

## Enxerto de submucosa porcina no tratamento de lesões duodenais em cães<sup>1</sup>

### Porcine submucosa graft for the treatment of duodenal injuries in dogs

Zacarias Alves de Souza Filho<sup>2</sup>, Fernando Hintz Greca<sup>3</sup>, Sergio Luiz Rocha<sup>4</sup>, Sergio Ossamu Ioshii<sup>5</sup>, Ana Carolina Domanski<sup>6</sup>, Diogo Kfoury<sup>6</sup>, Priscila Dall Prá Campos<sup>6</sup>, Ruy Fernando Kuenzer Caetano da Silva<sup>6</sup>

1. Disciplina de Técnica Operatória e Cirurgia Experimental da Pontifícia Universidade Católica do Paraná.
2. Professor Titular de Clínica Cirúrgica, Disciplina de Técnica Operatória e Cirurgia Experimental e do Programa de Pós-Graduação em Clínica Cirúrgica da Pontifícia Universidade Católica do Paraná.
3. Professor Titular e Coordenador da Disciplina de Técnica Operatória e Cirurgia Experimental e do Programa de Pós-Graduação em Clínica Cirúrgica da Pontifícia Universidade Católica do Paraná e Prof. Adjunto da Disciplina de Cirurgia Geral da UFPR.
4. Prof. Adjunto da Disciplina de Anatomia Médica da PUCPR e UFPR. Prof. Adjunto da Disciplina de Técnica Operatória e Cirurgia Experimental da PUCPR e do Programa de Pós-Graduação em Clínica Cirúrgica. Doutor em Clínica Cirúrgica pela UFPR.
5. Professor da Disciplina de Patologia Experimental da Pontifícia e do Programa de Pós-Graduação em Clínica Cirúrgica da Universidade Católica do Paraná.
6. Acadêmicos do curso de Medicina da Disciplina de Técnica Operatória e Cirurgia Experimental da Pontifícia Universidade Católica do Paraná.

#### RESUMO

**Objetivo:** Avaliar a biocompatibilidade e a eficiência da SID (submucosa de intestino delgado) porcina, quando usada como enxerto para reparar lesões duodenais. **Métodos:** O estudo experimental foi realizado em oito cães. Um segmento da parede da segunda porção do duodeno foi ressecada e a lesão foi reparada com um enxerto de submucosa de intestino delgado porcina. No 120º dia de pós-operatório os animais foram submetidos a eutanásia e o segmento do duodeno com o enxerto foi retirado para avaliações macroscópica e microscópica. **Resultados:** Não houve infecção, deiscência da sutura ou fístula. O estudo microscópico revelou completa re-epitelização em 75% dos casos, com proliferação fibroblástica moderada em 87,5% dos casos. **Conclusão:** A SID porcina é um enxerto eficaz para reparo de lesões com perda de substância em duodeno de cães.

**Descritores:** Transplantes. Lesões. Duodeno. Experimentação animal. Cães.

#### ABSTRACT

**Purpose:** To evaluate the biocompatibility and effectiveness of porcine SIS (small intestinal submucosa), when used as a patch to repair a defect on the anterior duodenal wall. **Methods:** The experimental study was performed in 8 dogs. A segment of the anterior duodenal wall was removed and the defect was repaired with a patch of porcine intestinal submucosa. On the 120<sup>th</sup> post operative day the animals were sacrificed and the segment of duodenum containing the patch was removed to a macroscopic and microscopic evaluation. **Results:** There was no infection, suture dehiscence or fistula. The microscopic evaluation showed complete re-epithelization in 75% of the cases, with moderate fibroblastic proliferation in 87, 5% of the cases. **Conclusion:** The porcine SIS used as a patch acts as a tissue substitute for repairing induced lesions in duodenal wall of dogs. **Key words:** Transplants. Injuries. Duodenum. Animal experimentation. Dogs.

