

Efeito da suplementação oral de vitamina C na resistência anastomótica intestinal

Effect of oral supplementation of vitamin C on intestinal anastomotic resistance

ANDY PETROIANU, TCBC-MG¹; LUIZ RONALDO ALBERTI²

R E S U M O

Objetivo: Comparar a resistência cicatricial de anastomoses e de segmentos íntegros jejunais de ratos, submetidos à administração de vitamina C, em distintos períodos pós-operatórios. **Métodos:** Foram estudados 50 ratos Wistar, submetidos a enterotomia seguida de anastomose término-terminal de segmento jejunal, a 10 cm da flexura duodenojejunal. Os animais foram distribuídos em dois grupos (n=25): Grupo I - controle; Grupo II - administração de vitamina C oral 100 mg/kg. Avaliaram-se as pressões de ruptura anastomótica e do segmento íntegro jejunal nos 3º, 5º, 7º, 21º e 28º dias do pós-operatório. **Resultados:** Os ratos que receberam vitamina C apresentaram pressão de ruptura anastomótica maior nos 5º, 7º, e 28º dias pós-operatórios. O mesmo ocorreu com as pressões de ruptura do segmento íntegro jejunal dos ratos. **Conclusão:** A vitamina C aumentou a resistência das anastomoses jejunais dos ratos, tanto no pós-operatório imediato quanto no tardio. Além disso, a resistência final dos segmentos jejunais íntegros dos ratos submetidos à administração de vitamina C foi significativamente maior do que no Grupo Controle.

Descritores: Cicatrização. Ácido ascórbico. Anastomose cirúrgica. Ratos wistar.

INTRODUÇÃO

No processo cicatricial, sob a influência da hipoxia tissular e dos macrófagos, os fibroblastos sintetizam o colágeno, que na sua passagem para o espaço extracelular polimeriza-se. 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. O mesmo ocorre com a lisina. A polimerização do colágeno requer a remoção dos peptídeos terminais e a condensação das lisinas¹⁻⁴.

Segundo a literatura, 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 tecidual⁵⁻⁸.

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 com radicais livres, fenômeno que causaria dano celular⁹⁻¹². É provável que o ácido ascórbico também esteja envolvido na manutenção da integridade intracelular com presença da integridade capilar, nas respostas imunológicas, reações alérgicas e aumento da absorção de ferro não hêmico¹³⁻¹⁷.

De acordo com estudos recentes, o intestino circunvizinho que participa da reação à lesão da anastomose jejunal perde uma grande parte de seu colágeno por lise, reduzindo assim a sua resistência¹¹. 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.

Dentro de uma linha de pesquisa^{3,4,12,18}, o objetivo do presente trabalho foi avaliar a influência da suplementação oral de ácido ascórbico na tensão anastomótica e do segmento íntegro jejunal de ratos, em distintos períodos pós-operatórios.

MÉTODOS

Foram estudados 50 ratos machos albinos da raça Wistar, pesando entre 250 e 320 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.

Trabalho realizado na Santa Casa de Belo Horizonte. Departamento de Cirurgia, Faculdade de Medicina. Belo Horizonte MG Brasil.

1. Professor Titular do Departamento de Cirurgia da Faculdade de Medicina – UFMG – Belo Horizonte- BR; 2. Professor Adjunto do Departamento de Cirurgia da UFMG - Belo Horizonte- BR.

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 2mg/kg (0,2 ml/kg). Quando necessário, foi aplicada adicionalmente metade da dose inicial dos anestésicos. Em seguida, os animais foram submetidos à laparotomia mediana (3 cm de extensão). Identificado o segmento jejunal a 10 cm da flexura duodenojejunal, foi realizada sua secção. Os cotos jejunais foram anastomosados término-terminalmente com pontos separados de 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 dois grupos (n=25): Grupo I, controle, animais submetidos apenas à operação; Grupo II, operação com administração oral de vitamina C na dose de 100mg/kg/dia, 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 animais receberam água pura (Grupo I) ou acrescida de vitamina C (Grupo II) e ração para ratos à vontade. Os animais foram acompanhados diariamente, receberam o mesmo tipo e quantidade nutricional e permaneceram alocados em gaiolas com número de animais idêntico (n = 5).

