

Morfometria da cicatrização do cólon descendente de equinos submetidos a enterorragias aposicional e invaginante

Morphometry colon healing descending from equines submitted to appositional and inverting enterorrhaphies

Flávia de Almeida Lucas¹ José Wanderley Cattelan²
Silvana Martinez Baraldi Artoni³ Euclides Braga Malheiros⁴
Daniela Oliveira³

RESUMO

A pesquisa foi conduzida com o objetivo de comparar duas técnicas de enterorragias no cólon descendente de equinos, uma aposicional e outra invaginante, utilizando-se de avaliações morfométricas. As intervenções cirúrgicas foram executadas em 15 equinos adultos sadios, pelo flanco esquerdo, sob anestesia geral inalatória. As enterotomias foram realizadas na tênia antimesentérica do cólon descendente e as enterorragias foram feitas com fio de poliglactina 910 nº 0. Os equinos foram distribuídos aleatoriamente em cinco grupos de três animais cada e submetidos à eutanásia aos três, sete, 14, 21 e 35 dias de pós-operatório para colheita de segmentos intestinais dos locais das enterorragias para análise morfométrica. Com o auxílio de analisador de imagens, foram contados os números de neutrófilos, células mononucleares e eosinófilos ao redor do fio de sutura. Na contagem de neutrófilos, houve diferença ($P = 0,05$) entre as enterorragias, com maior número na aposicional. Quanto aos mononucleares, observou-se diferença ($P = 0,01$) na interação entre os dias de pós-operatório e as enterorragias. Não foram observadas diferenças ($P > 0,05$) na contagem de eosinófilos. Concluiu-se que a enterorragia invaginante causou reação inflamatória de menor intensidade que a aposicional, sendo a opção preferencial para uso neste órgão.

Palavras-chave: cólon descendente, enterorragia, equinos, morfometria

ABSTRACT

Morphometrical study was performed to compare the healing process of the descending colon in horses, submitted to two distinctive enterorrhaphies, appositional and inverting

patterns. Fifteen healthy horses were used. Surgical intervention was accomplished in the left flank, under inalatory anesthesia. The enterotomies were done in the antimesenteric teniae of descending colon and, the enterorrhaphies, with polyglactin 910 number 0. The horses were randomly distributed in five groups of three animals each, submitted to euthanasia on postoperative period of three, seven, 14, 21 and 35 days and, intestinal segments were removed for morphometric evaluation. Using an image analysis system the numbers of neutrophils, mononuclears and eosinophils were count around of suture material in the two enterorrhaphies. There was difference ($P = 0.05$) among enterorrhaphies in the neutrophils count, were was increased in the appositional pattern. Mononuclears count showed difference ($P = 0.01$) in the interaction among the postoperative days and enterorrhaphies. No differences ($P > 0.05$) were observed in eosinophils count. It was concluded that the inflammation was lesser in the inverting enterorrhaphy, being the preferential option for use in this organ.

Key words: descending colon, enterorrhaphy, equine, morphometry.

INTRODUÇÃO

Alguns padrões de suturas têm sido empregados com sucesso na enterorragia ou anastomoses do cólon descendente de cavalos. São esses os invaginantes em um ou dois planos (BEARD et al., 1989b; SHETA et al., 1995; LUCAS et al., 2001) e os aposicionais (ARCHER et al., 1988; SHETA et al., 1995; LUCAS et al., 2001; DUARTE et al., 2002).

¹Centro Universitário Moura Lacerda. Av. Doutor Oscar de Moura Lacerda, nº 1520. 14076-510, Ribeirão Preto, SP, Brasil.

²Departamento de Clínica e Cirurgia Veterinária (DCCV), Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias (FCAVJ), Universidade Estadual Paulista (UNESP). Via de acesso Prof. Paulo Donato Castellane s/nº. 14884-900, Jaboticabal, SP, Brasil. E-mail: cattelan@fcav.unesp.br. Autor para correspondência.

³Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal, FCAVJ, UNESP, Jaboticabal, SP, Brasil.

⁴Departamento de Ciências Exatas, FCAVJ, UNESP.