**Key words:** Transplants. Injuries. Duodenum. Animal experimentation. Dogs.

#### Introdução

O duodeno é a porção do sistema digestório cujo nome deriva da palavra latina *duodeni*, a qual traduz sua extensão de aproximadamente doze polegadas. Estende-se do piloro à flexura duodenojejunal, dividindo-se em quatro porções: superior ou primeira; descendente ou segunda; inferior ou terceira e ascendente ou quarta<sup>1</sup>. Diferentemente do restante do intestino delgado, o duodeno, no homem, é fixo aos planos profundos, apresentando íntima conexão com o pâncreas e com os ductos secretórios biliares e pancreáticos que nele desembocam<sup>2</sup>.

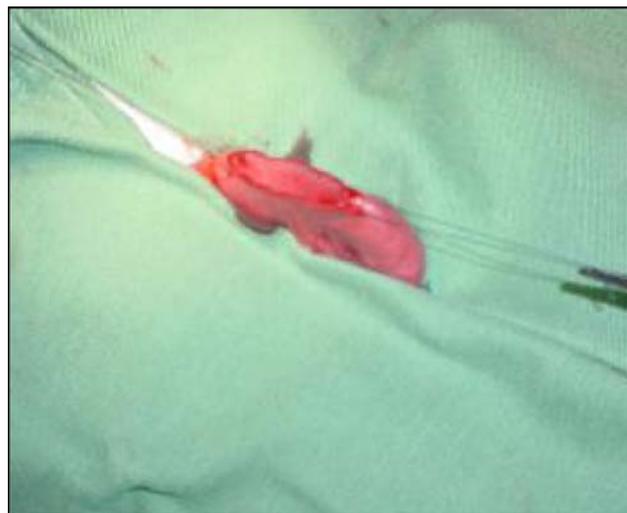
Em sua porção caudal, a face posterior não apresenta revestimento peritoneal, sendo este um dos fatores que maior vulnerabilidade confere ao órgão. Há também, outros fatores adversos à cicatrização e que favorecem a ocorrência de deiscência de suturas e a formação de fístulas: a) pouca mobilidade, por fixação ao pâncreas e aos ductos acima referidos; b) implantação em sua segunda porção dos ductos biliar e pancreático, que além de comprometer a mobilidade, lançam em sua luz um grande volume de secreções ricas em enzimas digestivas; c) relativa fragilidade de suas paredes que não suportam com solidez as suturas<sup>3</sup>. As graves complicações que freqüentemente envolvem os

procedimentos cirúrgicos sobre o duodeno, assim como as lesões traumáticas neste segmento do sistema digestório, constituem preocupação constante aos serviços de cirurgia, pelos elevados índices de mortalidade que apresentam. A deiscência da sutura de coto duodenal é uma das mais graves complicações que podem ocorrer após ressecções gástricas a Billroth II. Esta complicação ocorre em 3 a 5% destes procedimentos. Fístulas bílio-digestivas envolvendo o duodeno, também são uma complicação cirúrgica freqüente<sup>4</sup>. As lesões traumáticas duodenais podem determinar um grande número de procedimentos, desde os mais simples como a sutura primária da lesão até os mais complexos, tendo como exemplo a exclusão pilórica, a diverticulização duodenal e a duodenopancreatectomia<sup>5</sup>. A submucosa de intestino delgado (SID) de suínos é uma matriz colágena extracelular que vem sendo utilizada com bons resultados no reparo de tecidos vasculares<sup>6</sup>, do sistema urinário<sup>7</sup> e bexiga<sup>8</sup>, do intestino delgado<sup>9</sup>, da parede abdominal<sup>10</sup>, cartilagens<sup>11</sup>, tendões<sup>12</sup> entre outros. Segundo diversos autores, a SID apresenta características próprias que proporcionam a ela vantagens em relação aos demais enxertos biológicos. Dentre eles estão os glicosaminoglicanos que conferem bioatividade a diversas citocinas e fatores de crescimento que atuam na revascularização e cicatrização de ferimentos<sup>13</sup>. O fator de crescimento do endotélio (VEGF) induz a formação de estruturas similares a capilares fenestrados na matriz de fibrina, promovendo uma neovascularização local<sup>14</sup>. O PDGF (fator de crescimento derivado de plaquetas) atua na proliferação fibroblástica<sup>15,16</sup> e é suplementado pela imediata deposição de fibronectina, responsável primária pelo recrutamento e pela retenção de células do hospedeiro que povoarão o local da ferida<sup>17</sup>. Com relação à resposta imune de SID, observou-se que esta está restrita aos linfócitos T-helper 2, que ativam interleucinas, as quais produzem anticorpos não ligados ao complemento e, conseqüentemente, não há uma rejeição típica do tecido implantado<sup>18,19</sup>. A resistência à infecção está provavelmente relacionada ao rico e rápido desenvolvimento de suprimento sanguíneo<sup>20</sup>. A SID já foi utilizada como reparo de lesões duodenais em porcos, combinada com enxerto de elastina, revelando-se eficaz para o reparo das lesões<sup>21</sup>. As promissoras características da SID, os bons resultados descritos na literatura em relação à sua aplicação, a morbidade das lesões duodenais e a ausência de um consenso em relação ao seu tratamento nos motivaram a pesquisar experimentalmente a eficácia da SID porcina como enxerto para correção de lesões duodenais com perda de substância em cães.