Cada grupo de animais foi subdividido em cinco subgrupos (n=5) para estudo no 3º, 5º, 7º, 21º e 28º dias pós-operatórios. 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, foram retirados dois segmentos jejunais, medindo 10 cm cada um. O primeiro, inseria em sua parte média a anastomose. O segundo, era constituído pelo jejuno imediatamente distal ao primeiro segmento. A parte distal desses segmentos foram amarradas 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: presença de complicações pós-operatórias gerais e da anastomose; avaliação histológica do tecido cicatricial.

A avaliação macroscópica abdominal verificou a presença dos seguintes aspectos: deiscência, aderências, infecção (caracterizada por presença de secreção purulenta). As aderências foram classificadas em: poucas (menos de três), moderadas (entre três e cinco) e muitas (mais de cinco)

Os estudos histológicos foram conduzidos em preparações coradas por hematoxilina-eosina e por

trícromico 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). A avaliação histopatológica e histomorfológica foi realizada através de microscopia óptica convencional e de luz polarizada. A análise do infiltrado inflamatório com quantificação diferencial das células bem como a análise da fibrose, com quantificação e observação do grau de entrelaçamento das fibras do colágeno, foi realizada por campos de média magnificação (100 X) e do colágeno por campos de grande magnificação (400 X).

Quanto à quantidade de colágeno, atribuiu-se nota 0 às anastomoses em que o colágeno foi desprezível; 1 para presença de colágeno em pequenas quantidades; 2 em moderada quantidade; 3 quando encontrou-se grande quantidade de colágeno. No tocante à distribuição das fibras colágenas, observaram-se dois padrões estruturais distintos: fibras em paralelo ou entrelaçadas. Considera-se que o entrelaçamento atribui maior força de tensão (resistência) no segmento em questão. O infiltrado inflamatório foi avaliado de forma semi-quantitativa conforme os seguintes parâmetros: nota 0, para ausência do infiltrado inflamatório; 1, para infiltrado leve; 2, para infiltrado moderado; 3, para infiltrado inflamatório intenso.

Foram realizadas análises descritivas (média e desvio-padrão da média) e o teste t de student para comparar a tensão de ruptura entre os grupos. A presença de aderências foram analisadas pelo teste exato de Fisher. 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 pós-operatório, pela presença de fezes nas gaiolas. Nenhuma deiscência anastomótica foi observada.

A tabela 1 mostra os valores pressóricos médios e desvio-padrão de ruptura anastomótica em diferentes períodos pós-operatórios. Observa-se que o Grupo II apresentou valores pressóricos maiores nos 5º, 7º e 28º dias pós-operatórios.

A análise de resistência no 3º dia mostrou pressão igual à 0, para ambos os grupos. A diferença mais significativa foi para análise no 28º dia pós-operatório, quando os ratos submetidos à administração de vitamina C apresentaram tensão significativamente maior do que os do Grupo Controle ($p = 0,037$). A resistência após 28 dias foi maior do que a encontrada nos períodos anteriores, para ambos os grupos.

A tabela 1 também mostra os valores pressóricos medianos de ruptura do segmento íntegro jejunal. Observa-se que as pressões do Grupo II foram maiores do que as do Grupo I, apesar de a diferença ser significativa apenas

no 28º dia pós-operatório ($p = 0,032$). Após o 7º. dia não houve diferenças entre as resistências da anastomose e do segmento íntegro ($p > 0,05$).

