



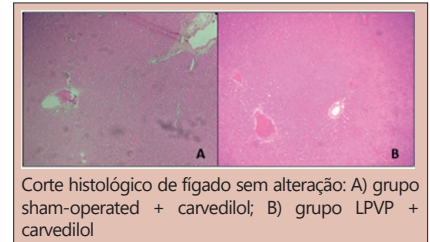
CARVEDIOL COMO PROFILAXIA DE SANGRAMENTO EM VARIZES GÁSTRICAS EM MODELO DE HIPERTENSÃO PORTAL EM RATOS

Carvedilol as primary prophylaxis for gastric variceal bleeding in portal hypertension model in rats

Andressa de Souza **BERTOLDI**^{1,2}; Camila Roginski **GUETTER**^{2,3}; Gabriel Antonio **COLTRO**^{1,2}; Larissa Maria **VOSGERAU**^{1,2}; Laura Maria Viscardi **BRIGHENTI**^{1,2}; Natália Izycki **FAUAT**^{2,4}; Fernando Bermudez **KUBRUSLY**²; Camila Aparecida Moraes **MARQUES**^{2,5}; Luiz Fernando **KUBRUSLY**^{1,2}

RESUMO – Racional: A hipertensão portal (HP), medida indiretamente através do gradiente pressórico da veia hepática >5 mmHg, tem como principal causa etiológica a cirrose. Possui como complicações a ascite, disfunção hepática, disfunção renal e varizes esofagogástricas, que caracterizam o quadro de gastropatia. **Objetivo:** Avaliar o uso do carvedilol como profilaxia primária no desenvolvimento da circulação colateral em ratos submetidos ao modelo de ligadura parcial de veia porta (LPVP). **Método:** Estudo experimental qualitativo e quantitativo no qual foram utilizados 32 ratos Wistar, divididos em quatro grupos (n=8): grupo I - cirrose + carvedilol (LPVP+C); grupo II - cirrose + veículo (LPVP); grupo III - controle + carvedilol (SO - sham-operated+C); grupo IV - controle + veículo (SO - sham-operated). Após transcorridos sete dias do procedimento cirúrgico, foi administrado carvedilol (10 mg/kg) e veículo (1mL) para os respectivos grupos por sete dias consecutivos. **Resultados:** A análise histológica não mostrou alteração hepática em nenhum grupo e diminuição de edema e vasodilatação no grupo LPVP+C. A avaliação laboratorial da função hepática não mostrou alteração com significância estatística entre os grupos. **Conclusão:** Carvedilol mostrou ser fármaco com efeito positivo no sangramento das varizes gástricas e sem efeitos adversos significativos.

DESCRIPTORES: Hipertensão portal. Antagonistas adrenérgicos beta. Gastropatia.



Corte histológico de fígado sem alteração: A) grupo sham-operated + carvedilol; B) grupo LPVP + carvedilol

Mensagem central

Neste estudo experimental, após procedimento de ligadura parcial da veia porta para indução de hipertensão portal em ratos, a administração via oral de carvedilol demonstrou atenuação de edema e vasodilatação em mucosa gástrica quando comparado ao grupo tratado com placebo.

Perspectiva

O sangramento de varizes esofágicas e gástricas representa uma causa importante de mortalidade em pacientes com hipertensão portal (HP). O uso de carvedilol é uma opção promissora para profilaxia primária e secundária de sangramento de varizes em pacientes com HP. Neste estudo, a administração de carvedilol demonstrou redução de edema e vasodilatação em mucosa gástrica em animais com HP induzida comparado àqueles com HP recebendo placebo. Futuros estudos clínicos são necessários para avaliar o uso de carvedilol como profilaxia de sangramento de varizes em seres humanos com HP.

