

TEMA: Cirurgia

VIABILIDADE DA OMENTALIZAÇÃO EM FERIDAS CUTÂNEAS INDUZIDAS EM RATOS WISTAR

Isabella Reis Santiago¹; Ana Clara Diniz Silva¹; Larissa da Fonseca Tavares¹; Luana Papalardo Brandão¹; Guilherme Nascimento Cunha²

¹Acadêmicas do Curso de Medicina do Centro Universitário de Patos de Minas;

²Docente do curso de Medicina do Centro Universitário de Patos de Minas.

E-mail para contato: isa_bellasantiago@hotmail.com

RESUMO

O processo de cicatrização vem sendo estudado durante anos, a fim de encontrar alternativas e substâncias que possam auxiliar este processo. O omento possui propriedades relacionadas à drenagem linfática, angiogênese, adesão, hemostasia e armazenamento de gordura. Neste sentido, este estudo objetivou a avaliação da viabilidade da omentalização em feridas cutâneas induzidas em ratos Wistar. Foram utilizados 15 ratos, machos, hígidos com peso entre 200 a 250g submetendo-os a duas incisões: a Ferida Controle tratada com solução fisiológica a 0,9% e a Ferida Teste tratada com a omentalização. Os animais foram subdivididos em três subgrupos para realização da biópsia nos dias 3, 7 e 14 pós-operatórios. Avaliaram-se as feridas microscopicamente nos períodos pré-determinados, realizando-se cortes histológicos corados por Hematoxilina Eosina (H.E) e Tricômico de Masson (T.M). As alterações histopatológicas resumem-se em elementos celulares inflamatórios incluindo fibroblastos, colagenização (fibras colágenas), células inflamatórias e epitelização. As Feridas Controle apresentaram melhores resultados na epitelização e colagenização, apesar das Feridas Teste apresentarem maior número de fibroblastos em todas as fases do estudo (3°, 7° e 14° dias pós-operatório). Assim, a cicatrização por omentalização não se mostrou mais efetiva que o tratamento farmacológico, visto que se observou um retardo do processo de cicatrização das Feridas Teste.

PALAVRAS-CHAVE: Cicatrização. Ferimentos e Lesões. Omento. Ratos.

INTRODUÇÃO

A pele é responsável pela primeira barreira de proteção do organismo contra agentes externos e por isso está sujeita a constantes agressões, tornando sua capacidade de reparação muito importante para a sobrevivência (ARAÚJO, 2010). O processo de reparação tecidual é dividido em fases, de limites não muito distintos, mas sobrepostas no tempo: hemostasia; fase inflamatória; formação do tecido de granulação, com deposição de matriz extracelular (colágeno, elastina e fibras reticulares) e remodelação (MENDONÇA, COUTINHO-NETTO, 2010).

Sabe-se que vários fatores, locais e sistêmicos afetam adversamente a cicatrização das feridas (FERREIRA et al., 2008). O omento tem sido empregado em diversas utilizações cirúrgicas como

defeitos de preenchimento, zonas de elevado risco de infecção pós-operatório e na reconstrução de paredes quando há risco de isquemia (KOPPE et al., 2014). Além disso, essa estrutura tem relação direta sobre drenagem linfática, angiogênese, adesão, hemostasia e armazenamento de gordura, além do uso de retalhos omentais em cicatrização de feridas crônicas e tratamento de lesão aguda da medula espinhal (KARL e DUPRÉ, 2012)

No entanto, estudos utilizando o omento no auxílio de cicatrização de feridas cutâneas são escassos e os existentes revelam boa resposta terapêutica e resultados favoráveis, sendo visualizado melhora e até mesmo cicatrização completa em feridas crônicas (FERREIRA et al., 2008)

OBJETIVOS

Avaliar a viabilidade da omentalização em feridas cutâneas induzidas em ratos Wistar.

