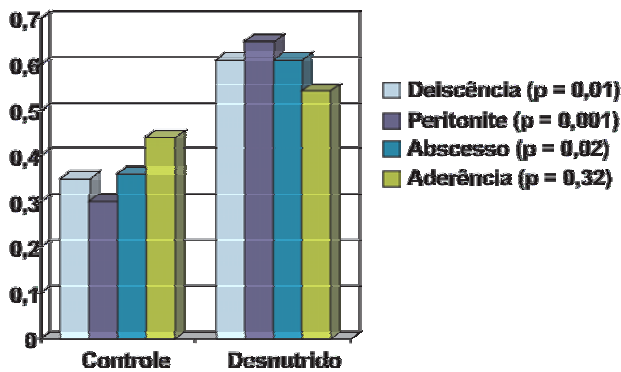


Figura 3 - Avaliação macroscópica da cavidade abdominal e da anastomose colônica.

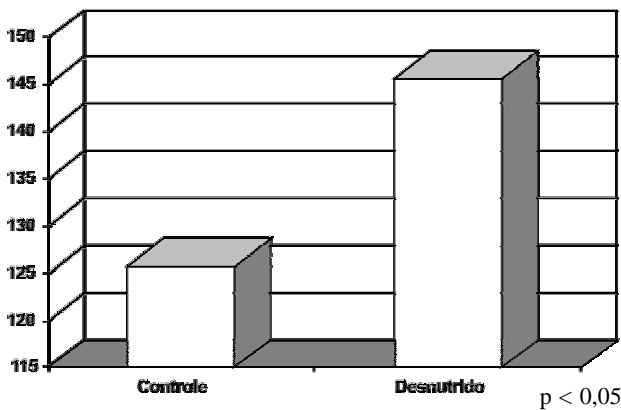


Figura 4 - Valores da hidroxiprolina nos dois grupos.

deiscências e peritonite, quando comparado ao grupo controle. Em relação à aderência, o grupo controle não diferiu estatisticamente do grupo desnutrido. A figura 4 mostra que, em relação à hidroxiprolina, não houve diferença estatística nos grupos estudados. Os dados histopatológicos (crosta fibrina-leucocitária, necrose focal, depósito 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) não apresentaram diferença estatística. O grupo desnutrido apresentou tendência maior ao edema, enquanto o grupo controle apresentou maior tendência à congestão vascular.

DISCUSSÃO

A deiscência de anastomose é uma complicação importante no pós-operatório de cirurgia do aparelho digestivo, aumentando a morbi-mortalidade de pacientes. Certas condições gerais podem prejudicar o processo de cicatrização, como o fator estudado: desnutrição protéico-calórica. O método utilizado para desnutrir os animais se mostrou eficaz, uma vez que houve redução significativa do peso do grupo experimental. Não foi encontrada diferença significativa em relação à albumina sérica e a presença de esteatose hepática, provavelmente devido ao curto período de desnutrição a que os animais foram submetidos, não havendo tempo hábil para mudança desses parâmetros. A mortalidade foi claramente maior no grupo, o que mostra o efeito deletério da desnutrição nesses animais. O maior número de deiscência, peritonite e abscessos encontrados neste grupo confirma esta afirmação. Em relação aos dados histopatológicos, o grupo desnutrido apresentou maior tendência ao edema e menor tendência à congestão vascular. Não foi encontrada diferença em relação aos outros parâmetros histopatológicos e nem em relação à hidroxiprolina, fato esse provavelmente devido à grande mortalidade do grupo desnutrido, ficando essa comparação prejudicada.

CONCLUSÃO

Podemos concluir que a desnutrição influencia negativamente na cicatrização de anastomoses colônicas e aumenta significativamente a mortalidade.