ABSTRACT – Background: Portal hypertension (PH) can be measured indirectly through a hepatic vein pressure gradient greater than 5 mmHg. Cirrhosis is the leading cause for PH and can present as complications ascites, hepatic dysfunction, renal dysfunction, and esophagogastric varices, characterizing gastropathy. **Aim:** To evaluate the use of carvedilol as primary prophylaxis in the development of collateral circulation in rats submitted to the partial portal vein ligation (PPVL) model. **Method:** This is a combined qualitative and quantitative experimental study in which 32 Wistar rats were divided into four groups (8 animals in each): group I - cirrhosis + carvedilol (PPVL + C); group II - cirrhosis + vehicle (PPVL); group III - control + carvedilol (SO-sham-operated + C); group IV - control + vehicle (SO-sham-operated). After seven days of the surgical procedure (PPVL or sham), carvedilol (10 mg/kg) or vehicle (1 mL normal saline) were administered to the respective groups daily for seven days. **Results:** The histological analysis showed no hepatic alteration in any group and a decrease in edema and vasodilatation in the PPVL + C group. The laboratory evaluation of liver function did not show a statistically significant change between the groups. **Conclusion:** Carvedilol was shown to have a positive effect on gastric varices without significant adverse effects.

HEADINGS – Portal hypertension. Beta-adrenergic antagonists. Gastropathy.



www.facebook.com/abcdrevista



www.instagram.com/abcdrevista



www.twitter.com/abcdrevista

Trabalho realizado na ¹Faculdade Evangélica Mackenzie do Paraná – FEMPAR, Curitiba, PR, Brasil; ²Instituto Denton Cooley Brasil – IDC, Curitiba, PR, Brasil; ³Universidade Federal do Paraná – UFPR, Curitiba, PR, Brasil; ⁴Pontifícia Universidade Católica do Paraná – PUCPR, Curitiba, PR, Brasil; ⁵Centro Universitário Autônomo do Brasil, Curitiba, PR, Brasil

Como citar esse artigo: Bertoldi AS; Guetter CR; Coltro GA; Vosgerau LM; Brighenti LMV; Fauat NI; Kubrusly FB; Marques CAM; Kubrusly LF. Carvedilol como profilaxia de sangramento em varizes gástricas em modelo de hipertensão portal em ratos. ABCD Arq Bras Cir Dig. 2020;33(3):e1525. DOI: /10.1590/0102-672020200003e1525

Correspondência:

Andressa de Souza Bertoldi
Email: andressa_bertoldi@hotmail.com;
kubrusly@incorcuritiba.com.br

Fonte de financiamento: PIBIC – CAPES/Cnpq

Conflito de interesse: não há

Recebido para publicação: 15/05/2019

Aceito para publicação: 10/09/2019

INTRODUÇÃO

Hipertensão portal (HP) é definida, de forma indireta, quando o gradiente pressórico da veia hepática é maior que 5 mmHg. Pode ocorrer, mais frequentemente, devido à cirrose ou por causas não cirróticas¹¹. Na HP não cirrótica os fatores etiológicos são geralmente de natureza vascular, afetando tanto sistema portal quanto hepático, como por exemplo, oclusão trombótica de veia porta, enquanto na etiologia cirrótica ocorre aumento da resistência vascular hepática ao fluxo sanguíneo portal^{5,9}. A HP é a grande causadora de morbidade e mortalidade em pacientes portadores de cirrose devido ao desenvolvimento de complicações, sendo principalmente, varizes esofagogátricas¹⁶, ascite, disfunção renal e encefalopatia hepática⁷. O desenvolvimento destas complicações ocorre quando a pressão portal, medida de forma direta, é maior que 10 mmHg e sangramento quando maior que 12 mmHg⁵.