MATERIAIS E MÉTODOS

O presente estudo foi realizado utilizando-se ratos provenientes do Biotério do Centro Universitário de Patos de Minas – UNIPAM, Patos de Minas, MG. Os animais foram acondicionados em mini-isoladores, contendo um rato cada, acoplados a uma rack ventilada. A alimentação e água foram fornecidas ad libidum. A cama foi de maravalha de pinus. O projeto foi executado após a aprovação do CEUA.

Foram utilizados 15 ratos, hípidos, machos as 45 dias de vida com peso variando de 200 a 250 gramas. Estes foram submetidos a duas incisões sendo a primeira a Controle, tratada com solução fisiológica a 0,9% e a segunda a Teste, a qual foi tratada com omentalização cirúrgica. Os animais foram divididos em três grupos compostos por cinco animais cada sendo: G1 –biopsiado ao 3º dia pós omentalização, o G2 - aos sete dias do procedimento cirúrgico e o G3 - aos 14 dias após a omentalização.

Após contenção manual, os animais foram submetidos à anestesia dissociativa injetável, utilizando midazolam 2mg/kg, cloridrato de xilazina 10mg/kg e cloridrato de cetamina 70mg/Kg, por via intraperitoneal (IP). Foi realizada a analgesia com tramadol 8mg/kg via subcutânea (SC).

Em seguida os animais foram posicionados e foi realizada ampla tricotomia, na região ventral. Posteriormente, foi realizada antissepsia do campo cirúrgico com iodo povidona a 0,2%. Foi realizada, então as áreas das incisões circulares em hipocôndrio e flanco direito dos animais utilizando-se um key punch de 1cm de diâmetro. Seguindo a demarcação foram realizadas as incisões circulares nas áreas delimitadas transpassando a pele e o subcutâneo, realizando a exérese do fragmento da pele, expondo a fáscia dorsal muscular.

Realizou-se também laparotomia com incisão pré-umbilical de aproximadamente 3 centímetros. Incidiu-se pele, subcutâneo, linha alba e peritônio com auxílio de bisturi (cabo nº 3 e lâmina nº 15). O omento foi identificado e exteriorizado através da incisão, abrindo-se um túnel subcutâneo entre a laparotomia abdominal até a região do hipocôndrio direito, local da ferida teste. A musculatura foi fechada com ponto chuleio simples com fio poligalactina 910, 3-0. A sutura de pele deu-se com chuleio simples com fio nylon, 3-0. A região foi coberta com gaze estéril.

O omento foi então suturado no tecido subcutâneo e nas bordas da ferida previamente realizada com pontos simples interrompidos, com fio poligalactina 910, 3-0. Em seguida, os animais foram devidamente identificados com uso de brincos de metal e colocados em minis isoladores individuais. O curativo tópico nos animais foi realizado diariamente, sempre no mesmo período e pelo mesmo pesquisador sem necessidade de anestesia. O rato foi submetido a dois curativos: a Ferida Controle e a Teste foram tratadas com solução fisiológica 0,9% e curativo com bandagem compreensiva, feita com crepom e esparadrapo para fazer a imobilização desta. Nos três primeiros dias do pós-operatório foi administrado dipirona sódica na dose de 300mg/kg, por via subcutânea, uma vez ao dia, para analgesia e controle da dor.

Findado o 3º, 7º e 14º dia pós-incisão, os animais de cada grupo foram submetidos à biopsia da ferida/cicatriz, utilizando-se bisturi nº3 por meio de uma incisão elíptica retirando-se todo o tecido cicatricial. A amostra foi armazenada em frasco devidamente identificado e fixada em solução de formaldeído a 10% tamponada. Os fragmentos das biopsias foram encaminhados ao Laboratório de Histopatologia do Centro Clínico Veterinário (CCV). Imediatamente após a biopsia e com os animais ainda sob anestesia, os mesmos foram colocados em câmara de CO₂ a 5L/min por 10 minutos, para realização da eutanásia.

As amostras histopatológicas foram desidratadas e emblocadas em parafina. Em seguida, foram realizados os cortes histológicos com 5µm de espessura e fixadas nas lâminas.

foram coradas com Hematoxilina Eosina (HE) para avaliar globalmente o tecido e pelo Tricômico de Masson (TM) para avaliação das fibras colágenas.