### Métodos

Este estudo obedeceu às normas de pesquisa com animais preconizadas pelo Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA), instituição filiada ao *International Council for Laboratory Animal Science*. Utilizaram-se oito cães mestiços, de ambos os sexos, com peso entre 10 e 20 kg, obtidos no Biotério Central da PUCPR. Os animais foram mantidos em ambiente adequado, com temperatura e luminosidade naturais. Utilizou-se na indução anestésica o Tiopental sódico a 2,5%, administrado por via

endovenosa na dose de 10 mg/kg. Todos os animais foram submetidos à entubação orotraqueal. A manutenção anestésica foi realizada com citrato de fentanila (0,05 mg/kg) e misolan (0,2 mg/kg) por via endovenosa; todo o experimento foi realizado no Laboratório de Técnica Operatória e Cirurgia Experimental da PUCPR. Sob condições assépticas, os animais foram submetidos à laparotomia mediana supra e infra-umbilical. A porção duodenal foi exposta e ressecou-se, em sua segunda porção, todas as camadas até atingir-se a luz do órgão, em segmento elíptico de aproximadamente 3x1 cm.(Figura 1).

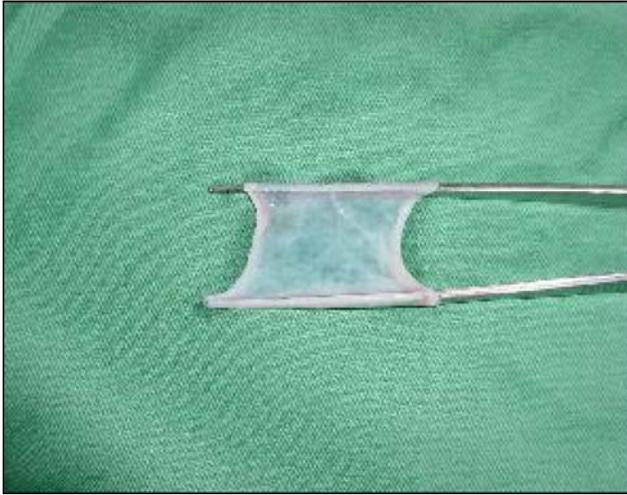


**FIGURA 1** - Ressecção de segmento elíptico de parede duodenal

Após obtenção da camada de submucosa de intestino delgado, como será descrito posteriormente, foi realizado o reparo do defeito criado na parede intestinal com o implante de um segmento de SID, em forma retangular medindo 3x4 cm (Figura 3), fixados através da sutura de seus dois folhetos, que substituíram o segmento retirado. Este foi suturado de forma contínua às camadas serosa e muscular do duodeno com fio Monocryl® 3.0.(Figura 2).



