

1 **ÁCIDOS GRAXOS POLIINSATURADOS MICROPARTICULADOS ÔMEGA-3 NA**
2 **CICATRIZAÇÃO DE ENTEROANASTOMOSE EXPERIMENTAL**
3 **EM RATOS: RESULTADOS PRELIMINARES**

4 1. COLOMÉ, L. M.¹; GOMES, C.²; COLOMÉ, L. M.²; MAGANO, K.³; FOERSTROW,
5 L.P.³; JORNADA, D. S.⁴; PIPPI, N. L.⁴; CONTESINI, E. A.⁵; GUTERRES, S. S.⁶
6 VILARINHO, R. C.⁷
7

8 **Resumo**

9 Trabalhos recentes têm utilizado como objeto de pesquisa para fins antiinflamatórios
10 os ácidos graxos poliinsaturados (AGPs). Estas pesquisas vêm demonstrando resultados
11 animadores, com efeitos benéficos em diversas situações clínicas. O presente estudo avaliou
12 a cicatrização intestinal na enteroanastomose ileal conseqüente à suplementação dos AGPs
13 ômega-3 (n-3) em ratos. Foram utilizados 30 ratos Wistar fêmeas, distribuídos em dois
14 grupos de tratamento. Ao grupo 1 (G1) administrou-se micropartículas de n-3, via oral em
15 diferentes períodos de tratamento e ao grupo 2 (G2) administrou-se cetoprofeno durante 3
16 dias como antiinflamatório padrão. Cada grupo foi dividido em 3 subgrupos de acordo com o
17 período de eutanásia, sendo aos 3, 6 e 8 dias de pós-operatório. Os animais foram
18 submetidos à celiotomia mediana e enteroanastomose ileal. Após os tratamentos, os animais
19 foram eutanasiados, tendo as cavidades abdominais comparadas macroscopicamente
20 quanto a alterações como: presença de secreção, grau de aderência, deiscência da sutura e
21 formação de abscessos. O segmento intestinal da enteroanastomose foi coletado para
22 posterior análise histológica. Com os dados até então obtidos conclui-se que a utilização de
23 n-3 em ratos é vantajosa para a cicatrização intestinal pós-operatória quando comparada
24 com a administração de cetoprofeno.
25

26 **Palavras-chave:** ômega-3, ácidos graxos poliinsaturados, enteroanastomose,
27
28

29 **Introdução**

30 A fisiopatologia de variadas doenças intestinais vêm sendo amplamente estudada,
31 utilizando-se para tanto, diferentes modelos experimentais. Muitos destes trabalhos visam
32 avaliar o desenvolvimento e o aprimoramento de variadas técnicas e materiais cirúrgicos,
33 bem como os benefícios clínicos do emprego de diferentes fármacos e substâncias usadas
34 no período peri-operatório (BEZUTI et al., 2002; AMARAL, 2004).

35 A evolução da cicatrização das anastomoses intestinais pode ser adversamente
36 influenciada por vários fatores, locais ou sistêmicos, documentados em estudos clínicos e
37 experimentais (MINOSSI, et al., 1998). A técnica cirúrgica e o fio de sutura utilizado, algumas
38 condições clínicas como a desnutrição, anemia, hipovolemia, hipotensão e uremia ou
39 doenças como neoplasias malignas e diabetes, além de outros fatores como senilidade,
40 irradiação, utilização errônea de drenos e as infecções, podem complicar a cicatrização
41 intestinal causando deiscência das anastomoses (LAUAND et al, 2004; HEDLUND, 2005).

¹ Programa de pós-graduação em Medicina Veterinária, UFSM, Santa Maria, RS, Brasil.

² Programa de pós-graduação em Ciências Veterinárias, UFRGS, Porto Alegre, RS, Brasil.

³ Acadêmico de Medicina Veterinária, UFRGS, Porto Alegre, RS, Brasil.

⁴ Acadêmico de Farmácia, UFRGS, Porto Alegre, RS, Brasil.

⁵ Departamento de Pequenos Animais, UFSM, Santa Maria, RS, Brasil.

⁶ Departamento de Medicina Animal, UFRGS, Porto Alegre, RS, Brasil.

