

ARTIGO ORIGINAL

Efeitos da Desvascularização da Operação de Abaixamento do Cólon em Cães¹

José Antonio de Souza², Murillo Ronald Capella³, Peter Goldberg⁴, Euclides Reis Quaresma⁵, Edevard José Araújo⁶, Maurício José Lopes Pereira⁷, Luis Gustavo F. da Silva⁸, Gabriel G. Longo⁹, Jalmir R. Aust¹⁰, Roberto Figueiredo¹¹, Geraldo J. Bernardes¹², José Caldeira F. Bastos¹³, Rosa M. V. Nicolau¹⁴, Ivan Hong Jun Koh¹⁵

Resumo

O objetivo deste trabalho foi estudar os efeitos da desvascularização sobre o cólon submetido à operação de abaixamento.

Foram utilizados 20 cães da raça Beagle, adultos, de ambos os sexos, distribuídos em 3 grupos. O primeiro grupo, de 6 animais, foi utilizado para estabele-

cer os parâmetros de normalidade. No segundo grupo, também de 6 animais, foi realizada a desvascularização parcial do cólon, com ligadura dos vasos mesentéricos caudais. No terceiro grupo, de 8 animais, foi realizada a operação de abaixamento endorretal do cólon. Nos 3 grupos, após a anestesia, foi realizado enema opaco pré-operatório.

Após 6 meses de observação, os animais foram anestesiados, submetidos a enema opaco e, a seguir, reoperados, com retirada de fragmentos em 3 locais padronizados do cólon, para análise histológica e estudo da contractilidade, *in vitro*, da musculatura longitudinal, com estímulo pela acetilcolina.

A evolução clínica dos animais ocorreu sem complicações. Também não foram observadas alterações radiológicas, quando comparados os exames pré e pós-operatórios.

Na análise histológica não foram encontradas alterações significativas. As células ganglionares dos plexos mientéricos não sofreram alterações morfológicas ou numéricas.

Do ponto de vista funcional, observou-se que a musculatura longitudinal do cólon manteve sua capacidade contrátil máxima. No entanto, apresentou diminuição da sensibilidade à acetilcolina. Esse fato pode ser correlacionado com a hipoxia, pois ocorreu no local de menor vascularização do cólon abaixado.

Concluiu-se que a hipoxia provocada pelo abaixamento do cólon, em cães, não foi suficiente para promover alterações morfológicas do cólon, porém, provocou alteração da contractilidade.

Descritores: 1. Cólon;
2. Cirurgia;
3. Cães.

1. Tese de doutorado apresentada à Universidade Federal de São Paulo - Escola Paulista de Medicina, desenvolvida no Laboratório de Técnica Operatória e Cirurgia Experimental da Universidade Federal de Santa Catarina.
2. Cirurgião Pediátrico do Hospital Infantil Joana de Gusmão, Professor de Cirurgia Pediátrica do Departamento de Pediatria da UFSC, Doutor em Medicina pela Universidade Federal de São Paulo – Escola Paulista de Medicina.
3. Cirurgião Pediátrico do Hospital Infantil Joana de Gusmão, Livre Docente pela UFSC.
4. Cirurgião Pediátrico do Hospital Infantil Joana de Gusmão.
5. Cirurgião Pediátrico do Hospital Infantil Joana de Gusmão.
6. Cirurgião Pediátrico do Hospital Infantil Joana de Gusmão, Professor de Técnica Operatória da UNIVALI, Doutor em Medicina pela Universidade Federal de São Paulo – Escola Paulista de Medicina.
7. Cirurgião Pediátrico do Hospital Infantil Joana de Gusmão, Professor de Cirurgia Pediátrica do Departamento de Pediatria da UFSC, Doutor em Medicina pela Universidade Federal de São Paulo – Escola Paulista de Medicina.
8. Aluno do Curso de Graduação em Medicina da UFSC.
9. Aluno do Curso de Graduação em Medicina da UFSC.
10. Aluno do Curso de Graduação em Medicina da UFSC.
11. Aluno do Curso de Graduação em Medicina da UFSC.
12. Veterinário voluntário do Laboratório de Técnica Operatória da UFSC, Mestre em Técnica Operatória e Cirurgia Experimental pela Universidade Federal de São Paulo – Escola Paulista de Medicina.
13. Médico Patologista do Hospital de Caridade de Florianópolis - SC.
14. Microbiologista da UFSC.
15. Cirurgião Pediátrico, Doutor em Medicina pela Universidade Federal de São Paulo – Escola Paulista de Medicina.

Abstract

The purpose of this research was to study the effects of the devascularization on the pulled-through colon.

Twenty adult dogs, male and female, were distributed in 3 groups according to the procedures. Six dogs were used to establish the patterns of normality. Six others underwent partial devascularization of the colon by ligation of the caudal mesenteric vessels. Eight underwent an endorectal pull-through procedure. Immediately after the anaesthesia a contrast enema was performed as control.

The animals were observed during 6 months. After that they were anesthetized and a contrast enema was performed on before the reoperation. Three segments of the colon were used to histological analysis and to study the contractile response of longitudinal muscle to the acetylcholine.

There were no clinical complications in the studied animals. No radiological alterations were observed when the pre and postoperative enemas were compared.

There were no significant histologic alterations. The myenteric plexus wasn't altered.

The longitudinal muscle remained with maximal contractile capacity but its sensibility to the acetylcholine was diminished in the pulled-through colon, on the local with poor vascularization.

In conclusion the hypoxia due to colon pull-through operation, in dogs, wasn't enough to provoke histological alterations on the colon but was able to alter the contractile response.