**FIGURA 2** - Submucosa de intestino delgado substituindo parede duodenal



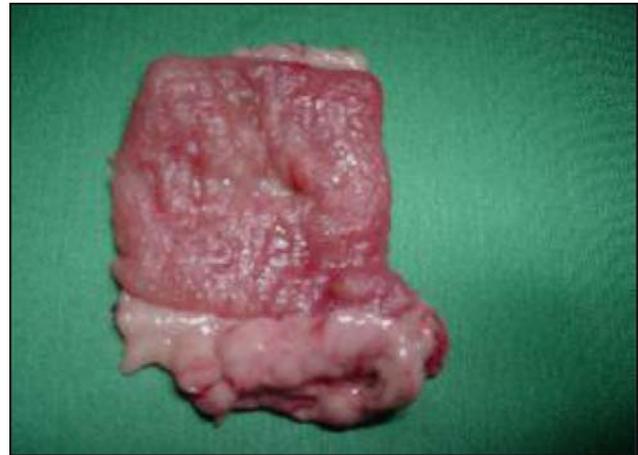
**FIGURA 3** - Submucosa de intestino delgado

O peritônio foi suturado de forma contínua com Categut® 3.0, a aponeurose com fio de algodão 2.0 em sutura interrompida, e a pele, com Mononylon® 3.0, pontos Donatti. Iniciou-se alimentação com 24 horas de pós-operatório com uma dieta pastosa. Este alimento foi substituído durante 5 dias, quando então os cães passaram a ser alimentados com ração tradicional canina *ad libitum*. Não foi administrada antibioticoterapia. Não houve mortalidade. No 120.º pós-operatório, os cães foram submetidos novamente a laparotomia através da cicatriz da primeira operação. A cavidade foi rigorosamente inspecionada, no sentido de verificar-se a presença de deiscências, abscessos, fístulas e estenoses. As porções duodenais que continham o implante foram ressecadas em bloco. Ao final, realizou-se a eutanásia dos cães com dose letal de cloreto de potássio, administrado por via endovenosa, com o animal ainda anestesiado. Segmentos de todas as peças foram fixados em formalina a 10% e encaminhadas para estudo histopatológico. Após inclusão em parafina, as peças foram submetidas a cortes de 5 micrômetros, que por sua vez foram corados pela hematoxilina-eosina, para avaliar: regeneração epitelial, fibrose, inflamação e incorporação do enxerto e *sirius red* para análise da densitometria do colágeno. O processo cicatricial baseou-se nos seguintes parâmetros: fibrose, reepitelização, inflamação aguda traduzindo diretamente o exsudato neutrofílico, e a inflamação crônica relatando o infiltrado linfo-neutrofílico. Esses parâmetros foram graduados em: grau 0, ausente; grau 1, presença discreta; grau 2, presença moderada; grau 3, intensa. Analisando-se os cortes histológicos corados com *sirius red* em microscópio óptico da marca Olympus com aumento de 200 x, com fonte de luz polarizada. As fibras de colágeno tipo I ou maduro foram identificadas por sua coloração vermelho-alaranjada e as fibras de colágeno III ou imaturo por sua coloração esverdeada<sup>22</sup>. As imagens foram captadas por uma câmera Sony, CCD 101, transmitidas a um microcomputador Pentium®, e sua análise foi realizada através do aplicativo Optimas, 6.2. Este programa possibilitou a determinação de colágeno tipo I, colágeno

tipo III e colágeno total. Para obtenção da submucosa de intestino delgado, foi mobilizado um segmento de jejuno situado a 20 cm da flexura duodeno-jejunal, sendo então realizada enterectomia de 10 cm a partir desse ponto. Após a obtenção do segmento de jejuno, seu mesentério foi removido. O segmento intestinal foi então invertido de modo que a mucosa ficasse voltada para fora. Esta foi removida através de raspagem com bisturi, sendo a lâmina posicionada em sentido transversal ao maior eixo do intestino. Foi desfeita a inversão do segmento pela mesma técnica, irriga-se abundantemente com solução salina isotônica. O folheto de submucosa obtido foi, então, conservado em solução de sulfato de neomicina 10%.

### Resultados

Não houve infecção, fístula ou estenose. A macroscopia demonstrou o local do enxerto já cicatrizado, com cobertura completa da camada mucosa. (Figura 4).