Existem poucos trabalhos comparando padrões de suturas no cólon descendente de equínos com a mensuração qualiquantitativa das células inflamatórias ao redor do material de sutura. ARCHER et al. (1988) compararam o infiltrado inflamatório resultante de enterorragias praticadas na tênia antimesentérica e nos haustros do cólon descendente de equínos, empregando escore numérico para o grau de infiltração nos locais estudados. Com o objetivo de comparar a reação inflamatória ao redor do fio de poliglactina 910 utilizado em enterorragias aposicional e invaginante, LUCAS et al. (2001) também empregaram critério qualiquantitativo na avaliação, usando a seguinte escala: (0) = nulo, (1) = discreto, (2) = moderado e (3) = intenso, conforme o grau do infiltrado celular ao redor do fio de sutura.

Ao comparar a reação inflamatória provocada pelas enterorragias feitas na tênia antimesentérica e no haustro do cólon descendente, BEARD et al. (1989b) determinaram qualitativamente o infiltrado inflamatório ao redor do fio de poliglactina 910. O critério qualitativo foi utilizado por DUARTE et al. (2002) na avaliação da inflamação provocada no cólon descendente de equínos por enterorragias aposicionais com fio de poliglactina 910 e com o adesivo cianoacrilato.

Assim, o objetivo desta investigação foi a comparação quantitativa da reação inflamatória produzida por dois padrões de suturas empregados no cólon descendente, obtida pela contagem do infiltrado inflamatório de neutrófilos, células mononucleares e eosinófilos ao redor do fio de sutura.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizados 15 equínos, seis machos e nove fêmeas, sem raça definida, adultos e hígdios. Os animais foram medicados com ivermectina^a e submetidos a um período de adaptação alimentar e de manejo de dez dias e, antes do procedimento cirúrgico, a jejum alimentar e hídrico de 24 e 12 horas, respectivamente.

A medicação pré-anestésica incluiu a tranquilização dos animais com cloridrato de xilazina^b (1,1mg/kg). Decorridos 10 minutos, administrou-se éter gliceril guaiacol^c (110mg/kg) e a indução anestésica foi feita com tiopental sódico^d (12,5mg/kg), todos por via intravenosa. Os animais foram intubados com sonda oro-traqueal e a anestesia mantida com halotano^e vaporizado em oxigênio, em circuito fechado.

Como via de acesso à cavidade abdominal, foi utilizada a laparotomia pelo flanco esquerdo, conforme TURNER & McILWRAITH (1982). O cólon

descendente foi exteriorizado até a identificação do ligamento duodenocólico e os locais das enterotomias delimitados. Duas enterotomias de 5cm de extensão cada foram realizadas, distanciadas 20cm uma da outra, sendo a primeira executada a aproximadamente 40cm caudal ao ligamento duodenocólico, de acordo com a técnica descrita por ARCHER et al. (1988). As incisões do intestino foram executadas com bisturi em sentido longitudinal sobre a *Teniae coli* e posteriormente, suturadas com fio de poliglactina 910^f n° 0, sendo a primeira, localizada cranialmente, em padrão aposicional com pontos simples separados perfurantes totais mantendo espaçamento de 3mm entre os pontos, e a segunda, em dois planos, sendo o primeiro com sutura contínua simples perfurante total com aposição das bordas e, o segundo plano, com sutura invaginante padrão Cushing. A laparotomia foi realizada de acordo com a técnica preconizada por TURNER & McILWRAITH (1982). No período pós-cirúrgico imediato, os animais receberam penicilina procaína^g (22.000 UI/kg a cada 12 horas, de acordo com McILWRAITH & TURNER, 1987) e sulfato de gentamicina^h (6,6mg/kg a cada 24 horas, conforme GODBER et al., 1995), ambas por via intramuscular, durante cinco dias consecutivos, com exceção do grupo experimental de três dias de observação, que recebeu a antibioticoterapia somente por este período.

Nas primeiras 12 horas pós-cirúrgicas, os animais receberam apenas capim fresco e água à vontade. Decorrido este período, o feno e a ração foram gradualmente adicionados à dieta dos animais.

Os equínos foram divididos aleatoriamente em cinco grupos numericamente iguais e submetidos à eutanásia aos três, sete, 14, 21 e 35 dias de pós-operatório, respectivamente, para colheita dos segmentos intestinais para exame morfométrico. A eutanásia foi feita usando-se maleato de acepromazinaⁱ (0,2mg/kg) e, após 15 minutos, administraram-se éter gliceril guaiacol (110mg/kg), tiopental sódico (2g) e solução saturada de cloreto de potássio^j (100mL), todos por via intravenosa.