⁷ Acadêmica de Medicina Veterinária, UPF, Passo Fundo, RS, Brasil.

1 Estudos envolvendo a cicatrização intestinal sob uso de antiinflamatórios não
2 esteroidais (AINEs) mostram resultados bastante divergentes e muitas vezes até opostos.
3 Alguns autores relatam que a utilização destes medicamentos favorece a cicatrização
4 intestinal, outros, contra-indicam seu uso, alegando efeitos deletérios à evolução da
5 cicatrização por aumentar a taxa de deiscência das anastomoses, incrementando assim a
6 taxa de mortalidade pós-operatória (MINOSSI, et al., 1998).

7 Trabalhos recentes têm utilizado como objeto de pesquisa para fins antiinflamatórios
8 os ácidos graxos poliinsaturados (AGPs). Estas pesquisas vêm demonstrando resultados
9 bastante animadores, com efeitos benéficos em diversas situações clínicas (CAMPOS et al.,
10 2002). O uso da farmaconutrição como suporte de pacientes cirúrgicos já está bem
11 estabelecido, apesar de ainda ser uma alternativa relativamente nova. A utilização de
12 fórmulas complexas de farmaconutrientes usando arginina, glutamina e ácidos graxos n-3
13 têm mostrado uma diminuição na incidência de infecções, no tempo de internação e um
14 decréscimo nos custos hospitalares em pacientes humanos (ALEXANDER, 2002).

15 O suporte nutricional tem sido apontado como responsável por fornecer substrato à
16 demanda energética necessária para a reconstrução e reparo na cicatrização de diferentes
17 tecidos sem a espoliação do organismo (CALDER, 2003). Pacientes cirúrgicos e doentes
18 críticos podem estar em risco devido ao comprometimento de sua imunidade, resultado de
19 um decréscimo na resistência à infecção (CALDER, 2003). Para tanto, os AGPs encontrados
20 nas formulações lipídicas promovem uma modulação do sistema imune destes pacientes,
21 oferecendo grande oportunidade de melhora do quadro clínico (CALDER, 2003).

22 **Materiais e métodos**

23 **Animais e desenho experimental**

24 Para realização do experimento foram utilizados 30 ratos linhagem Wistar, fêmeas,
25 adultas provenientes do Centro de Reprodução e Experimentação de Animais de
26 Laboratório-CREAL/UFRGS. Os animais, pesando entre 250-300g, foram mantidos no
27 Biotério da Faculdade de Farmácia, com temperatura controlada (23 ± 2 °C) e ciclo
28 claro/escuro de 12 horas (7 - 19 h). Tiveram livre acesso à água e alimentação (ração
29 certificada Nuvilab CR1[®]) e foram mantidos em gaiolas com no máximo 5 animais. Os
30 procedimentos cirúrgicos foram realizados no Hospital de Clínicas Veterinárias da UFRGS.

31 Os animais foram divididos em dois grupos experimentais: grupo 1 (G1), tratados com
32 micropartículas de n-3, uma vez ao dia por 7 dias (de acordo com o período de eutanásia)
33 pela via oral, e grupo 2 (G2), tratados pela mesma via com cetoprofeno, uma vez ao dia,
34 durante 3 dias ($5\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$), após terem sido operados via celiotomia mediana e submetidos à
35 enteroanastomose jejunal.

36 Em cada grupo foram analisados 3 momentos de avaliação, 3, 6 e 8 dias de pós-
37 operatório quando então os animais foram eutanasiados. Em cada momento foi realizado
38 estudo macroscópico dos órgãos da cavidade abdominal. Exame histopatológico foi efetuado
39 e será publicado posteriormente objetivando comparar quantitativamente a cicatrização
40 intestinal sob efeito destes dois tratamentos.

41 **Procedimento cirúrgico**

42 Para realização das cirurgias os animais foram anestesiados utilizando-se como
43 medicação pré-anestésica cloridrato de cetamina, $25\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ e meperidina, $10\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$, na
44 mesma seringa via IM. Para indução e manutenção do plano anestésico empregou-se
45 isoflurano em máscara facial. A antibioticoprofilaxia foi empregada com ampicilina sódica,
46 $40\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$, IM.