**FIGURA 4** - Macroscopia - Aspecto interno de enxerto de (SID) em duodeno

Externamente não foi possível identificar cicatriz na camada muscular. O estudo anátomo-patológico pela coloração hematoxilina-eosina revelou re-epitelização completa em 75% dos casos. A proliferação fibroblástica (fibrose) foi moderada em 87,5% dos cães e intensa em 12,5%. A resposta inflamatória aguda, avaliada através da presença de exsudato neutrofílico foi ausente na maioria dos cães (75%). Em 25% foi discreta. A presença de infiltrado inflamatório linfo-plasmocitário foi discreta em 62,5% dos casos e moderada em 37,5%. (Tabelas 1 e 2).

A quantificação do colágeno pela coloração *sirius-red* demonstrou haver maior porcentagem de colágeno maduro (tipo I) em relação ao imaturo (tipo III) em 100% dos cães. A quantidade de colágeno maduro variou entre 75,89% e 92,10%, com média de 83,96%. A de colágeno imaturo oscilou entre 7,09% e 24,11% (média 16,04%). (Tabela 3).

**TABELA 1** - Estudo anátomo-patológico. (microscopia) – Coloração HE

Animal	Fibrose	Reepitelização	Inflamação Aguda	Inflamação Crônica
Cão 1	2	3	0	1
Cão 2	2	3	0	1
Cão 3	3	2	1	2
Cão 4	2	3	0	1
Cão 5	2	2	1	2
Cão 6	2	3	0	2
Cão 7	2	3	0	1
Cão 8	2	3	0	1

Grau 0 = ausente; Grau 1 = discreta; Grau 2 = moderada; Grau 3 = intensa/completa.

**TABELA 2** - Variáveis histopatológicas; percentual dos valores analisados

Classificação	Fibrose	Reepitelização	Inflamação Aguda	Inflamação Crônica
Ausente	0 (0%)	0 (0%)	6 (75%)	0 (0%)
Discreta	0 (0%)	0 (0%)	2 (25%)	5 (62,5%)
Moderada	7 (87,5%)	2 (25%)	0 (0%)	3 (37,5%)
Intensa	1 (12,5%)	6 (75%)	0 (0%)	0 (0%)

**TABELA 3** - Estudo anátomo-patológico (microscopia) – Coloração *sirus-red*

Animal	Colágeno Imaturo	Colágeno Maduro
Cão 1	11,63%	88,37%
Cão 2	7,90%	92,10%
Cão 3	8,16%	91,84%
Cão 4	16,26%	83,74%
Cão 5	15,79%	84,21%
Cão 6	8,76%	91,24%
Cão 7	24,11%	75,89%
Cão 8	22,63%	77,37%
<b>MÉDIA</b>	16,04%	83,96%

### Discussão

Grandes lesões duodenais com significativa perda tecidual são sempre preocupantes e de difícil tratamento<sup>23</sup>. Requerem técnicas inovadoras e apresentam elevada morbidade. Em se tratando de vítimas de feridas traumáticas, as quais normalmente apresentam lesões associadas de grandes vasos abdominais e outras vísceras, a escolha da melhor forma de reparo para o duodeno pode tornar-se difícil<sup>24</sup>. As chances de sobrevivência e boa qualidade de vida são maiores quando o reparo da lesão é realizado de maneira simples, concreta e definitiva; em um menor espaço de tempo. A maioria das lesões duodenais pode ser reparada por sutura primária em um ou dois planos, com ou sem a interposição de um remendo seroso<sup>4</sup>. Já as lesões graves, apresentam elevado grau de deiscência e para seu tratamento devem ser utilizadas técnicas mais complexas, como a exclusão pilórica ou a estomização, que poderão acarretar em posteriores procedimentos de reconstrução mais extensos<sup>5</sup>. Bons resultados foram obtidos, experimentalmente, com diferentes tipos de enxerto para correção de lacerações