Foram feitas colheitas de segmentos do cólon descendente dos locais das enterorragias aposicional e invaginante. O material colhido foi estirado em papel espesso, fixado em solução de Bouin por um período de 24 horas e processado de forma rotineira para inclusão em parafina e obtenção de cortes transversais de seis micrômetros. Os cortes foram corados pelas técnicas de hematoxilina-eosina e Tricrômico de Masson, segundo BEHMER et al. (1976).

No estudo morfométrico, foram feitas contagens das células inflamatórias localizadas ao redor do fio de poliglactina 910, usando-se analisador de

imagens^k para quantificar os números de neutrófilos, células mononucleares e eosinófilos. De cada animal, foram escolhidos aleatoriamente 30 campos ao redor do material de sutura (área estabelecida de 23089,96 μ^2 /campo para as contagens das células inflamatórias, totalizando 2700 observações em cada padrão de enterorrafia (30 mensurações x 30 segmentos x 3 variáveis).

As contagens feitas foram utilizadas para o cálculo de médias. Utilizou-se a análise de variância em um esquema de parcelas subdivididas no tempo, tendo como parcelas as técnicas de enterorrafia (apositional e invaginante) e, como subparcelas, os dias de pós-operatório (3, 7, 14, 21 e 35 dias). As médias foram comparadas pelo teste de Tukey, com nível de 5% de probabilidade (SAS, 1999).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

O protocolo experimental adotado neste experimento visou à padronização dos locais das enterorrafias, com base nos estudos feitos sobre a irrigação do cólon descendente de equinos (ARCHER et al., 1989; BEARD et al., 1989a) e da melhor cicatrização que se obtém neste segmento com enterotomias feitas na *Teniae coli* (ARCHER et al., 1988; BEARD et al., 1989b; SHETA et al., 1995). Da mesma forma, a identificação do ligamento duodenocólico, conforme recomendada por ARCHER et al. (1988), constituiu um referencial importante.

Os períodos de observação usados na avaliação morfométrica desta investigação, foram baseados nos trabalhos de LUCAS et al. (2001) e DUARTE et al. (2002), permitindo a complementação das observações de LUCAS et al. (2001).

Na contagem de neutrófilos, houve diferença ($P = 0,05$) entre as enterorrafias, mas não para a interação entre os dias de pós-operatório e as enterorrafias ($P > 0,05$) (Tabela 1). Houve maior infiltrado de neutrófilos na apositiona (Tabela 2). Estes achados ratificam as observações de LUCAS et al. (2001), que usaram critério de avaliação qualitativo na comparação dos mesmos padrões de enterorrafias. Outros pesquisadores, fazendo uso de avaliação qualitativa, obtiveram resultados semelhantes neste órgão em equinos e, assim, DUARTE et al. (2002) referiram ao intenso infiltrado de polimorfonucleares ao redor de suturas apositionais com fio de poliglactina 910 até o 15º dia, enquanto SHETA et al. (1995), utilizando o fio de poliglactina 910 na comparação da enterorrafia apositiona padrão Gambee com a invaginante de Lembert, também observaram maior infiltrado de polimorfonucleares na sutura apositiona.

Tabela 1 – Valores de F (F) e dos coeficientes de variação (CV) obtidos na análise de variância para as contagens de neutrófilos, mononucleares e eosinófilos nas enterorrafias apositiona e invaginante feitas no cólon descendente de equinos.

F/CV	Células		
	Neutrófilos	Mononucleares	Eosinófilos
F para DPO	0,34 ^{NS}	3,38*	2,38 ^{NS}
F para ENT	5,57*	8,59*	3,30 ^{NS}
F para DPOxENT	1,86 ^{NS}	6,38**	0,60 ^{NS}
CV parcela	16,12	9,31	32,25
CV subparcela	13,80	13,91	25,17

NS= não significativo ($P > 0,05$)

* = significativo ($P = 0,05$)

** = significativo ($P = 0,01$)

DPO = dias de pós-operatório

ENT = enterorrafia

DPO x ENT = interação entre dias de pós-operatório e enterorrafia

Quanto às células mononucleares, observou-se diferença ($P = 0,01$) na interação entre os dias de pós-operatório, e as enterorrafias (Tabela 1). No 3º e 7º dias pós-operatórios não houve diferença ($P > 0,05$) na contagem de mononucleares nos dois padrões de suturas, contudo, o contrário foi observado no 14º, 21º e 35º dias. Na enterorrafia apositiona, houve contagens mais elevadas de mononucleares no 14º e 21º dias, enquanto na invaginante, observou-se maior número destas células no 35º dia (Tabela 2), confirmando as observações feitas por LUCAS et al. (2001). LUCAS et al. (2001) e DUARTE et al. (2002) fizeram referência ao aumento gradual de mononucleares, que inicialmente são raros, aumentando gradativamente com a progressão do tempo de observação experimental. Estes achados corroboram MARTIN & WALKER (1991), que reportaram o infiltrado inflamatório inicial rico em polimorfonucleares e, quando as lesões tornam-se crônicas, há predomínio de células mononucleares.