Keywords: 1. Colon;
2. Surgery;
3. Dogs.

Introdução

As operações de abaixamento de colo, independentemente da técnica cirúrgica utilizada, podem apresentar complicações e, algumas delas parecem ser oriundas da hipoxia tecidual, secundária às ligaduras vasculares necessárias para a mobilização do segmento colônico. Essas alterações conseqüentes à hipoxia parecem ser dependentes da intensidade da hipoxia e/ou isquemia e da susceptibilidade própria dos tecidos à falta de oxigenação. Tem sido referido que, dependendo do grau de hipoxia, o cólon pode apresentar desde alterações transitórias localizadas na mucosa^{17,31,32,33} até lesões irreversíveis como estenose ou necrose segmentar.^{9,25,31,32,33}

Trabalhos experimentais^{3,20,21,27,30,35,40,41,43,44}, com modelos próprios de isquemia e/ou hipoxia, têm apontado para a ocorrência de lesões das células ganglionares da parede intestinal com conseqüentes alterações funcionais. Cannon e Burket³, empregando um modelo experimental de isquemia intestinal, referiram alteração da motilidade e sugeriram que ela seria resultante da lesão dos plexos mientéricos devido à falta de oxigenação.

McElhannon²⁷ referiu a destruição dos plexos intramurais do cólon após a injeção de acetato de sódio na artéria cólica esquerda de cães. Outros^{20,21,30} induziram, com isquemia, por ligaduras vasculares, a degeneração e destruição das células ganglionares intramurais de intestino delgado e cólon.

Tubino⁴³ mostrou a susceptibilidade das células dos plexos intramurais do intestino à hipoxia de um segmento de cólon provocado pela restrição vascular. Segundo o autor, esse procedimento promoveria lesões irreversíveis das células ganglionares intestinais, resultando em alterações do peristaltismo documentadas radiologicamente.

Scaro³⁵ obteve a destruição dos plexos mientéricos em ratos, empregando um modelo de hipoxemia provocada pela câmara de hipopressão. Touloukian, Posch e Spencer⁴⁰ referiram que o fator estresse no prematuro, particularmente do tipo hipoxemia, produziria a redistribuição da circulação capilar para longe do intestino, no intuito de proteger órgãos considerados nobres, tais como, cérebro, coração e rins. Dessa forma, sugeriram que a isquemia seletiva do intestino seria um fator suficiente para causar alterações na parede intestinal. Assim foi relatado o caso de aganglionose colônica adquirida, em um prematuro, sugerindo como causa a isquemia seletiva.⁴¹

Tubino⁴⁴ mostrou que a desvascularização parcial do útero de ratas, durante a gravidez, promove a ocorrência de aganglionose colônica nos filhotes.

Diferente dos trabalhos experimentais em que a destruição das células ganglionares intestinais foi provocada pela restrição intensa da vascularização, o procedimento de desvascularização do segmento colônico para executar o abaixamento do cólon é de menor hipoxia possível, com o intuito de preservar um adequado aporte sanguíneo para o segmento colônico abaixado. Assim sendo, é de certa forma esperada uma evolução clínica satisfatória e sem intercorrências funcionais na maioria dos pacientes.

No entanto, no período pós-operatório das operações de abaixamento do colo, tem sido salientada a susceptibilidade das células nervosas da parede intestinal à diminuição da vascularização.^{4,5,10,12,23,28,42,46} Estes autores atribuíram à hipoxia resultante da desvascularização

parcial do intestino, a causa da destruição dos plexos nervosos intestinais. Assim, Dajani, Slim e Mansour⁷ relataram um caso de hipoganglionose pós abaixamento de colo e sugeriram como possível causa a hipoxia tecidual.

Segundo Dixon¹¹, a destruição das células nervosas ocorreria porque as suas membranas celulares participam ativamente na expulsão de íons sódio e retenção de potássio, do que dependem a polarização e a atividade elétrica neuronais. Este ativo transporte catiônico demanda uma suplementação contínua de adenosina trifosfato (ATP) para ser consumida continuamente pelas células nervosas em atividade. Na ausência de oxigênio, como em situações de hipoxia ou isquemia, a formação de ATP fica grosseiramente retardada e a resultante deficiência de ATP, por um período prolongado, promoveria a lesão das membranas das células nervosas com conseqüente progressão para a morte celular.

Considerando-se um número relativamente pequeno de relatos de pacientes, na literatura, com sinais clínicos ou laboratoriais sugestivos da aganglionose pós-operatória do segmento colônico abaixado, justifica-se o pequeno número de investigações científicas à procura dessas alterações.

No entanto, a persistência da hipoxia, de forma crônica, mesmo de intensidade insuficiente para provocar lesões agudas, e a sua repercussão com relação a alterações histológicas da parede intestinal e/ou distúrbios funcionais, originaram a formulação do presente trabalho, com o objetivo de estudar o efeito da desvascularização da operação de abaixamento do cólon.

Métodos

Foram utilizados 20 cães adultos, 10 machos e 10 fêmeas, da raça *Beagle*, distribuídos aleatoriamente em 3 grupos: grupo A (Controle): 6 animais utilizados para avaliar os padrões de normalidade; grupo B (Ligadura): 6 animais submetidos à hipoxia do cólon com ligadura dos vasos mesentéricos caudais; grupo C (Abaixamento): 8 animais submetidos à ligadura dos vasos mesentéricos caudais e abaixamento do cólon.

Os animais receberam alimentação própria para a espécie, com livre acesso à dieta e água durante todo o experimento, exceto no dia anterior ao procedimento operatório, quando ficaram em jejum. A alimentação foi reiniciada no 1º. dia de pós-operatório.