Nos últimos 30 anos, a mortalidade devido ao sangramento de varizes diminuiu significativamente. Isso ocorreu devido a inúmeros fatores, mas principalmente devido à melhoria nas opções terapêuticas^{5,6}. O uso de betabloqueadores não seletivos, principalmente propranolol, e da ligadura endoscópica das varizes são o tratamento de primeira linha para prevenir sangramento². Por reduzirem o gradiente pressórico da veia hepática, os betabloqueadores não seletivos podem ser utilizados tanto na profilaxia primária quanto na secundária de sangramento, em combinação com a ligadura das varizes ou em alternativa à ela⁸. Entretanto, não são todos os pacientes que mostram redução significativa do gradiente pressórico da veia hepática com o uso do propranolol. Assim, o carvedilol vem se mostrando como promissora terapêutica no tratamento da HP².

O carvedilol é um betabloqueador não seletivo com propriedade vasodilatadora além de atividade adrenérgica anti-alfa 1 e melhora na liberação de óxido nítrico⁷. Além de ser usado para as funções de betabloqueador também pode ser utilizado como antioxidante, pois age inibindo a produção de espécies reativas de oxigênio¹⁵. Estudos têm mostrado que ele possui maior efetividade com menor taxa de pacientes não respondedores à terapia quando comparado ao propranolol⁷.

Este trabalho tem como objetivo avaliar o uso de carvedilol como profilaxia de sangramento gástrico em ratos submetidos ao modelo experimental de ligadura parcial de veia porta (LPVP), por meio de estenose da veia porta, bem como a toxicidade hepática da dose do medicamento utilizada.

MÉTODO

Trata-se de um estudo experimental qualitativo e quantitativo no qual foi realizada a indução do desenvolvimento da HP, por ligadura parcial de veia porta (LPVP), assim como simulação da operação nos grupos-controle dos animais. Os procedimentos foram realizados de acordo com o preconizado pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da Faculdade Evangélica Mackenzie do Paraná (FEMPAR).

Foram utilizados 32 ratos machos Wistar (n=8), pesando entre 200 e 300 gramas. O modelo utilizado foi o de hipertensão portal, de acordo com o estabelecido por Sikuler¹³, através da ligadura parcial de veia porta (LPVP). Os animais foram divididos em quatro grupos: 1) Grupo 1: cirrose + carvedilol (LPVP + C), submetido à cirurgia de LPVP e tratamento com carvedilol por sete dias iniciado após sete dias da realização da LPVP; 2) Grupo 2: cirrose + veículo (LPVP), submetido a LPVP e administração de veículo (solução salina 0,9% NaCl) por sete dias após sete dias da realização da LPVP; 3) Grupo 3: controle + carvedilol (SO - sham-operated + C), submetido a simulação cirúrgica sem a LPVP e tratamento com carvedilol por sete dias após sete dias da realização da simulação; 4) Grupo 4: controle + veículo (SO - sham-operated), submetido a simulação cirúrgica sem a LPVP

e administração de veículo (solução salina 0,9% NaCl), por sete dias após sete dias da realização da simulação.

Foi utilizada mistura intramuscular de cloridrato de xilazina 10 mg/kg e cloridrato de cetamina 90 mg/kg em relação ao peso corporal para anestesiá-los os animais. A LPVP foi realizada através de uma laparotomia mediana com posterior exposição das alças intestinais, seguida da identificação da veia porta. Uma agulha de 20G foi colocada sobre a veia porta e ambas unidas por um fio Vicryl® 3.0 para a realização da estenose parcial da veia. Após a retirada da agulha e a verificação de que não havia ocorrido trombose, as alças intestinais eram recolocadas na cavidade abdominal e umedecidas com solução fisiológica, seguida da sutura da cavidade por planos. Os animais controle (SO) sofreram o mesmo procedimento, não tendo, no entanto, a veia porta parcialmente ligada.

O tratamento com o carvedilol iniciou a partir 7º dia do procedimento cirúrgico, diariamente durante sete dias, por via intragástrica, na dose de 10 mg/kg de carvedilol por kg de peso do animal. Os animais controle receberam o veículo (solução fisiológica - NaCl 0,9%) no volume de 1 ml.