À necropsia, não foram evidenciados sinais de deiscência e de infecção intra-abdominal e de sítio cirúrgico em nenhum animal. Aderências foram verificadas em ambos os grupos a partir do 7º. dia pós-operatório, porém sem diferenças entre os grupos ($p = 0,41$). (Tabela 2)

Na avaliação histológica, no 3º dia do pós-operatório, notou-se padrão morfológico heterogêneo, com reação inflamatória além de menor número de fibroblastos e feixes de colágeno. No 5º dia, verificou-se aumento na quantidade de fibras colágenas, presença de infiltrado inflamatório constituído por polimorfonucleares, plasmócitos, linfócitos e macrófagos, além de congestão vascular. No 21º dia, 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. Já no 28º dia, os feixes de colágeno se encontravam mais espessos em comparação às duas semanas iniciais, apresentando distribuição mais ordenada e paralela entre si.

A presença de infiltrado inflamatório agudo teve média de $1,45 \pm 0,45$ para o Grupo 1 e de $1,33 \pm 0,38$ para o Grupo 2 ($p = 0,41$). Em relação à concentração de colágeno, observou-se no 7º. dia $1,83 \pm 0,14$ e $2,46 \pm 0,23$ no Grupo 2 ($p = 0,021$). O grupo 2 apresentou porcentagem de 87% de fibras de colágeno entrelaçadas, sendo de 62% no Grupo 1 ($p = 0,016$).

DISCUSSÃO

Fatores que afetam a cicatrização anastomótica vêm sendo pesquisados continuamente^{1-4,12,18}. Entretanto, resultados de estudos experimentais que investigam a ci-

Tabela 1 - Pressão média e desvio-padrão da média (cmHg) de ruptura da anastomose e do segmento íntegro jejunal.

Dias Pós-operatórios	Grupos			
	I		II	
	Segmento Íntegro	Anastomose	Segmento Íntegro	Anastomose
3º	22,7 ± 3,4	0	24,3 ± 2,1	0
5º	24,6 ± 2,8	13,7 ± 0,9*	26,5 ± 2,4	17,9 ± 1,4*
7º	23,1 ± 1,4	11,5 ± 1,3	28,8 ± 3,0	23,4 ± 2,5+
21º	22,5 ± 2,6	24,5 ± 3,2	20,8 ± 2,4	18,7 ± 1,3
28º	24,7 ± 2,1**	32,8 ± 4,1++	43,1 ± 3,7**	47,3 ± 4,2 ++

Grupo I: controle

Grupo II: suplementação oral de vitamina C

* Diferente do outro grupo no mesmo dia pós-operatório ($p = 0,021$)

** Diferente do outro grupo no mesmo dia pós-operatório ($p = 0,032$)

+ Diferente do outro grupo no mesmo dia pós-operatório ($p = 0,006$)

++ Diferente do outro grupo no mesmo dia pós-operatório ($p = 0,037$)

Tabela 2 - Graduação da presença de aderências intra-abdominais nos grupos estudados.

Dias Pós-operatórios	Grupos					
	I			II		
	Presença de aderências (número de animais)					
	Pouca	Moderada	Muita	Pouca	Moderada	Muita
3º	2	1	-		1	-
5º	2	2	-	1	2	-
7º	-	2	1	1	-	1
21º	2		1	3		1
28º	1	1			1	1

Pouca: até 3 aderências

Moderada: de 3 a 5 aderências

Muita: mais de 5 aderências

Grupo I: controle

Grupo II: suplementação oral de vitamina C

catrização em anastomoses intestinais apresentam resultados conflitantes^{5,9}. Embora existam estudos com corticosteróides e outras substâncias para avaliar sua influência em fenômenos cicatriciais^{3,9}, pouco se pesquisou sobre o ácido ascórbico.

No presente trabalho, a dose de ácido ascórbico foi escolhida com base em trabalhos anteriores, que verificaram serem essas as concentrações mínimas capazes de afetar a cicatrização de feridas e passíveis de serem usadas em seres humanos sem levar a efeitos tóxicos e lesivos quando administradas¹⁸.