Foi realizada indução anestésica com tiopental sódico a 2,5%, endovenoso (EV), na dose de 25 miligramas por quilograma de peso. A seguir foi realizada entubação traqueal e anestesia inalatória com mistura de oxigênio, óxido nitroso e halotano. Os animais foram mantidos em ventilação assistida, pelo médico veterinário, durante todo o procedimento. Todos os animais receberam 500 mg de cefoxitina EV logo após a entubação traqueal. A seguir, os animais foram submetidos a enema opaco, conforme técnica padronizada.

No grupo A, os animais foram submetidos à laparotomia, ressecção do segmento de cólon compreendido entre os vasos cólicos médios e mesentéricos caudais e eutanásia.

No grupo B, os animais foram submetidos à laparotomia identificação e secção entre ligaduras dos vasos mesentéricos caudais e marcação desse local com fio de aço número 4-0, no bordo mesocólico. A incisão foi fechada por planos.

No grupo C, os animais foram submetidos à laparotomia, identificação e secção entre ligaduras dos vasos mesentéricos caudais e abaixamento endorretal do cólon pela técnica de Soave³⁷, modificada por Boley.²

Após 6 meses, os animais dos grupos B e C foram reoperados. Em ambos os grupos, antes do procedimento cirúrgico, foi realizado enema opaco.

Na reoperação dos animais do grupo B, foi realizada a ressecção do segmento colônico entre os vasos cólicos médios e o fio metálico colocado na operação inicial. No grupo C, foi realizada a ressecção do segmento de cólon entre os vasos cólicos médios e o ânus, em bloco. Em ambos os grupos, logo após a retirada da peça cirúrgica, os animais foram submetidos à eutanásia.

Imediatamente após a ressecção dos segmentos de cólon, dos grupos A, B e C, estes foram lavados com solução de Krebs-Henseleit até a retirada de todo o conteúdo fecal.

No grupo C, procedeu-se o descolamento da capa muscular retal que envolvia o cólon abaixado.

Nos 3 grupos foram cortados fragmentos de aproximadamente 1 x 0,5 cm, no sentido longitudinal em 3 locais: local 1 (L1) ao nível dos vasos cólicos médios; local 2 (L2), a aproximadamente 5 cm de L1 e local 3 (L3), ao nível dos vasos mesentéricos caudais. Esses fragmentos do cólon foram encaminhados para estudos histológico e farmacológico.

Os fragmentos para o estudo histológico foram preparados e corados pela hematoxilina e eosina.²⁴ Em todas as lâminas foram demarcados campos de 1 cm, onde foram contados os números de gânglios, células ganglionares por gânglio e de células ganglionares por cm nos plexos mientéricos.

Os segmentos destinados ao estudo farmacológico foram estimulados com cloreto de potássio 80 milimolar (mM), com finalidade de obter-se a contração máxima, medida em mm. Após o órgão estar relaxado, foram obtidas as curvas concentração resposta cumulativas à acetilcolina, em todos os segmentos do cólon, adicionando-se concentrações crescentes e cumulativas de acetilcolina, iniciando-se com a concentração de 10⁻⁸ molar (M) e terminando-se com a de 10⁻⁴ M, na razão 3, que produziu a contração máxima medida em mm.^{1,45} A resposta do órgão à acetilcolina foi calculada em percentagem à contração obtida com o cloreto de potássio.

Os parâmetros farmacológicos avaliados foram: concentração efetiva 50 (CE₅₀) resposta máxima (R_{max}).

Para a análise estatística dos resultados foram utilizados testes não paramétricos:

1. Análise de variância por postos de Friedman³⁶, com a finalidade de comparar as três regiões dos cólons dentro de cada grupo;
2. Análise de variância por postos de Kruskal-Wallis³⁶, com a finalidade de comparar os grupos A, B e C. Esta análise foi aplicada, em separado, para cada região do cólon e quando apresentou diferença significante foi complementada pelo teste de comparações múltiplas.¹⁹

Em todos os testes fixou-se em 0,05 ou 5% o nível para a rejeição da hipótese de nulidade, assinalando-se com um asterisco cada valor significante.

As médias das variáveis foram calculadas e apresentadas apenas a título de informação.

O estudo estatístico foi realizado na disciplina de Bioestatística do Departamento de Medicina Preventiva da Universidade Federal de São Paulo (UNIFESP - EPM).

Resultados

A evolução clínica pós-operatória dos animais dos grupos ligadura (B) e experimento (C) não apresentou intercorrências. Não foram observados óbitos.

Na reoperação dos animais do grupo abaixamento (C), o cólon abaixado apresentou aderência frouxa à capa muscular retal, em todos os cães.

Os enemas opacos pré-operatórios dos animais dos 3 grupos foram semelhantes. Os enemas opacos pós-

operatórios dos animais do grupo ligadura (B) não apresentaram alterações quando comparados aos realizados nos pré-operatórios. Os animais submetidos ao abaixamento do cólon (grupo C) apresentaram, no enema opaco, um cólon encurtado e retificado.

As tabelas I e II apresentam os resultados dos estudos histológico e farmacológico.

Tabela I - Cães dos grupos A, B e C segundo os números médios de gânglios por centímetro, células ganglionares por gânglio e por centímetro nos plexos mientéricos do cólon transversal (L1), descendente cranial (L2) e caudal (L3).