1 O acesso cirúrgico foi realizado via celiotomia mediana. Localizou-se na alça intestinal
2 o local de realização da ressecção e anastomose (região hipovascularizada), procedeu-se o
3 ordenhamento do conteúdo intestinal e incisou-se transversalmente o intestino (Figura 1).
4 Posteriormente procedeu-se a anastomose intestinal com fio monofilamentar de náilon
5 calibre 6-0 em plano único e pontos isolados simples. Após lavagem com NaCl 0,9%
6 aquecida a cavidade abdominal foi suturada em dois planos, utilizando-se fio monofilamentar
7 de náilon 5-0 na linha alba em padrão contínuo e pontos isolados simples com o mesmo tipo
8 de fio calibre 6-0 aplicados na pele.



Figura 1: Secção intestinal transversal anterior à enteroanastomose.

27 A analgesia pós-operatória foi realizada com cloridrato de tramadol, $20\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$, SC a
28 cada 6 horas durante as primeiras 12 horas de pós-operatório.

29 Todos os animais foram avaliados clinicamente em relação à distensão abdominal,
30 presença de diarreia e cicatrização da pele. O comportamento dos animais nos dois
31 primeiros dias de pós-operatório também foi considerado. Variáveis como temperatura retal
32 normal, consumo normal de água e ração e movimentação espontânea foram levados em
33 conta. Nenhuma alteração digna de nota foi observada.

34 As gavagens foram iniciadas somente no dia posterior à cirurgia, certificando-se de
35 que os animais estariam aptos para o início do tratamento.

37 **Preparação das micropartículas de n-3**

38 As formulações contendo n-3 foram elaboradas pelo Laboratório de Desenvolvimento
39 de Sistemas Micro e Nanoestruturados da Faculdade de Farmácia da UFRGS. As
40 micropartículas foram preparadas dissolvendo-se 0,6g ^bMethocel[®] K100M, em 50 mL de
41 água. Após, foi adicionado 0,2g de ^ccrosspovidona (sob agitação magnética) e 0,8g de óleo
42 de peixe contendo 31% de n-3. A mistura foi emulsionada em *ultra-turrax* e aspergida em
43 *spray-drying*, obtendo-se desse modo as micropartículas.

45 **Administração dos tratamentos**

46 Para realização das gavagens, as doses foram calculadas individualmente de acordo
47 com o peso dos animais, tanto para o G1 quanto para o G2. Estas foram realizadas sempre
48 na mesma hora do dia, sendo que o procedimento de eutanásia foi realizado no dia pré-
49 estabelecido para os diferentes grupos na mesma hora em que seria feita a gavagem. Os

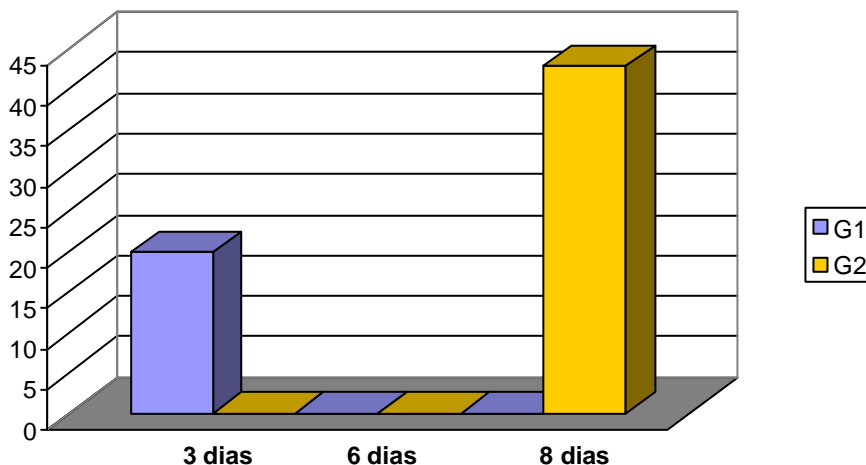
1 animais foram eutanasiados por decapitação utilizando-se guilhotina. Após eutanásia a
2 cavidade abdominal foi aberta para visualização de alterações como presença de secreção
3 abdominal, formação de abscesso, aderências e deiscência da sutura intestinal. Todas as
4 avaliações macroscópicas foram realizadas pelo mesmo avaliador, a fim de estabelecer um
5 parâmetro fixo de avaliação. Observadas e computadas as alterações, foi realizada a coleta
6 do segmento intestinal anastomosado e acondicionado em frasco hermeticamente fechado
7 com formol tamponado a 10% para avaliação histológica.
8