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 trauma¹⁸.

Deiscência em anastomoses intestinais é uma complicação frequente, sendo o colágeno de fundamental importância na manutenção de tensão na parede intestinal¹⁰. Investigações em anastomoses entéricas em vários animais mostraram mudanças acentuadas nas concentrações de colágeno, ocorrendo principalmente na primeira semana pós-operatória. Os resultados obtidos no presente estudo mostram aumento importante da tensão cicatricial tanto no pós-operatório imediato quanto tardio, após ingestão de vitamina C.

Um outro fator de destaque, é a influência negativa de microorganismos capazes de produzir enzimas colagenolíticas, que levariam a desequilíbrio entre a síntese e degradação de colágeno^{6,7,11}. 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.

No acompanhamento de sete dias, todos os grupos apresentaram tensão cicatricial inferior ao período de 21 dias. No início, a tensão cicatricial ainda é muito tênue,

o que dificulta 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, nossos dados não permitem explicar a fisiopatologia desses achados.

Segundo Chowcat *et al.*⁵, 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 colágeno¹⁰.

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^{6,16,17}.

Os resultados do presente trabalho sugerem efeito positivo da vitamina C tanto nas fases iniciais quanto tardias dos processos cicatriciais. Levando-se em conta que a maior parte das complicações (deiscências, fístulas) ocorrem no período pós-operatório imediato, julgamos pertinente supor que a administração de vitamina C possa ser benéfica, mesmo na clínica, quando se trata de doenças crônicas ou degenerativas.

Um outro aspecto que merece consideração é o fato de a administração de vitamina C levar à tensão de ruptura tardia do segmento jejunal íntegro significativamente maior do que a do Grupo Controle. Neste trabalho, não encontramos qualquer subsídio histológico que auxiliasse na explicação desse resultado. Portanto, essa resistência também requer maiores estudos para ser compreendida.

A suplementação oral de vitamina C contribuiu para aumentar a resistência das anastomoses jejunais e do segmento jejunal íntegro de rato, tanto no período pós-operatório imediato, quanto tardio.

Os autores agradecem ao CNPq e FAPEMIG pelos auxílios financeiros que permitiram a realização deste trabalho.

A B S T R A C T

Objective: To compare the resistance of anastomosed and intact jejunal segments of rats submitted to administration of vitamin C in different postoperative periods. **Methods:** Fifty Wistar rats underwent enterotomy followed by end-to-end anastomosis of the jejunal segment, 10 cm from the duodenojejunal flexure. The animals were divided into two groups (n = 25): Group I – control; Group II – administration of oral vitamin C 100 mg/kg. We evaluated the bursting pressures of the anastomotic and the intact jejunal segments in the third, fifth, seventh, 21st and 28th postoperative days. **Results:** The rats that received vitamin C had higher anastomotic bursting pressure in the fifth, seventh and 28th postoperative days. The same happened with the bursting pressures of intact jejunal segments. **Conclusion:** Vitamin C increased the resistance of jejunal anastomoses in rats, both in the immediate and in late postoperative periods. In addition, the final resistance of intact jejunal segments of rats under administration of vitamin C was significantly higher than in the control group.

Key words: Wound healing. Ascorbic acid. Anastomosis, surgical. Rats, wistar.