GRUPO A									
Gânglios/cm			Céls./gânglio			Céls./cm			
L1	L2	L3	L1	L2	L3	L1	L2	L3	
3,5	2,5	3,0	2,4	4,8	5,7	8,5	12,0	17,0	
3,0	2,0	3,0	3,0	4,5	6,7	9,0	9,0	20,0	
2,0	3,0	3,5	4,5	3,0	3,7	9,0	9,0	13,0	
2,0	4,0	3,0	2,5	3,4	3,3	5,0	13,5	10,0	
3,0	3,5	4,5	5,2	1,8	3,3	15,5	6,5	15,0	
2,5	3,5	3,0	1,2	2,3	1,3	3,0	8,0	4,0	
Média	2,7	3,1	3,3	3,1	3,3	4,0	8,3	9,7	13,2

GRUPO B									
Gânglios/cm			Céls./gânglio			Céls./cm			
L1	L2	L3	L1	L2	L3	L1	L2	L3	
4,0	3,0	2,0	5,0	3,2	3,0	20,0	9,5	6,0	
4,5	6,0	6,5	2,9	2,8	3,5	13,0	17,0	23,0	
3,0	2,5	4,0	2,8	4,5	3,5	8,5	10,5	14,0	
3,0	3,0	5,0	2,0	4,7	3,9	6,0	14,0	19,5	
3,5	4,5	4,5	4,6	3,4	2,1	16,0	15,5	9,5	
5,5	4,0	2,5	4,1	3,1	3,8	22,5	12,5	9,5	
Média	3,9	3,8	4,1	3,6	3,6	3,3	14,3	13,2	13,6

GRUPO C									
Gânglios/cm			Céls./gânglio			Céls./cm			
L1	L2	L3	L1	L2	L3	L1	L2	L3	
3,5	3,5	2,0	1,1	2,3	2,5	4,0	8,0	5,0	
3,0	4,0	2,5	4,0	3,2	1,6	12,0	13,0	4,0	
3,5	3,0	3,0	2,4	2,0	3,7	8,5	6,0	11,0	
3,5	3,0	4,5	4,8	2,5	3,7	17,0	7,5	16,5	
4,0	3,0	3,0	3,4	3,2	3,3	13,5	9,5	10,0	
4,0	2,5	3,0	1,8	3,0	4,7	7,0	7,5	14,0	
2,0	3,0	3,0	2,0	2,2	3,3	4,0	6,5	10,0	
3,5	3,0	2,0	5,0	2,0	5,5	17,5	6,0	11,0	
Média	3,4	3,1	2,9	3,1	2,6	3,5	10,4	8,0	10,2

**Análise de variância por postos de FRIEDMAN
(L1 x L2 x L3)
X² crít.=5,99**

GRUPO A

Gânglios/cm	Céls./gânglio	Céls. gangl./cm
X ² calc.=2,17	X ² calc.=1,33	X ² calc.=3,27

GRUPO B

Gânglios/cm	Céls./gânglio	Céls. gangl./cm
X ² calc.=0,64	X ² calc.=0,33	X ² calc.=0,00

GRUPO C

Gânglios/cm	Céls./gânglio	Céls. gangl./cm
X ² calc.=2,78	X ² calc.=4,00	X ² calc.=1,00

**Análise de variância de KRUSKAL-WALLIS
Grupos A x B x C
H crítico = 5,99**

Gânglios/centímetro

L1	L2	L3
H _{calc.} = 6,26*	H _{calc.} = 1,24	H _{calc.} = 2,88

Células/gânglio

L1	L2	L3
H _{calc.} = 0,65	H _{calc.} = 4,91	H _{calc.} = 0,18

Células/cm

L1	L2	L3
H _{calc.} = 2,54	H _{calc.} = 8,95⁸	H _{calc.} = 1,10

**Teste compara-
ções múltiplas
B > A**

**Teste compara-
ções múltiplas
B > C**

Tabela II - Cães dos grupos A, B e C segundo a concentração efetiva 50 (CE₅₀), da acetilcolina em micromolar e da resposta máxima (R_{max}), em porcentagem, da contractilidade da musculatura longitudinal do cólon tranverso (L1), descendente cranial (L2) e caudal (L3).

	GRUPO A					
	CE₅₀			R_{max}		
	L1	L2	L3	L1	L2	L3
	0,86	0,20	0,24	54,54	125,00	69,81
	0,90	0,11	0,39	66,66	83,67	75,00
	1,46	0,71	0,07	54,38	88,24	88,88
	0,68	0,97	0,10	75,00	67,35	90,32
	0,77	0,04	0,05	77,77	106,12	116,66
	0,23	0,02	0,62	63,16	83,33	94,44
Média	0,82	0,34	0,24	65,27	92,27	89,18

	GRUPO B					
	CE₅₀			R_{max}		
	L1	L2	L3	L1	L2	L3
	0,12	0,02	0,86	104,76	89,47	104,00
	0,41	0,54	0,74	90,00	70,91	128,88
	0,87	0,17	0,28	79,37	118,18	142,55
	0,11	0,15	0,32	81,25	108,60	81,96
	0,84	0,10	0,70	122,45	114,56	103,22
	0,16	0,53	0,23	97,30	101,09	118,23
Média	0,42	0,25	0,52	95,87	100,48	113,22

	GRUPO C					
	CE₅₀			R_{max}		
	L1	L2	L3	L1	L2	L3
	0,19	0,42	1,04	81,44	108,16	83,33
	0,70	0,12	0,73	54,54	114,77	60,00
	0,14	1,58	1,42	86,36	79,11	92,38
	0,20	1,87	6,36	88,00	97,24	93,54
	1,05	0,12	0,07	105,55	95,64	94,34
	2,88	1,77	2,64	97,36	118,69	140,00
	0,25	0,74	0,64	118,05	85,30	84,61
	3,26	0,02	2,70	103,03	61,65	222,81
Média	1,08	0,83	1,95	91,80	95,08	108,86