Transcorridos 14 dias do desenvolvimento do modelo, os animais foram novamente pesados e anestesiados com a mesma mistura anestésica. Foi coletada amostra de sangue através de punção cardíaca para realizar a análise de integridade hepática por meio das análises da aspartato-aminotransferase (AST), da alanina-aminotransferase (ALT), gama glutamil transferase (GGT) e da fosfatase alcalina (FA). Posteriormente, foi realizada eutanásia por exsanguinação com retirada do estômago, baço e fígado que foram pesados (em balança de precisão), medidos (diâmetro e volume), e armazenados. Fragmentos do fígado e do estômago foram retirados e imersos em formol 10% para posterior análise histológica através da coloração H&E.

Análise estatística

Os dados obtidos foram incluídos em planilha eletrônica (Excel), a partir de onde foi realizada análise estatística usando-se o software estatístico Stata®. Na análise descritiva, os dados foram expressos em medidas de tendência central (média e desvio-padrão). A análise estatística inferencial foi realizada com base na identificação da natureza das variáveis e número de grupos de estudo. Para comparação de pesos, medidas e exames laboratoriais entre os grupos foi realizado o teste de Kruskal-Wallis. O nível de significância considerado foi de 5% (intervalo de confiança de 95%).

RESULTADOS

Os animais foram divididos em quatro grupos. Dois ratos do grupo 4 (SO) foram a óbito alguns dias após o procedimento cirúrgico (um por lesões causadas por embate físico com os outros ratos da mesma gaiola e outro por causa indeterminada).

Estes ratos foram excluídos da análise deste estudo, ficando os grupos 1 a 3 com oito animais em cada, e o grupo 4 com seis. Comparando-se os pesos iniciais (Tabela 1) não houve diferença entre os grupos.

TABELA 1 - Comparação entre os pesos dos animais no início do experimento (média e desvio-padrão)

	Grupo 1 (n=8)	Grupo 2 (n=8)	Grupo 3 (n=8)	Grupo 4 (n=6)	p
Peso inicial (g)	350,13 (15,62)	350,75 (21,52)	338,63 (21,52)	348,67 (31,80)	0,736

Após realização do protocolo de pesquisa já descrito, os animais foram sacrificados no 7º dia de pós-operatório. Os pesos e medidas dos órgãos analisados estão descritos na Tabela 2. Não foi verificada diferença estatisticamente significativa em nenhuma das variáveis analisadas.

TABELA 2 - Pesos e medidas dos animais após sacrifício (média e desvio-padrão)

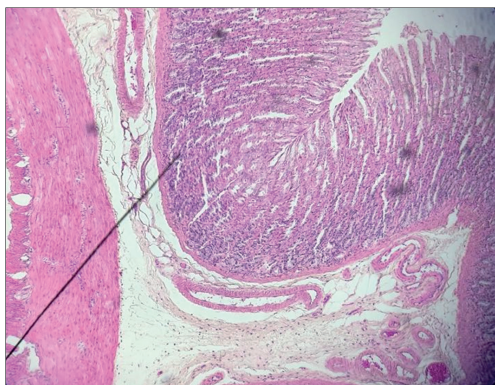
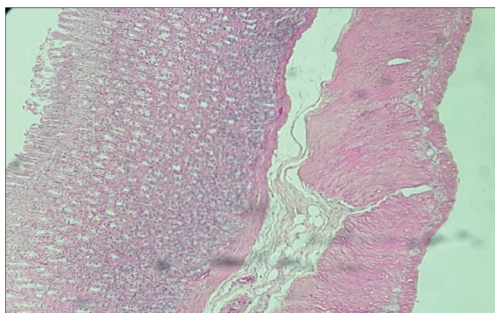
	Grupo I	Grupo II	Grupo III	Grupo IV	p
Peso final (g)	374,25 (16,54)	386 (31,95)	366 (31,69)	388 (50,91)	0,7399
Peso baço (g)	1,34 (0,42)	1,6922 (0,50)	1,67 (0,15)	1,67 (0,26)	0,0759
Comprimento baço (mm)	25,13 (3,14)	27,6 (2,88)	28,14 (3,13)	30 (2,83)	0,2015
Peso fígado (g)	16,71 (2,60)	14,18 (1,17)	13,87 (1,88)	16,92 (1,93)	0,0863
Peso estômago (g)	2,04 (0,62)	2,13 (0,16)	2,33 (0,49)	2,32 (94,75)	0,7153

Em relação à análise de exames laboratoriais (Tabela 3), não houve diferença significativa entre os grupos após o período de intervenção para os valores de transaminases, gama glutamil-transferase e fosfatase alcalina.