9 **Resultados e discussão**

10 Nenhum dos animais do G1 (n-3) foi a óbito durante o período de estudo. Entre
11 os animais do G2 (cetoprofeno) encontramos uma taxa de mortalidade de 6,66%. Deiscência
12 da anastomose é uma complicação importante em pós-operatórios de cirurgias do aparelho
13 digestivo (LAUAND *et al.*, 2004). Neste estudo observamos um maior índice de deiscência no
14 grupo tratado com cetoprofeno após este período. Isto seria explicado pelo retardo na
15 síntese de colágeno quando da utilização de AINEs (MINOSSI *et al.*, 1998 ; MEDEIROS *et*
16 *al.*, 2003). Alterações como formação de abscessos e presença de secreção na cavidade
17 abdominal ou peritonite apresentam-se como potencial consequência de deiscência da
18 sutura nas enteroanastomoses.

19 O protocolo anestésico escolhido atendeu as necessidades de um trans-operatório
20 sem intercorrências, com conforto para o animal e um pós-operatório livre de complicações.

21 Nenhum dos animais do G1 (n-3) foi a óbito durante o período de estudo. Entre os
22 animais do G2 (cetoprofeno) encontramos uma taxa de mortalidade de 6,66%. Deiscência da
23 anastomose é uma complicação importante em pós-operatórios de cirurgias do aparelho
24 digestivo (LAUAND *et al.*, 2004). Neste estudo observamos um maior índice de deiscência no
25 grupo tratado com cetoprofeno após este período. Isto seria explicado pelo retardo na
26 síntese de colágeno quando da utilização de AINEs (MINOSSI *et al.*, 1998 ; MEDEIROS *et*
27 *al.*, 2003).
28



29
30
31
32
33
34
35
Figura 2-Taxas de deiscência (em %) observada para os diferentes tratamentos e períodos de eutanásia.

36 A formação de abscessos apresentou diferenças entre os dois grupos e subgrupos, conforme pode ser evidenciado na Figura 3. Nenhum animal apresentou secreção no interior da cavidade abdominal ou qualquer outro sinal de peritonite, seja focal ou difusa. Alterações

1 como formação de abscessos e presença de secreção na cavidade abdominal ou peritonite
 2 apresentam-se como potencial consequência de deiscência da sutura nas
 3 enteroanastomoses.

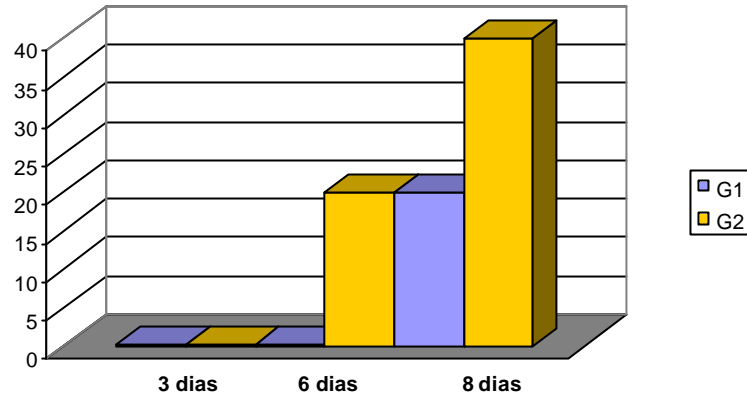


Figura 3-Taxa de abscesso (em %) observado para os diferentes tratamentos e períodos de eutanásia.