Análise de variância por postos de FRIEDMAN (L1 x L2 x L3)
 X^2 crit.=5,99

GRUPO A

CE ₅₀	R _{max}
X^2 calc.=4,33	X^2 calc.=7,00*
Teste de comparações múltiplas	
L2 e L3 > L1	

GRUPO B

CE ₅₀	R _{max}
X^2 calc.=2,33	X^2 calc.=1,00

GRUPO C

CE ₅₀	R _{max}
X^2 calc.=0,75	X^2 calc.=1,14

Análise de variância de KRUSKAL-WALLIS Grupos A x B x C
 H crítico = 5,99

L1	CE ₅₀ L2	L3
H calc.=2,74	H calc.=2,15	H calc.=8,23*
L1	R _{max} L2	L3
H calc.=9,60*	H calc.=0,86	H calc.=3,18

Teste de comparações múltiplas
 C > A

Teste de comparações múltiplas
 B e C > A

Discussão

As operações de abaixamento do colo são procedimentos usuais dentro da cirurgia pediátrica. Durante a realização desses atos operatórios, uma das preocupações do cirurgião é com a vascularização do segmento colônico abaixado, provocando a apreensão dos cirur-

giões com relação à possibilidade de redução excessiva do aporte sanguíneo ao colo abaixado. Isso é fundamentado nos relatos da literatura quanto a complicações pós-operatórias decorrentes da hipoxia tecidual provocada pela desvascularização colônica.^{4,5,7,10,12,23,28,42,46}

Com base em pesquisas experimentais, as alterações do cólon conseqüentes à sua desvascularização parecem depender da intensidade e duração da restrição vascular e promovem desde lesões agudas e reversíveis da mucosa até lesões irreversíveis, como necrose.^{9,32,33} Além disso, também têm sido referidas outras alterações, como fibrose, manifestadas tardiamente.^{9,25,31,32,33}

Nos procedimentos de abaixamento do cólon, as ligaduras vasculares realizadas provocariam uma hipoxia tecidual de baixa intensidade, que poderia causar ou não as alterações no cólon abaixado. Dessa forma, neste trabalho objetivou-se a realização do abaixamento de cólon e, em um período crônico pós-operatório, o estudo das possíveis alterações decorrentes da desvascularização colônica.

Assim, decidiu-se realizar essas operações pela técnica de abaixamento endorretal do cólon, inicialmente descrita por Soave³⁷ e, posteriormente, modificada por Boley.² Como nesse tipo de operação é necessária a ressecção da mucosa, optou-se realizar o experimento com cães, pois nesses animais a adesão entre a mucosa e a muscular é frouxa, similarmente ao homem¹³, permitindo a fácil separação dessas camadas conforme referido.²⁹ Além disso, essa escolha deveu-se ao fato de outros estudos de desvascularização^{9,20,21,25,26,30,33} e abaixamento do cólon haverem sido realizados nesses animais.^{6,8,18,22,34,38}

A fim de viabilizar o objetivo proposto, os grupos foram delineados de modo a permitir comparações entre si. O grupo controle (A) serviu para determinar os parâmetros de normalidade. O grupo ligadura (B) foi submetido à ligadura dos vasos mesentéricos caudais, tendo sua vascularização mantida pelas artérias cólica média e marginal e a irrigação retrógrada da artéria retal média¹⁴, para avaliar o efeito da desvascularização colônica sem o fator do procedimento abaixamento do cólon. O grupo abaixamento (C), além da ligadura dos vasos mesentéricos caudais, foi submetido à secção e mobilização do cólon para a operação de abaixamento, com a interrupção do aporte sanguíneo retrógrado pela artéria retal média, além do envolvimento do cólon abaixado pela capa seromuscular do reto. Esse grupo (C) permitiu estudar os efeitos, sobre o cólon abaixado, do procedimento completo da operação de abaixamento do cólon.

Em todos os grupos foram escolhidas 3 regiões do cólon (L1, L2 e L3) para as avaliações. Essa escolha das regiões teve o intuito de selecionar locais do cólon de maior para menor aporte sanguíneo, decorrente do processo de abaixamento do cólon. A diminuição da vascularização nos locais mais caudais do cólon foi mais intensa nos animais submetidos à operação de abaixamento, por não terem a irrigação retrógrada da artéria retal média.

Essas diferenças de vascularização entre os grupos e entre os 3 locais estudados do cólon permitiram a avaliação dos efeitos de diferentes graus de hipoxia tecidual. Essa avaliação, em locais com hipoxia tecidual de intensidade variável, foi baseada nos trabalhos sugerindo que as alterações do cólon dependem do grau e da duração da hipoxia a que ele é submetido.^{31,32,33}

A avaliação morfológica, pela histologia, foi concebida baseada nos relatos de alterações estruturais colônicas decorrentes da hipoxia produzida por restrição vascular ao cólon^{9,20,21,25,27,30,43} ou por hipoxemia.^{16,17,35,40} Além disso, como no pós-operatório tardio do abaixamento do colo, alguns pacientes apresentam sintomatologia sem alterações morfológicas detectáveis do colo, optou-se por adicionar uma avaliação funcional. Nessa avaliação funcional estudou-se a contractilidade da musculatura longitudinal do cólon, analisando-se a capacidade contrátil máxima (R_{max}) e a sensibilidade dessa musculatura (CE_{50}) ao estímulo pela acetilcolina. Optou-se pelo estímulo com acetilcolina porque ela é o principal neurotransmissor do sistema nervoso autônomo parassimpático, que, quando liberado na musculatura lisa do trato gastrointestinal, desencadeia um processo contrátil por atuação direta em receptores de membrana presentes nessa musculatura.^{15,39}