Nas observações de microscopia óptica, em lentes de 40X e 100X, foram avaliados fibroblastos e a colagenização (fibras colágenas), em que foram atribuídas três graduações pelo método de cruzes: o ausente, + moderada e ++ acentuada. Referente à presença de células inflamatórias, sendo realizada a média entre 10 campos. A avaliação da organização das fibras colágenas deu-se em: desorganizadas, organizadas parcialmente ou completamente. Para a reepitelização tecidual: o ausente, + parcial e ++ completa.

RESULTADOS

De acordo com as análises histopatológicas, especificamente a presença de células inflamatória no grupo com 3 dias de cicatrização (G1), não foi demonstrado diferença significativa do número de células inflamatórias nas Feridas Teste e Controle nos dois grupos analisados (Tabela 01). Entretanto ao avaliar G2 e G3, estes mostraram que na Ferida Teste houve maior presença de células inflamatórias.

Tabela 01- Média, desvio padrão e mediana da média de 10 campos de células inflamatórias observadas nas Feridas Controle e Teste ao 3º, 7º e 14º dia, Patos de Minas, MG, 2018.

Média de Células Inflamatórias			
Grupos	Mediana	Desvio Padrão	Média
3 dias (G1) – Ferida Teste	5,8	1,41	5,0
3 dias(G1) – Ferida Controle	4,0	1,69	4,0
7 dias (G2) – Ferida Teste	7,1	2,51	6,0
7 dias (G2) – Ferida Controle	2,8	0,31	3,1
14 dias (G3) – Ferida Teste	3,5	0,76	4,0
14dias (G1) – Ferida Controle	1,1	0,25	1,2

Além disso, as Feridas Teste mostraram-se com maior número de fibroblastos do que nas encontrados nas Feridas Controle em todas as fases do estudo (3º, 7º e 14º dias pós operatório), como demonstrados na Tabela 2. Conforme Huyghe (2015) o omento possui células que apresentam fatores pró-angiogênicos, como os fatores de crescimento de fibroblastos e o vascular endotelial assim como promovem angiogênese in vivo, o que contribui para uma mais rápida revascularização.

Tabela 02- Média, desvio padrão, coeficiente de variação e mediana da média de 10 campos de fibroblastos observadas nas Feridas Controle e Teste ao 3º, 7º e 14º dia, Patos de Minas, MG, 2018.

ANÁLISE DE QUANTIDADE DE FRIBLOBLASTOS			
GRUPOS	DESVIO PADRÃO	MEDIANA	MÉDIA
3 dias (G1) – Ferida Teste	1,414213562	6	7,0
3 dias(G1) – Ferida Controle	2,236067977	3	3,0
7 dias (G2) – Ferida Teste	1,414213562	6	7,0
7 dias (G2) – Ferida Controle	3,633180425	5	6,2
14 dias (G3) – Ferida Teste	4,494441011	5	7,2
14dias (G1) – Ferida Controle	0,894427191	4	6,4

Sobre a colagenização, no 3º dia teve um discreto aumento biológico na Ferida Teste quando comparado a Ferida Controle, mas quando avaliado o 7º e 14º dias, observou-se uma inversão, onde a Ferida Controle se sobressaiu, demonstrando maior quantidade de fibras de colágeno (Tabela 3).

Tabela 03- Média, desvio padrão, coeficiente de variação e mediana da média de 10 campos de colágeno observadas nas Feridas Controle e Teste ao 3º, 7º e 14º dia, Patos de Minas, MG, 2018.