REFERÊNCIAS

1. Mandal A. Do malnutrition and nutritional supplementation have an effect on the wound healing process? *J Wound Care* 2006;15(6):254-7.
2. Ord H. Nutritional support for patients with infected wounds. *Br J Nurs* 2007;16(21):1346-8, 1350-2.
3. Arantes VN, Okawa RY, Silva AA, Barbosa AJA, Petroianu A. Efeito da metilprednisolona sobre a tensão anastomótica jejunal. *Arq Gastroenterol* 1994;31(3):97-102.
4. Arantes VA, Okawa RY, Fagundes-Pereyra WJ, Barbosa AJA, Petroianu A. Influência da icterícia obstrutiva na cicatrização da pele e de anastomose jejunal em ratos. *Rev Col Bras Cir* 1999;26(5):269-73.
5. Chowcat NL, Savage FJ, Hembry RM, Boulos PB. Role of collagenase in colonic anastomoses: a reappraisal. *Br J Surg* 1988;75(4):330-4.
6. Reidling JC, Subramanian VS, Dahhan T, Sadat M, Said HM. Mechanisms and regulation of vitamin C uptake: studies of the hSVCT systems in human liver epithelial cells. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2008;295(6):G1217-27.
7. Ehrlich HP. Wound closure: evidences of cooperation between fibroblasts and collagenous matrix. *Eye (Lond)* 1998;2(Pt 2):149-57.
8. Hussain MZ, GHANI QP, Hunt TK. Inhibition of prolyl hydroxylase by poly(ADP-ribose) and phosphoribosyl-AMP. Possible role of ADP-ribose in intracellular prolyl hydroxylase regulation. *J Biol Chem* 1989;264(14):7850-5.
9. Jiborn H, Ahonen J, Zederfeldt B. Healing of experimental colonic anastomoses. I. Bursting strength of the colon after left colon resection and anastomosis. *Am J Surg* 1978;136(5):587-94.
10. Cevikel MH, Tuncyurek P, Ceylan F, Meteoglu I, Kozaci D, Boylu S. Supplementation with high-dose ascorbic acid improves intestinal anastomotic healing. *Eur Surg Res* 2008;40(1):29-33.
11. Mastboom WJ, Hendriks T, de Boer HH. Collagen changes around intestinal anastomoses in germ-free rats. *Br J Surg* 1989;76(8):797-801.
12. Melo MAB, Almeida LM, Barbosa AJA, Petroianu A. Cicatrização de anastomose colônica em ratos submetidos a diferentes preparos colônicos. *Rev bras colo-proctol* 1996; 16(1):19-22.
13. Ronchetti IP, Quaglino D Jr, Bergamini G. Ascorbic acid and connective tissue. *Subcell Biochem* 1996;25:249-64.
14. Ringsdorf WM Jr, Cheraskin E. Vitamin C and human wound healing. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1982;53(3):231-6.
15. Vaxman F, Chalkiadakis G, Olender S, Maldonado H, Aprahamian M, Bruch JF, Wittmann T, Volkmar P, Grenier JF. Improvement in the healing of colonic anastomoses by vitamin B5 and C supplements. Experimental study in the rabbit. *Ann Chir* 1990;44(7):512-20.
16. Vaxman F, Olender S, Lambert A, Nisand G, Grenier JF. Can the wound healing process be improved by vitamin supplementation? Experimental study on humans. *Eur Surg Res* 1996;28(4):306-14.
17. Vaxman F, Olender S, Lambert A, Nisand G, Aprahamian M, Bruch JF, Didier E, Volkmar P, Grenier JF. Effect of pantothenic acid and ascorbic acid supplementation on human skin wound healing process. A double-blind, prospective and randomized trial. *Eur Surg Res* 1995;27(3):158-66.
18. Vasconcellos LS, Alberti LR, Nunes CB, Petroianu A. Efeito da hidrocortisona sobre a resistência cicatricial da pele em camundongos. *Rev Col Bras Cir* 2001;28(6):438-43.

Recebido em 07/01/2010

Aceito para publicação em 12/03/2010

Conflito de interesse: nenhum

Fonte de financiamento: CNPq e FAPEMIG

Como citar este artigo:

Petroianu A, Alberti LR. Efeito da suplementação oral de vitamina C na resistência anastomótica intestinal. *Rev Col Bras Cir*. [periódico na Internet] 2011; 38(1). Disponível em URL: <http://www.scielo.br/rcbc>

Endereço para correspondência:

Prof. Andy Petroianu

E-mail: petroian@medicina.ufmg.br