Além dessas avaliações, morfológica e funcional, foi avaliada a evolução clínica dos animais, complementada com o estudo radiológico do intestino grosso ao final do período de observação. O estudo radiológico foi realizado, uma vez que alterações radiológicas do cólon, em consequência de lesões causadas pela hipoxia, foram referidas.^{9,25,30,35}

Do ponto de vista clínico, tanto os animais submetidos somente à desvascularização parcial do cólon, como os submetidos à operação de abaixamento colônico, apresentaram uma boa evolução. Não se observaram sinais de constipação crônica ou incontinência fecal. Esses resultados sugerem que, se ocorreram alterações do segmento colônico abaixado, essas não foram suficientes para apresentarem manifestações clínicas. Re-

sultados semelhantes, utilizando diferentes técnicas operatórias de abaixamento do cólon, foram relatados.^{8,18,38} Já, Ito et al.²² relataram continência fecal mantida em animais submetidos ao abaixamento endorretil, porém alterada nos submetidos ao abaixamento simples do cólon, sugerindo que esses resultados antagônicos foram decorrentes das diferenças entre as 2 técnicas operatórias utilizadas. Coran et al.⁶, utilizando o método de destruição química da mucosa retal, em cães, observaram a presença de incontinência fecal em alguns animais e continência preservada em outros, porém com alteração do hábito intestinal em todos eles.

Essas diferenças, quanto ao hábito intestinal e continência fecal, referidas por autores acima, parecem estar relacionadas com a técnica operatória empregada no procedimento de abaixamento do cólon.

Ao final do período de observação pós-operatória, de 6 meses, tempo considerado suficiente para que as possíveis lesões do cólon pudessem apresentar alterações do ponto de vista radiológico, realizou-se o enema opaco. Os resultados foram considerados dentro dos padrões de normalidade, o que já era esperado, uma vez que os animais apresentaram boa evolução clínica. Esses dados sugerem que, se a hipoxia provocada pelo procedimento causou alterações do cólon, elas não foram suficientes para serem detectadas pela avaliação radiológica. Assim, também, Danis et al.⁸ e Hernández-Siverio et al.¹⁸, após abaixamento do cólon em cães, referiram achados radiológicos semelhantes aos encontrados nessa pesquisa.

Entretanto, alterações do ponto de vista radiológico, utilizando outros modelos experimentais, foram relatadas^{30,35}, em decorrência da destruição das células ganglionares pela hipoxia intensa, e como consequência da fibrose provocada pela isquemia colônica^{9,25}. Dessa forma, uma vez que alterações radiológicas consequentes à hipoxemia ou desvascularização do cólon foram descritas, pelos autores acima citados, poder-se-ia sugerir que uma maior desvascularização durante o procedimento de abaixamento do cólon poderia promover achados semelhantes.

Semelhante às avaliações clínica e radiológica, o estudo histológico também não apresentou alterações, mesmo nos locais de menor aporte sanguíneo, como no cólon distal (L3). Esse fato sugere que a hipoxia, devido às ligaduras vasculares realizadas na operação de abaixamento do cólon, foi de baixa intensidade, não tendo sido suficiente para promover alterações histológicas, detectáveis à microscopia óptica, mesmo após um

período crônico. Por outro lado, De Villiers⁹ e Marston et al.²⁵, empregando outros modelos experimentais, relataram fibrose e estenose produzidas por isquemia do cólon. Possivelmente, as alterações relatadas por esses autores foram decorrentes da diminuição mais intensa do aporte de oxigênio aos tecidos, devido ao modelo de isquemia utilizado.

Considerando-se a susceptibilidade das células ganglionares à diminuição do aporte de oxigênio³ e as descrições de sua destruição pela hipoxia, por numerosos autores^{20,21,27,35,43}, neste estudo, deu-se ênfase à análise do plexo mientérico.

No estudo dos plexos mientéricos, à microscopia óptica, não foram encontradas alterações qualitativas das células ganglionares. Da mesma maneira, na análise quantitativa (Tabelas I), não se encontraram diminuições significantes no número de células ganglionares, nos animais submetidos ao abaixamento de cólon, quando comparados aos animais controle, mesmo nos segmentos mais desvascularizados do cólon. Os achados desse trabalho corroboraram os que referiram serem as células ganglionares normais após o abaixamento de cólon, em cães.^{8,18,22} Esses resultados sugerem que a hipoxia tecidual, decorrente das ligaduras vasculares necessárias à realização do abaixamento de cólon, não foi suficiente para causar destruição ou alterações morfológicas das células ganglionares nos plexos mientéricos, mesmo em um tempo de observação crônico.

Porém, considerando que destruição experimental dos plexos mientéricos foi induzida por comprometimento vascular de maior intensidade^{20,21,27,35,43}, não pode ser totalmente descartada a ocorrência de dano das células nervosas intramurais do cólon abaixado, quando associado à maior desvascularização do cólon durante a operação de abaixamento, seja ela devido à falha técnica ou à anomalia vascular do segmento colônico.

Assim, também, não se pode descartar a possibilidade de que alguma doença, que produza hipovolemia, provoque lesão estrutural do segmento colônico parcialmente desvascularizado para a operação de abaixamento de cólon. Esse fato, pode ser sugerido com base no relato de Matthews e Parks²⁶ que demonstraram, experimentalmente, que a hipovolemia induz a lesões em um segmento colônico parcialmente desvascularizado.