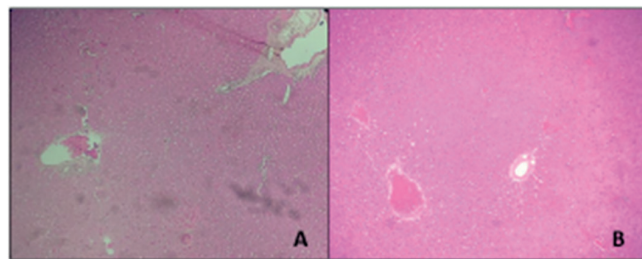
TABELA 3 - Exames laboratoriais de função hepática dos animais após sacrifício (média e desvio-padrão)

	Grupo 1	Grupo 2	Grupo 3	Grupo 4	p
AST (UI/L)	818,63 (285,93)	356,04 (183,14)	652,24 (390,24)	904,10 (222,74)	0,0701
ALT (UI/L)	235,67 (53,12)	201,08 (197,42)	217,57 (144,58)	310,70 (90,80)	0,7656
GGT (UI/L)	0,25 (0,05)	0,18 (0,08)	0,20 (0,11)	0,20 (0,14)	0,5354
AF (UI/L)	28,42 (17,14)	41,64 (31,44)	64,11 (84,30)	72,45 (26,66)	0,2597

Na avaliação histológica da mucosa gástrica, por meio da coloração H&E, confirmou-se o desenvolvimento de edema e vasodilatação no grupo LPVP (Figura 1), devido ao processo de angiogênese instalado, quando comparado aos animais SO. Os animais LPVP+carvedilol (Figura 2) apresentaram atenuação desse fenômeno.

**FIGURA 1** - Corte histológico de estômago do grupo LPVP mostrando vasodilatação e edema da mucosa**FIGURA 2** - Corte histológico de estômago do grupo LPVP+carvedilol mostrando atenuação do edema da mucosa

Quanto à avaliação da histologia hepática, não foi observada alteração do tecido hepático em ambos os grupos em que foi utilizado o carvedilol.

**FIGURA 3** - Corte histológico de fígado sem alteração: A) grupo sham-operated + carvedilol; B) grupo LPVP + carvedilol

DISCUSSÃO

O modelo de ligadura parcial da veia porta é o mais utilizado para estudar HP pré-hepática e vários estudos experimentais mostraram que, em animais, a ligadura parcial de veia porta (LPVP) produz anormalidades equivalentes às da HP em humanos¹³.

Na hipertensão portal ocorre aumento da resistência vascular na veia porta e suas tributárias. Uma via importante para a drenagem do sistema porta para a circulação sistêmica ocorre com a inversão do fluxo sanguíneo na veia gástrica esquerda e pelos vasos da submucosa do estômago e esôfago⁴. Buscando diminuir a pressão, ocorre dilatação e tortuosidade das veias, levando ao estado circulatório hiperdinâmico com liberação de substâncias vasoativas. A quantidade de veias na circulação colateral aumenta devido à angiogênese e desenvolvimentos de novos vasos sanguíneos¹⁰.

A HP é mais comumente causada por cirrose hepática, seguida por esquistossomose e oclusão de veia porta pré-hepática. Entre as complicações decorrentes da HP, pode-se destacar ascite, varizes, peritonite bacteriana espontânea e sangramento e/ou ressangramento de varizes¹. Vários estudos têm mostrado que o controle da HP por terapêutica farmacológica diminui as taxas de complicações, em especial de sangramentos. Eles são evitáveis com o uso adequado de terapêutica¹⁴.