Análise de Fibras Colágenas

Grupos	Desvio Padrão	Mediana	Média
3 dias (G1) – Ferida Teste	0,547722558	5	4,8
3 dias(G1) – Ferida Controle	1,923538406	2	2,8
7 dias (G2) – Ferida Teste	0,836660027	2	1,8
7 dias (G2) – Ferida Controle	0,836660027	3	3,2
14 dias (G3) – Ferida Teste	3,563705936	4	5,8
14dias (G1) – Ferida Controle	1,303840481	7	7,2

Referente à epitelização, no 3º dia (G1), a Ferida Controle apresentou uma resposta melhor do que na Ferida Teste. Já no 7º dia (G2) tanto a Ferida Controle quanto a Ferida Teste, apresentaram epitelização parcial de 100% dos animais. No 14º dia (G3) a Ferida Controle se sobressaiu novamente sobre a Ferida Teste, tendo epitelização completa em 80% dos animais enquanto a Ferida Teste demonstrou em apenas 60% dos mesmos. Essas alterações encontram-se descritas na Tabela 4.

Tabela 04 - Frequência relativa (%) referente à Epitelização observadas nas Feridas Controle e Teste ao 3º, 7º e 14º dia, Patos de Minas, MG, 2018.

Tempo cirúrgico	pós- Epitelização	Epitelização		
		Ausente	Parcial	Completa
3º dia				
Controle	80%	20%	0%	
Teste	90%	10%	0%	
7º dia				
Controle	0%	100%	0%	
Teste	0%	100%	0%	
14º dia				
Controle	0%	20%	80%	
Teste	0%	40%	60%	

DISCUSSÃO

Conforme Doom *et al.* (2014), as propriedades imunitárias e de fatores angiogênicos e neutrótróficos do omento deveriam gerar uma melhor resposta cicatricial, com menor número de células inflamatórias. Entretanto, os dados do presente estudo demonstraram que independentemente dessas características do omento, o mesmo apresentou maior grau de inflamação em todas as fases de cicatrização, quando comparado à cicatrização da ferida controle. Além disso, sabe-se que o colágeno é a proteína mais abundante do tecido conjuntivo em fase de cicatrização segundo Oliveira, Soares e Rocha (2010), Barros *et al.* (2015) e Moresk, Mello e Bueno (2018). A ativação dos fibroblastos para sintetizar o colágeno é derivada de fatores de crescimento e das próprias condições metabólicas da ferida. Portanto, o menor valor encontrado nas Feridas Teste, é prejudicial ao processo de cicatrização, atrasando o mesmo.

Avaliando todos os dados descritos, observou-se que mesmo com o maior número de fibrinogênios encontrados, houve um atraso no processo de cicatrização das Feridas Teste quando comparadas à Controle. Este fato deve-se provavelmente ao trauma constante (ciclo prurido-arranhão) sobre a mesma, o qual desencadeou aumento da liberação de células inflamatórias. Esta hipótese é reforçada pelo fato de que quando avaliada a produção de fibras de colágeno, as feridas Teste do 3º dias, se mostraram com resultado superior às das feridas Controle, o que é o esperado, visto que o fibrinogênio atua diretamente na produção do colágeno, e esse se encontrou aumentado durante todo o estudo.

Entretanto, houve uma diminuição da produção das fibras de colágeno conforme foi ocorrendo a manutenção das células inflamatórias, mostrando que a persistência da inflamação prejudicou a

produção destas. Isso justificaria o porquê de mesmo a Ferida Teste ter apresentado um maior valor de fibrinogênio ela não ter apresentado uma evolução satisfatória, resultando em atraso da epitelização.

CONCLUSÃO

A cicatrização por omentalização não se mostrou mais efetiva que o tratamento farmacológico para cicatrização de feridas, uma vez que se observou um retardo do processo de cicatrização das Feridas Teste.

Sugerem-se estudos futuros com diferentes locais de acessos para realização da ferida associada ao flap de omento.

REFERÊNCIAS

AGNOL, M. A. D. **Estudo comparativo entre os efeitos biomodeladores do led e do laser em feridas cutâneas de ratos portadores de diabetes induzido**. Dissertação. São José dos Campos (BRA): UVP; 2008.

ARAUJO, *et al.* **Tecido conjuntivo**. Laboratório de Anatomia Animal Universidade Federal de Goiás - Regional Jataí, 2015.

ARAUJO, Adjanna Karla Leite. **Aspectos morfológicos do processo de cicatrização induzido por *Ouratea sp.*** Fortaleza, 2010.