Apesar do abaixamento endorretal do cólon ter apresentado bons resultados clínicos e ausência de alterações histológicas do plexo mientérico, detectáveis à microscopia óptica, a avaliação funcional, utilizando

método farmacológico, pôde detectar alterações significantes quanto à contractilidade do segmento colônico abaixado.

Essa alteração da contractilidade pôde ser observada quando se fez a análise dos resultados da CE₅₀ (Tabela II), que mostrou a presença de menor sensibilidade à acetilcolina dos segmentos caudais do cólon descendente (L3), nos animais submetidos à desvascularização parcial do cólon e nos submetidos à operação de abaixamento colônico, quando comparados aos animais controle. Essa diminuição de sensibilidade à acetilcolina foi significativa, no local de maior desvascularização do cólon, representado pelo local do cólon descendente caudal (L3) dos animais submetidos à operação de abaixamento. Assim, esses dados sugerem a correlação entre o maior grau de hipoxia tecidual e a diminuição da sensibilidade contrátil do cólon à acetilcolina.

Por outro lado, a hipoxia, provocada pela operação de abaixamento do cólon, não alterou a capacidade máxima contrátil da musculatura longitudinal do cólon quando estimulada pela acetilcolina.

Dessa maneira, observou-se que na operação de abaixamento do cólon, mesmo na ausência de manifestações clínicas ou alterações estruturais do cólon, o teste de contractilidade do segmento colônico abaixado revelou a existência de distúrbios funcionais. Além disso, esse comprometimento funcional pôde ser relacionado à hipoxia tecidual, pois a maior alteração foi detectada no local de menor vascularização do cólon abaixado (L3), sugerindo, assim, que maior será a possibilidade de ocorrerem alterações funcionais quanto maior for a desvascularização realizada nessas operações.

Considerando que esses resultados foram observados em animais aparentemente saudáveis, há de se admitir que a realização da operação de abaixamento do colo em pacientes com doença de base preexistente pode promover alterações maiores do que as referidas neste trabalho.

Os achados desta pesquisa sugerem que, na realização dessas operações, deve-se atentar para minimizar ao máximo a desvascularização do segmento colônico a ser abaixado, com o intuito de diminuir a possibilidade de causar alterações funcionais no cólon abaixado, no período pós-operatório.

6. Conclusão

No cão, a desvascularização da operação de abaixamento do cólon promove diminuição da sensibilidade contrátil, à acetilcolina, da musculatura do cólon.

Referências bibliográficas:

1. Ariëns EJ & Van Rossun JJM. pD_x, Pax and Pd'_x values in the analysis of pharmacodynamics. *Arch Intern Pharmacodyn* 1957; 110:275-99.
2. Boley SJ. New modification of the surgical treatment of Hirschsprung's disease. *Surgery* 1964; 56:1015-7.
3. Cannon WB & Burket IR. The endurance of anemia by nerve cells in the myenteric plexus. *Amer J Physiol*; 1913; 32:347-57.
4. Cogbill TH & Lilly JR. Acquired aganglionosis after Soave's procedure for Hirschsprung's disease. *Arch Surg* 1982; 117:1346-7.
5. Cohen MC, Moore SW, Neveling U; Kaschula ROC. Acquired aganglionosis following surgery for Hirschsprung's disease: a report of five cases during a 33-year experience with pull-through procedures. *Histopathology* 1993; 22:163-8.
6. Coran AG, Strodel WE, Heidelberg K. A simplified approach to endorectal pull-through: the feasibility of chemically destroying rectal mucosa. *Int Surg* 1984; 69:81-4.
7. Dajani OM, Slim MS, Mansour A. Acquired hypoganglionosis after Soave endorectal pull-through procedure: a case report. *Z Kinderchir* 1986; 41:248-9.
8. Danis RK, Tippet JC, Brodeur AE. Rectal mucosa stripping with abdominoperineal pull-through procedure: an anatomic and physiologic study. *J Pediatr Surg* 1969; 4:24-30.
9. De Villiers DR. Ischaemia of the colon: an experimental study. *Br J Surg* 1966; 53:497-503.
10. Dimler M. Acquired Hirschsprung's disease. *J Pediatr. Surg* 1981; 16:844-5.
11. Dixon KC. Cerebral vulnerability to ischaemia. *Lancet* 1967; 2:289-90.
12. Ehrenpreis TH. Acquired megacolon as a complication of recto-sigmoidectomy for Hirschsprung's disease. *Arch Dis Child* 1965; 40:180-2.
13. Evans HE. The digestive apparatus and abdomen. In: Miller ME. *Anatomy of the dog*. 3 ed. Philadelphia, W.B. Saunders, 1993. p.385-462.
14. Ghoshal NG. Coração e artérias do carnívoro. In: Getty R. *Anatomia dos animais domésticos*. 5 ed. Rio de Janeiro, Interamericana, 1981. v. 2, p.1497-550.
15. Goyal RK. Muscarinic receptor subtypes: physiology and clinical implications. *N Engl J Med* 1989; 321(15):1022-9.
16. Harrison MW, Connell RS, Campbell JR, Webb MC. Microcirculatory changes in the gastrointestinal tract of the hypoxic puppy: an electron microscope study. *J Pediatr Surg* 1975; 10:599-608.
17. Harrison MW, Connell RS, Campbell JR, Webb MC. Fine structural changes in the gastro-intestinal tract of the hypoxic puppy: a study of natural history. *J Pediatr Surg* 1977; 12:403-8.
18. Hernández-Siverio N, Gómez MA, Méndez M, Friend H, González F. Endorectal pull-through with conservation of the rectal mucosa: experimental study. *J Pediatr Surg* 1987; 10:973-5.
19. Hollander M & Wolfe DA. *Nonparametric statistical methods*. New York, John Wiley & Sons, 1973. 503 p.
20. Hukuhara T, Kotani S, Sato G. Effects of destruction of intramural ganglion cells on colon motility: possible genesis of congenital megacolon. *Jpn J Physiol* 1961; 11:635-40.
21. Hukuhara T, Siina H, Fukuda H. Effects of destruction of intramural ganglion cells on the motility of the ileocecolic region. *Jpn J Physiol* 1965; 15:648-52.
22. Ito Y, Yokoyama J, Namba S, Morikawa Y, Katsumata K. Reappraisal of endorectal pull-through procedure II: animal experiment. *J Pediatr Surg* 1981; 16:655-9.
23. Kiesewetter WB, Sukarochana K, Sieber WK. The frequency of aganglionosis associated with imperforate anus. *Surgery* 1965; 58:877-80.
24. Luna LG. *Manual of histologic staining methods of the A.F.I.P.* 3 ed. New York, 1968, p.370.
25. Marston A, Marcuson RW, Chapman M, Arthur JF. Experimental study of devascularization of the colon. *Gut* 1969; 10:121-30.
26. Matthews JGW & Parks TG. Ischaemic colitis in the experimental animal II: role of hypovolaemia in the production of the disease. *Gut* 1976; 17:677-84.
27. McElhannon FM. Experimental production of megacolon resembling Hirschsprung's disease. *Surg Forum* 1960; 10:218-21.
28. Moore SW, Millar AJW, Cywes S. Long-term clinical, manometric and histological evaluation of obstructive symptoms in the postoperative Hirschsprung's patient. *J Pediatr Surg* 1994; 29:106-11.
29. Nigro AJT. *Restauração do diafragma com segmento pediculado de intestino delgado (Túnicas muscular e serosa): estudo experimental em cães*. [Tese de Doutorado]. São Paulo, (SP): Escola Paulista de Medicina; 1972.