No presente estudo, os animais LPVP, quando submetidos ao tratamento com carvedilol, apresentaram redução de vasodilatação e do edema de mucosa gástrica. Isso ocorreu, provavelmente, devido ao potencial em reduzir a pressão portal que o carvedilol possui. Isso acontece tanto através efeitos vasodilatadores, quanto da atividade adrenérgica anti-alfa-1 quanto da liberação de óxido nítrico⁷.

Quando comparado ao propranolol, o carvedilol tem mostrado maior diminuição do gradiente pressórico da veia hepática, com redução >20% do gradiente pressórico ou gradiente <12 mmHg, diminuindo assim, as taxas de sangramento e complicações. Além disso, estudos clínicos têm mostrado que o carvedilol possui maior taxa de pacientes respondedores ao medicamento, tanto na fase aguda quanto no seguimento em longo prazo com acompanhamento de seis meses, boa opção medicamentosa para profilaxia primária e secundária⁵.

No que se refere aos resultados das análises das enzimas AST, ALT e FA não mostraram comportamento alterado no modelo empregado no estudo. AAST e a ALT estão diretamente relacionadas à lesão e à necrose celular, e a FA à doença hepatobiliar. Com esses resultados, confirma-se que não há alteração da integridade hepática, achados característicos do modelo de LPVP, modelo pré-hepático de HP, onde não há dano hepático. Também fica demonstrado que a dose utilizada do medicamento não mostrou-se hepatotóxica, dado este não correlacionado a literatura devido a ausência de estudos prévios encontrados pelos pesquisadores seguindo o mesmo protocolo experimental.

Estudos recentes têm relatado constante evolução nas

opções terapêuticas na HP. Atualmente novas medicações têm tido seu uso estudado como opção para reduzir a HP, entre eles têm tido grande destaque outras classes de anti-hipertensivos, óxido nítrico, estatinas, anticoagulantes e outras substâncias vasoativas¹².

O maior conhecimento e entendimento da fisiopatologia da HP tem embasado e facilitado o desenvolvimento substancial de novas opções terapêuticas. Neste contexto, são fundamentais experimentos em laboratórios, usando animais, técnicas de análise histopatológicas, celular e imunohistológica que auxiliam no desenvolvimento de outros estudos³.

CONCLUSÃO

A administração de carvedilol em ratos submetidos a modelo de ligadura parcial da veia porta para hipertensão portal demonstrou desenvolvimento atenuado de edema e vasodilatação em mucosa gástrica quando comparado a placebo. Não foram observadas diferenças em exames laboratoriais para lesão hepatobiliar. Não foram observados efeitos adversos pela medicação.