BATISTA, Fábio. **Tratamento de feridas: cicatrização e curativos**. São Paulo: Leitura Médica Ltda., 2012.

CHILDS, D. R.; MURTHY, A. S. **Overview of Wound Healing and Management**. Surg Clin North Am.;97(1):189-207 2017

FERREIRA, C. P.; BATISTA, N. C.; DE LIMA, S. G. *et al.* **VII Simpósio de Produção Científica e IV Seminário de Iniciação Científica**, Teresina-PI – Brasil, 2007.

FERRIGNO *et al.* Retalho de omento maior para indução de vascularização e consolidação óssea em cão. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.40, n.9, p.2033-2036, set, 2010

GOLDSMITH H.S. **Treatment of acute spinal cord injury by omental transposition: a new approach**. Journal of the American College of Surgeons, 208:289-292, 2009.

Karl S.; Dupré G. Omentalisation of the head in cats: a cadaver study. **Journal of Feline Medicine and Surgery**, 14:295-298, 2012

MANAY, P. *et al.* Pedicled omental and split skin graft in the reconstruction of the anterior abdominal wall. **International Journal of Surgery Case Reports**, 5:161-163, 2014

Marques, K. C. S., **Terapia com ozônio e laser de baixa potência na cicatrização por segunda intenção de ferida cutânea em equinos**. Orientação de Antônio Raphael Teixeira Neto. Brasília, 2015.

MENDONÇA, R. J.; COUTINHO-NETTO, J. Aspectos celulares da cicatrização. **An. Bras. Dermatol.**, Rio de Janeiro, v. 84, n. 3, Julho 2009 . DOI: 10.1590/S0365- 05962009000300007.

MMMEDEIROS, A. C.; DANTAS FILHO, A. M., **Cicatrização das feridas cirúrgicas**. J Surg Cl Res – Vol. 7 (2) 87-1022016.

OLIVEIRA, I. V. P. M.; DIAS, R. V. C., Cicatrização de feridas: fases e fatores de influência, **Acta Veterinaria Brasilica**, v.6, n.4, p.267-271, 2012.

Paganela J. C., Ribas L. M., Santos C. A., Feijó L. S., Nogueira C. E. W.; FERNANDES, C. G. **Abordagem clínica de feridas cutâneas em equinos**. RPCV. 104(569-572):13-18. 2009.

SANTOS, J. S, VIEIRA, A. N. D., KAMADA, I. V. A. Rosa Mosqueta no tratamento de feridas abertas: uma revisão Treatment of open wounds using Mosqueta Rose: a review. **Revista Brasileira de Enfermagem**, v.62, p.457-462, 2009.

SARANDY, M. M. **Avaliação do efeito cicatrizante do extrato de repolho (Brassica oleracea var. capitata) em ratos wistar**. Dissertação de mestrado, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa. 49p. 2007

SCHUGART, R. C. *et al.* **Wound angiogenesis as a function of oxygen tension: a mathematical model**. Proc Natl Acad Sci USA, 105:2628–33. . 2008

SOUSA, E. N. L. **Manejo de feridas**. Relatório Final de Curso Licenciatura em Enfermagem Veterinária. Ponte de Lima, Dezembro 2010.

TAVARES F.M.O., *et al.* Retalho de omento: uma alternativa em cirurgia reparadora da parede torácica. **Revista Brasileira de Cirurgia Plástica**, 26:360-365, 2011.

TAZIMA, M. F. G. S.; VICENTE, Yvone Avalloni de Moraes Villela de Andrade; MORIYA, T. **Biologia da ferida e cicatrização**. (Ribeirão Preto) 2008; 41 (3): 259-64.

YEHA, Zakaria, *et al.* Use of the Greater Omentum Flap for Reconstruction of Deep Sternotomy Wounds. **Plast. Reconstr. Surg.**, Vol. 34, No. 2, July: 227-232, 2010

ZAHA, H. *et al.* Free omental flap for partial breast reconstruction after breast-conserving surgery. **Plastic and Reconstructive Surgery**, 129:583-587, 2012.