30. Okamoto E, Iwasaki T, Kakutani T, Ueda T. Selective destruction of the myenteric plexus: its relation to Hirschsprung's disease, achalasia of the esophagus and hypertrophic pyloric stenosis. *J Pediatr Surg* 1967; 2:444-54.
31. Robinson JW, Rausis C, Mirkovitch V. The response of the dog colon to ischaemia. *Br J Surg* 1972a; 59:314-5.
32. Robinson JW, Rausis C, Basset P, Mirkovitch V. Functional and morphological response of the dog colon to ischaemia. *Gut* 1972b; 13:775-83.
33. Robinson JW, Mirkovitch V, Winistörfer B, Saegesser F. Response of the intestinal mucosa to ischaemia. *Gut* 1981; 22:512-27.
34. Satomura K, Hang-Long Z, Ohnishi S, Kumada K, Kisaka Y, Yamazaki H, et al. Follow-up study of the endorectal pull-through operation for the treatment of Hirschsprung's disease, with special reference to intestinal anastomosis. *Surgery* 1974; 76(4):581-6.
35. Scaro IF. Destrucción experimental de los plexos de Meissner y Auerbach mediante hipoxia. *Rev Goiana Med* 1970; 16:23-30.
36. Siegel S & Castellan Jr NJ. *Nonparametrics statistics*. 2ed. New York: Mc Graw-Hill Int., 1988.
37. Soave F. Hirschsprung's disease: a new surgical technique. *Arch Dis Child* 1964; 39:116-24.
38. Swenson O & Bill Jr AH. Resection of rectum and rectosigmoid with preservation of the sphincter for benign spastic lesions producing megacolon: an experimental study. *Surgery* 1948; 24:212-20.
39. Taylor P. Colinegics agonists. In: Gillman AG, Rall TW, Nies AS. *The pharmacological basis of therapeutics*. 8 ed. New York: 1990. p.79-84.
40. Touloukian RJ, Posch JN, Spencer R. The pathogenesis of ischemic gastroenterocolitis of the neonate: selective gut mucosal ischemia in asphyxiated neonatal piglets. *J Pediatr Surg* 1972; 7:194-205.
41. Touloukian RJ & Duncan R. Acquired aganglionic megacolon in a premature infant: report of a case. *Pediatrics* 1975; 56(3):459-62.
42. Towne BH, Stocker JT, Thompson HE, Chang JHT. Acquired aganglionosis. *J Pediatr Surg* 1979; 14:688-90.
43. Tubino PJG. Produção experimental de megacolo semelhante doença de Hirschsprung. [Tese de Doutorado], São Paulo (SP): Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo; 1972.
44. Tubino PJG. Doença de Hirschsprung: etiopatogenia por restrição vascular uterina durante a gravidez: estudo experimental. [Tese de Livre-Docência]. São Paulo (SP): Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo; 1978.
45. Van Rossum JM. Cumulative dose-response curves II: technique for the making of dose-response curves in isolated organs and the evaluation of drug parameters. *Arch Intern Pharmacodyn* 1963; 143:299-330.
46. West KW, Grosfeld JL, Rescorla FJ, Vane DW. Acquired aganglionosis: a rare occurrence following pull-through procedures for Hirschsprung's disease. *J Pediatr Surg* 1990; 25:104-9.

Endereço para correspondência:

José Antonio de Souza.

Rua: Vidal Ramos, 224.

Edifício: Jaime Linhares - Ap.805.

CEP: 88010-320.

Fone: 222-6736.

E-mail: jose.souza@brturbo.com