ABSTRACT: Dehiscence of colonic anastomosis is one of the most severe complications after gastrointestinal surgery. The intestinal anastomosis healing complication is associated to several factors like malnutrition and hypoalbuminemia. This is an experimental study that aimed to evaluate the colonic anastomosis healing in malnutrition and hypoalbuminemia conditions. Animals were separated in two experimental groups: control and submitted to malnutrition (daily food intake as half of the control group per 20 days). Body weight, clinical outcome, serum albumin, abdominal cavity aspects, gross and microscopic aspects of the anastomosis, hepatic steatosis and tissue hydroxyproline dosage were compared between groups. Our results show that malnutrition development was efficient since a significant loss of body weight was observed in the experimental group. The malnutrition group of rats presented pathologic data all suggestive of lower prognostic and higher mortality rate. In conclusion, malnutrition interferes with the normal colonic anastomosis healing and increases the mortality rate.

Key words: malnutrition, colonic anastomosis, healing.

REFERÊNCIAS

1. Bearhs, OH. Complications of colonic surgery. *Surg. Clin North Am* 1967;47:983-8.
2. Coligher JC. Anastomotic dehiscence after anterior resection of rectum and sigmoid. *Br J Surg* 1970; 57:109-18.
3. Debas HT, Thompson FB. A critical review of colectomy with anastomosis. *Surg Ginecol Obstet* 1972;135: 747-52.
4. Buchmiller-Crair TL. The effect of acute anemia on the healing of intestinal anastomoses in rabbit. *J Trauma* 2001; 21(2):363-8.
5. Koruda M.J, Rolandelli RH. Experimental studies on the healing of colonic anastomoses. *J Surg Res* 1990; 48(5): 504-15.
6. Hawley PR. Causes and prevention of colonic anastomosis breakdown. *Dis Colon Rectum* 1973; 16: 272-7.
7. Halsted WS. Circular suture of the intestine: an experiment study. *Am J Med Sci* 1887; 75:436-61.
8. Gilmour DG. The effect of hypovolaemia on colonic blood flow in the dog. *Br J Surg* 1980;67:82-4.
9. Cohen SR. Healing of ischemic colonic anastomoses in rat: role of antibiotic preparation. *Surgery* 1995; 97(4): 443-6.
10. Hartmann M. Importance of dehydration in anastomotic and subcutaneous wound healing: an experimental study in rats. *Eur J Surg* 1992;158:79-82.
11. Schrock TR. Factors contributing to leakage of colonic anastomoses. *Ann Surg* 1973;177:513-8.
12. Sheridan WG. Tissue oxygen tension as a predictor of colonic anastomotic healing. *Dis Colon Rectum* 1973; 30:513-8.
13. Daly JM. Effects of protein depletion on strength of colonic anastomoses. *Surg Ginecol Obstet* 1972; 134:15-21.
14. Colin JF. The effect of uraemia upon wound healing. *Br J Surg* 1979; 66:793-7.
15. Irvin TT, Goligher JC. A etiology of disruption of intestinal anastomoses. *Br J Surg* 1973; 60: 461-4.
16. Irvin TT. Abdominal wound healing in jaundice patients. *Br J Surg* 1978; 65:521-2.
17. WARD, M.W. et al The effects of subclinical malnutrition and refeeding on the healing of experimental colonic anastomoses. *Br. J. Surg.*, v. 69(6), p. 308-10, 1982.
18. Testini M. The dehiscence of colorectal anastomoses: risk factors. *Ann Ital Chir* 2000; 71(4):433-40.
19. Law NW, Ellis H. Revised model for the study of colonic anastomotic healing in protein malnourished rats. *Eur Surg Res* 1989; 21(3-4):218-23.
20. Golub R. A multivariate analysis of factors contributing to leakage of intestinal anastomoses. *J Am Coll Surg* 1997;184(4):364-72.
21. Law MN, Ellis H. The effect of parenteral nutrition on the healing of abdominal wounds and colonic anastomoses in protein malnourished rats. *Surg* 1990; 107(4): 449-54.
22. Tannus AFS. Nitrogênio urinário tecidual em ratos com suplementação de glutamina. [Dissertação]. Ribeirão Preto: Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto; 2002.
23. Stegemann H, Stalder K. Determination of hydroiprolin. *Clin Chim Acta* 1967;18(2):267-73.
24. Medugorac I. Collagen content in different areas of normal and hypertrophied rat myocardium. *Cardiovasc Res* 1980;14 (9): 551-4.

Endereço para correspondência:

OMAR FÉRES

Av. Santa Luzia, 630

14025-090 - Ribeirão Preto - SP