duodenais, como a própria membrana submucosa<sup>21</sup>, o PTFE (politetrafluoretileno)<sup>25</sup> e a serosa jejunal<sup>26</sup>. O enxerto que empregamos no reparo das lesões duodenais pode ser obtido de maneira fácil e rápida, com baixo custo. A SID proporciona uma barreira no sítio da lesão, enquanto rapidamente pela matriz colágena, o tecido local cresce e se regenera tomando o seu lugar<sup>16,17</sup>. O estudo histológico por HE evidenciou proliferação fibroblástica moderada em 87,5% dos casos. Isso demonstra boa cicatrização no local do enxerto em relação ao tempo decorrido após a operação (120 dias). Houve re-epitelização completa da mucosa em 75% dos casos, no entanto, não foi possível avaliar com precisão a regeneração da camada muscular<sup>20</sup>. A incorporação do enxerto foi completa em 100% dos animais e a resposta inflamatória variou, de ausente a discreta, na maioria dos casos. Os resultados verificados na coloração *sirus-red* vieram a confirmar a satisfatória resposta cicatricial apresentada pelo enxerto. Com 120 dias de pós-operatório, a porcentagem de colágeno maduro foi de 83,96%, valor compatível com uma boa cicatrização. Com características de não haver rejeição ou infecção, a matriz colágena extracelular se encaixa como uma base propícia para uma regeneração tecidual ideal, com baixíssimo grau de retração tecidual, sem estenose e sem o aparecimento de fístulas. O tempo cirúrgico utilizado para o reparo propriamente dito foi aproximadamente de 20 minutos.

### Conclusão

O presente experimento demonstrou ser a submucosa de intestino delgado porcina um enxerto eficaz para reparo de lesões com perda de substância em segunda porção de duodeno de cães.

### Referências

- Gardener E, Gray D, Orahilly. Anatomia. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 1988.