Na contagem de eosinófilos, observou-se número pequeno e sem diferenças ($P > 0,05$) entre os padrões de enterorrafias nos diferentes períodos estudados (Tabelas 1 e 2). Os animais do experimento foram medicados com ivermectina no período pré-experimental, o que poderia explicar o pequeno número de eosinófilos nas contagens feitas. Entretanto, nos estudos de MOORE et al. (1994) e FALEIROS et al. (2001), os eosinófilos também foram observados na mucosa intestinal dos grupos controle, confirmando a sua presença na mucosa intestinal mesmo após a utilização de vermífugos no período pré-experimental, o que possivelmente indique a participação dessa célula no processo de cicatrização intestinal, todavia, o mecanismo não é conhecido.

Com o estudo morfométrico quantitativo, pôde-se comparar com segurança as enterorrafias

Tabela 2 – Médias e desvios padrão obtidos nas contagens ($n^{\circ}/23.089,96 \mu\text{m}^2$) de neutrófilos (Ne), mononucleares (MN) e eosinófilos (Eos) ao redor do fio usado nas enterorrafias aposicional (A) e invaginante (I) feitas no cólon descendente de equínos, nos diferentes períodos de observação pós-operatória.

Células	Enterorrafias	Dias de pós-operatório					Geral
		3°	7°	14°	21°	35°	
Ne	A	27,74(± 4,82)	23,26(± 5,45)	27,31(± 6,02)	25,16(± 7,34)	24,45(± 5,67)	25,58 ^a (± 5,76)
	I	19,84(± 3,45)	25,34(± 7,89)	23,92(± 8,09)	21,03(± 4,26)	23,43(± 5,98)	22,71 ^b (± 5,93)
	Geral	23,79(± 4,13)	24,30(± 6,67)	25,61(± 7,05)	23,10(± 5,80)	23,94(± 5,86)	
MN	A	4,84 ^{aB} (± 1,89)	5,48 ^{aAB} (± 1,65)	6,82 ^{aA} (± 0,98)	6,02 ^{aAB} (± 1,34)	5,12 ^{bB} (± 1,09)	5,66(± 1,39)
	I	5,18 ^{aAB} (± 1,56)	4,21 ^{aB} (± 0,97)	4,50 ^{bB} (± 1,23)	4,13 ^{bB} (± 1,54)	6,34 ^{aA} (± 1,27)	4,87(± 1,11)
	Geral	5,01(± 1,72)	4,85(± 1,44)	5,66(± 1,10)	5,07(± 1,44)	5,73(± 1,18)	
Eos	A	2,21(± 0,54)	1,78(± 0,09)	1,36(± 0,21)	1,62(± 0,84)	1,44(± 0,52)	1,68(± 0,41)
	I	1,77(± 0,35)	1,73(± 0,12)	1,43(± 0,67)	1,22(± 0,32)	0,96(± 0,08)	1,42(± 0,32)
	Geral	1,99(± 0,44)	1,76(± 0,51)	1,40(± 0,26)	1,42(± 0,58)	1,20(± 0,30)	

Médias seguidas da mesma letra, maiúsculas na horizontal e minúsculas na vertical, não diferem entre si pelo teste de Tukey ($P > 0,05$)

aposicional e invaginante feitas no cólon descendente de equínos, ratificando as observações de LUCAS et al. (2001), que utilizaram critério qualiquantitativo para mensurar os parâmetros referentes à necrose, hemorragia, edema, fibrose e do infiltrado de leucócitos polimorfonucleares e de células mononucleares. Neste estudo, assim como no de LUCAS et al. (2001), observou-se que a técnica invaginante foi a que apresentou melhores resultados, devido à presença de menor reação inflamatória.

Os achados obtidos nesta pesquisa também reforçam a opinião de ARCHER et al. (1988), que referiram a importância de avaliações morfométricas quantitativas no estudo comparativo de padrões de suturas em segmentos intestinais, por serem precisas e fornecerem resultados mais objetivos do que as técnicas histopatológicas qualitativas. Contudo, conforme mencionado por MOORE et al. (1994), a maior vantagem da avaliação morfológica qualitativa refere-se à obtenção de uma visão global das lesões, o que não ocorre com a morfometria e, segundo os autores, os dois critérios de avaliação são complementares, devendo ser usados em conjunto.