REFERÊNCIAS

- Bosch J, Groszmann RJ, Shah VH. Evolution in the understanding of the pathophysiological basis of portal hypertension: How changes in paradigm are leading to successful new treatments. *J Hepatol* [Internet]. 2015;62(S1):S121–30.
- Chen S, Wang JJ, Wang QQ, Hu JW, Dong S, Hu LJ, et al. The effect of carvedilol and propranolol on portal hypertension in patients with cirrhosis: A meta-analysis. *Patient Prefer Adherence*. 2015;9:961–70.
- Garbuzenko DV. Contemporary concepts of the medical therapy of portal hypertension under liver cirrhosis. *World J Gastroenterol*. 2015;21(20):6117–26.
- Giménez ME, Houghton EJ, Davrieux CF, Serra E, Pessaux P, Palermo M, Acquafresca PA, Finger C, Dallemagne B, Marescaux J. Percutaneous radiofrequency assisted liver partition with portal vein embolization for staged hepatectomy (PRALPPS). *Arq Bras Cir Dig*. 2018 Mar 1;31(1):e1346. doi: 10.1590/0102-672020180001e1346. PMID: 29513807; PMCID: PMC5863995.
- Haq I, Tripathi D. Recent advances in the management of variceal bleeding. *Gastroenterol Rep* [Internet]. 2017;5(2):113–26.
- Ivano FH, Villela IR, Miranda LF, Nakadomari TS. Analysis of double balloon enteroscopy: indications, findings, therapeutic and complications. *Arq Bras Cir Dig*. 2017 Apr-Jun;30(2):83–87. doi: 10.1590/0102-6720201700020002. PMID: 29257840; PMCID: PMC5543783.
- Kirnake V, Arora A, Gupta V, Sharma P, Singla V, Bansal N, et al. Hemodynamic Response to Carvedilol is Maintained for Long Periods and Leads to Better Clinical Outcome in Cirrhosis: A Prospective Study: Acute Hemodynamic Response to Carvedilol. *J Clin Exp Hepatol* [Internet]. 2016;6(3):175–85.
- McDonald N, Lilburn DML, Lachlan NJ, Macnaught G, Patel D, Jayaswal ANA, et al. Assessment of Haemodynamic Response to Nonselective Beta-Blockers in Portal Hypertension by Phase-Contrast Magnetic Resonance Angiography. *Biomed Res Int*. 2017;2017.
- Melekhina O, Efanov M, Alikhanov R, Tsvirkun V, Kulezneva Y, Kazakov I, Vankovich A, Koroleva A, Khatkov I. Percutaneous radiofrequency-assisted liver partition versus portal vein embolization before hepatectomy for perihilar cholangiocarcinoma. *BJS Open*. 2020 Feb;4(1):101–108. doi: 10.1002/bjs.5.50225. Epub 2019 Oct 30. PMID: 32011818; PMCID: PMC6996636.
- Portal DEH, Ratos PEM, Riquena A, Kriguer-júnior RJ, Serigiolle LC, Minuncio H, et al. Aumento do volume do baço em modelo experimental de hipertensão portal pré-hepática em ratos. 2013;i(3):206–12.
- Ribeiro HS, Oliveira MC, Anastácio LR, Generoso SV, Lima AS, Correia MI. Prevalence and risk factors of hyperkalemia after liver transplantation. *Arq Bras Cir Dig*. 2018 Jun 21;31(1):e1357. doi: 10.1590/0102-672020180001e1357. PMID: 29947691; PMCID: PMC6050000.
- Schwabl P, Laleman W. Novel treatment options for portal hypertension. *Gastroenterol Rep* [Internet]. 2017;5(2):90–103.
- Sikuler E, Kravetz D, Groszmann RJ. Evolution of portal hypertension and mechanisms involved in its maintenance in a rat model. *Am J Physiol* [Internet]. 1 de junho de 1985 [citado 5 de outubro de 2017];248(6 Pt 1):G618–25.
- Tandon P, Abraldes JG. Carvedilol--NSBB of choice in all cirrhotics? Short title: Carvedilol for portal hypertension. *Saudi J Gastroenterol* [Internet]. 2015;21(5):265–6.
- Tian X, Zhao C, Guo J, Xie S, Yin F, Huo X, et al. Carvedilol Attenuates the Progression of Hepatic Fibrosis Induced by Bile Duct Ligation. *Biomed Res Int*. 2017;2017.
- Vinholi A, Fagundes MDC, Pigozzo DC, Kubrusly FB, Kubrusly LF, Marques CAM. Involvement of catecholamines in the myocardium of rats submitted to experimental model of portal hypertension. *Arq Bras Cir Dig*. 2018 Aug 16;31(3):e1383. doi: 10.1590/0102-672020180001e1383. PMID: 30133675; PMCID: PMC6097112.
- Zabot GP, Carvalhal GF, Marroni NP, Licks F, Hartmann RM, da Silva VD, et al. Glutamine prevents oxidative stress in a model of portal hypertension. *World J Gastroenterol* [Internet]. 2017;23(25):4529.