2. Pires PWA. Duodeno. In: Pires PWA. Anatomia Cirúrgica. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 1999. p.455-8.
3. Gomes CG, Vinhaes JC. Complicações após operações gástricas. In: Vinhaes JC. Clínica e terapêutica cirúrgicas. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 1999. p.583-96.
4. Boffard K, Degiannis E. Duodenal Injuries. *Br J Surg*. 2000; 87: 1473-79.
5. Teixeira WB, Onofre AF. Trauma do Duodeno. In: Freire E. 1.ed. Trauma a doença dos séculos. São Paulo: Atheneu; 2001. p.1559-68.
6. Roeder R, Wolf J, Lianakis N. Compliance, elastic modulus, and burst pressure of small intestinal submucos, small diameter vascular grafts. *J Biomed Mater*. 1999; 47: 65.
7. Vaught JD, Kroop BP, Sawyer BD, Rippey MK. Detrusor regeneration in the rat using porcine small intestine submucosal grafts. Functional innervation and receptor expression. *J Urol*. 1996; 155 (1): 374-78.
8. Greca FH, Santos EAA, Gonçalves PCZ, Chin EWK, Ioshii SO. Retalho de submucosa de intestino Delgado autólogo para aumento da capacidade da bexiga: estudo experimental em cães. *Rev Col Bras Cir*. 2002; 29 (5): 294-99.
9. Greca FH, Biondo-Simões MLP, Ioshii SO, Chin EWK, Kimura LY, el Tawil II, Berlatto F. Enxerto de submucosa intestinal para reparo de parede de intestino delgado de cães. *Acta Cir Bras*. 2001; 16 Supl 2:16-21.
10. Prevel SAF, Eppley B, Summerlin DJ, Jackson JR, Mccarty M, Badylak SF. Small intestinal submucosa: utilization for repair of rodent abdominal wall defects. *Tissue Eng*. 1996; 2: 209-17.
11. Peel SAF, Chen H, Renlund R, Kandel RA. Formation of a SIS cartilage composite graft in vitro and its use in repair of articular cartilage defects. *Tissue Eng*. 1998; 4(2): 143-55.
12. Greca FH, Dalaremo VC, Silva APG, Mima WH, Okawa L, Alencar TG, Ramos EJB. Evaluation of porcine small intestine submucosa in Achilles Tendon repair. *J Am Coll Surg*. 2003; 197 (3):45.
13. Hodde JP, Mcpherson TB, Savaiano JK, Badylak SF. Vascular endotelial growth factor in SIS. *SIS Simp*. 1998; 93.
14. Hodde JP, Badylak SF, Brightman AO, Voyti Harbin SL. Glycosaminoglycan content of small intestine submucosa: a bioscaffold for tissue replacement. *Tissue Eng*. 1996; 2: 209-17.
15. Voytik SL, Brightman AO, Kraine M, Badylak SF. Identification of extractable growth factors from small intestinal submucosa. *J Cel Biol*. 1997; 67: 478-501.
16. Liang HA. Determination of patelet derived growth factor in small intestinal submucosa. *SIS Simp*. 1998; 93.
17. Mcpherson TB, Badylak F. Characterization of fibronectin derived from porcine small intestinal submucosa. *Tissue Eng*. 1998; 4: 75-83.
18. Metzger DW, Mcpherson TB, Badylak SF. Immune responses to xenogenic Sis implants. *SIS Simp*. 1998; 33.
19. Allman AJ, Mcpherson TB, Merrill LA, Moyad TF, Badylak SF. Xenogenic extracellular matrix grafts elicit a th -2 restricted immune response. *Transplantation*. 2001; 71 (11): 1631-40.
20. Badylak SF, Coffei AC, Lantz GC. Comparison of resistance to infection of small intestinal submucosa arterial autografts versus PTFE arterial prostheses in a dog model. *J Vasc Surg*. 1994; 19:465.
21. Kajitani M; Wadia, Xie H, Hinds MT, Shalaby SW, Swartz KR, Gregory KW. Use of a new elastin patch and glue for repair of a major duodenal injury. *Asaio J*. 2000; 46 (4): 409-14.
22. Junqueira LCU, Cossermelli W, Brentani RR. Differential stain of collagen type I, II or III by sirius red and diaphragmatic defects. *Ann Surg*. 1981; 193(5): 606-9.
23. Ivatury RR, Gaudino J, Nallathambi M, Ramirez SG, Stahl WM. Treatment of penetrating duodenal injuries: primary repair vs. repair with decompressive enterostomy serosal patch. *J Trauma*. 1985; 25 (4): 337-41.
24. Velmahos G, Kamel E. Complex repair for the management of duodenal injuries. *Am Surg*. 1999; 65: 972.
25. Ozlem N, Erdogan B. Repairing great duodenal defects in rabbits by PTFE patch. *Acta Chir Belg*. 1999; 99 (1): 17-21.
26. Astarcioglu H, Kocdor M, Sokmen S, Karademir S, Ozer E, Bora S. Comparison of different surgical repairs in the treatment of experimental duodenal injuries. *Am J Surg*. 2001; 181 (4): 309-12.

#### Agradecimentos

Sr. Álvaro Roberto Gonçalves Machado, Sr. Daniel Fiedler Funcionários do laboratório da Disciplina de Técnica Operatória e Cirurgia Experimental, PUCPR.

Dr. Indalécio Mainardes Sutil - Médico Veterinário, responsável pelo Biotério da PUCPR.

Sra. Rosana Nunes Ferreira Secretária da Disciplina de Técnica Operatória e Cirurgia Experimental, PUCPR.

---

#### Correspondência

Zacarias Alves de Souza Filho  
Rua Padre Agostinho, 1923/1901  
807100-000 Curitiba - PR  
Te: (41)3336-3445  
[z.alves@pucpr.br](mailto:z.alves@pucpr.br)

Conflito de interesse: nenhum  
Fonte de financiamento: nenhuma

Recebimento: 25/04/2005  
Revisão: 23/05/2005  
Aprovação: 22/06/2005

---

#### Como citar este artigo:

Souza Filho ZA, Greca FH, Rocha SL, Ioshii SO, Domanski NA, Kfour D, Campos PDP, Silva RFKC. Enxerto de submucosa porcina no tratamento de lesões duodenais em cães. *Acta Cir Bras*. [periódico na Internet] 2005 Set-Out;20(5). Disponível em URL: <http://www.scielo.br>

---

\*Figuras coloridas disponíveis em <http://www.scielo.br/ach>