17 Para classificar a presença e o grau de formação das aderências, estabeleceu-se um
 18 escore objetivando quantificá-las nos diferentes grupos de tratamento (Tabela 1).
 19

20 Tabela 1 – Presença e grau de aderências

Intensidade	Aspecto macroscópico	Escore
Ausente	Nenhuma estrutura aderida	0
Discreta	Poucas estruturas levemente aderidas	1
Moderada	Estruturas aderidas com dificuldade de identificação e dissecação	2
Severa	Difícil dissecação das estruturas envolvidas	3

25 A presença e o grau de formação de aderência encontram-se representados na Figura
 26 4.
 27

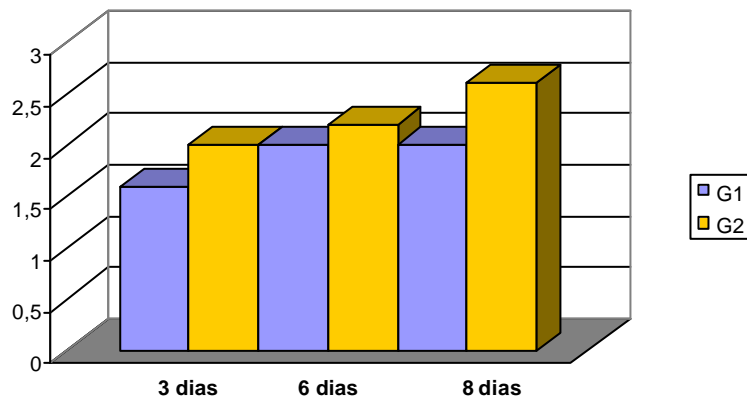


Figura 4-Grau de aderência observada para os diferentes tratamentos e períodos de eutanásia.

1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
21
22
23
24
25
26
27
28
29
30
31
32
33
34
35
36

Conclusão

Mesmo sem considerar o exame histológico dos segmentos, com o estudo realizado conclui-se que a utilização do n-3 como suplementação pós-operatória objetivando ação antiinflamatória apresenta vantagem terapêutica no processo de cicatrização intestinal quando comparado com o cetoprofeno sob as mesmas condições experimentais.

Referências

FONTES DE AQUISIÇÃO

^a Nuvilab CR1: Nuvital nutrientes S/A –Colombo- PR.

^bMethocel[®] K100M

^cCrosspovidona: Colorcon[®] - São Paulo - SP

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALEXANDER, J.W. Nutritional pharmacology in surgical patients. **The American Journal of Surgery**, v. 183, p. 349-352, 2002.

AMARAL, A.T. et al. Estudo morfológico das enteroanastomoses com suturas em pontos separados complementados com adesivo sintético ou biológico em coelho. **Acta Cirúrgica Brasileira**, v.19, n.3, p.393-405, 2004.

BEZUTI, M.T. et al. Cicatrização de anastomoses colônicas na vigência de obstrução intestinal. Estudo experimental em ratos. **Acta Cirúrgica Brasileira**, v.17, s.3, p.109-115, 2002.

CALDER, P.C. Long-chain n-3 fatty acids and inflammation: potential application in surgical trauma patients. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 36, n. 4, p. 433-446, 2003.

CAMPOS, F.G. et al. Imunonutrição em colite experimental: efeitos benéficos dos ácidos graxos ômega-3. **Arquivos de Gastroenterologia**, v.39, n.1, p. 48-54, 2002.

HEDLUND, C.S. Cirurgia do intestino delgado. In: FOSSUM, T.W. **Cirurgia de Pequenos Animais**. São Paulo, Roca, 2005. Cap. 21, p. 369-399.

LAUAND, F. Efeito da hipovolemia sobre a cicatrização de anastomoses colônicas. Estudo experimental em ratos. **Revista brasileira de coloproctologia**, v. 24, n. 4, p.317-321, 2004.

MEDEIROS, A.C. et al. Efeitos da vitamina A e C em anastomoses intestinais de ratos tratados com corticoesteróides. **Acta Cirúrgica Brasileira**, v.18, s.1, p.28-32, 2003.

MINOSSI, J.G. et al. Ação do diclofenaco de sódio nas anastomoses realizadas no intestino delgado de ratos. **Acta Cirúrgica Brasileira**, v. 13, n. 1, p. 37-43, 1998.