CONCLUSÃO

A enterorrafia invaginante causa reação inflamatória de menor intensidade que a aposicional, sendo a opção preferencial para uso no cólon descendente de equínos.

AGRADECIMENTOS

Ao técnico de laboratório Orandi Mateus pela confecção das lâminas usadas neste experimento.

FONTES DE AQUISIÇÃO

- a- Equalan. Merck, Sharp & Dohme. São Paulo, SP.
- b- Rompun. Bayer. São Paulo, SP.
- c- Éter gliceril guaiacol. Henryfarma. São Paulo, SP.
- d- Tiopental sódico. Cristália. Campinas, SP.
- e- Halotano. Cristália. Campinas, SP.
- f- Vicryl. Ethicon. São José dos Campos, SP.
- g- Agrovet. Novartis. São Paulo, SP.
- h- Gentocin. Schering-Plough. São Paulo, SP.
- i- Acepran 1%. Univet. São Paulo, SP.
- j- Cloreto de potássio. Labsynth. Diadema, SP.
- k- Image Pro-plus. Cybernetics. California, USA.

COMISSÃO DE ÉTICA

Trabalho de pesquisa aprovado pela Comissão de Ética e Bem Estar Animal – Protocolo n° 001656-05.

REFERÊNCIAS

- ARCHER, R.M. et al. A comparison of enterotomies through the antimesenteric band and the sacculum of the small (descending) colon of ponies. **Equine Veterinary Journal**, London, v.20, n.6, p.406-413, 1988.
- ARCHER, R.M. et al. Vascular anatomy of the equine descending colon. **American Journal of Veterinary Research**, Chicago, v.50, n.6, p.893-897, 1989.
- BEARD, W.L. et al. Vascular anatomy of the descending colon of the horse. **Veterinary Surgery**, Philadelphia, v.18, n.2, p.130-134, 1989a.
- BEARD, W.L. et al. Enterotomy technique in the descending colon of the horse - effect of location and suture pattern. **Veterinary Surgery**, Philadelphia, v.18, n.2, p.135-140, 1989b.
- BEHMER, O.A. et al. **Manual de técnicas para histologia normal e patológica**. São Paulo: Edart, 1976. 256p.

- DUARTE, C.A. et al. Enterorragias em plano aposicional convencional e com adesivo à base de cianoacrilato no cólon descendente de eqüinos. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.32, n.4, p.595-601, 2002.
- FALEIROS, R.R. et al. Experimental ischemia and reperfusion in equine small colon. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v.53, n.3, p.341-350, 2001.
- GODBER, L.M. et al. Pharmacokinetics, nephrotoxicosis, and in vitro antibacterial activity associated with single versus multiple (three times) daily gentamicin treatments in horses. **American Journal of Veterinary Research**, Chicago, v.56, p.613-618, 1995.
- LUCAS, F.A. et al. Estudo comparativo da cicatrização de enterorragias em planos aposicional e invaginante no cólon descendente de eqüinos. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v.53, n.5, p.577-584, 2001.
- MARTIN, S.R.; WALKER, W.A. Response of the colon to injury: inflammation, immunity and mucus. In: PHILIPS, S.D. et al. **The large intestine – physiology, pathophysiology and disease**. New York: Raven, 1991. p.181-195.
- McILWRAITH, C.W.; TURNER, A.S. Use of prophylactic antibiotics in equine surgery. In: _____. **Equine surgery - advanced techniques**. Philadelphia: Lea & Febiger, 1987. p.12-19.
- MOORE, R.M. et al. Neutrophil accumulation in the large colon of horses during low-flow ischemia and reperfusion. **American Journal of Veterinary Research**, Chicago, v.55, n.10, p.1454-1463, 1994.
- SAS/STAT. **User's guide**. Version 8.8, 4.ed. Cary, NC, 1999. V.1.
- SHETA, E.M.E. et al. Studies on Gambee and Lambert patterns for closure of small colon enterotomies in equine. **Veterinary Medical Journal**, Giza, v.43, p.141-146, 1995.
- TURNER, A.S.; McILWRAITH, C.W. Equine dental and gastrointestinal surgery. In: _____. **Techniques in large animal surgery**. Philadelphia: Lea & Febiger, 1982. p.211.