

ENXERTO DE PERITÔNIO PARIETAL EM LESÃO DUODENAL: MODELO ANIMAL

Parietal peritoneum graft for duodenum injuries in animal model

Joana M. **CASTILLO**¹, Anibal **FLORES-PLASCENCIA**¹, Maria Delia **PEREZ-MONTIEL**³, Salma **GARCIA**²,
Neydel **VERGARA**², Aida **PEREZ-BLANCO**², Enrique Alejandro **SANCHEZ-VALDIVIESO**^{1,2}

Como citar este artigo: Castillo JM, Flores-Plascencia A, Perez-Montiel MD, Garcia S, Vergara N, Perez-Blanco A, Sanchez-Valdivieso EA. Enxerto de peritônio parietal em lesão duodenal: modelo animal. ABCD Arq Bras Cir Dig. 2019;32(1):e1418. DOI: /10.1590/0102-672020180001e1418

Trabalho realizado no ¹Department of Surgery, Hospital de Alta Especialidad, Veracruz City, Mexico; ²Department of Research, Cristobal Colon University School of Medicine; ³Department of Pathology, National Cancer Institute of Mexico, Mexico City, Mexico.

DESCRITORES - Peritônio. Enxerto. Duodeno. Lesão. Reparação. Modelo animal.

Correspondência:
Enrique Alejandro Sanchez-Valdivieso
E-mail: easanchezv@gmail.com

Fonte de financiamento: não há
Conflito de interesse: não há

Recebido para publicação: 10/07/2018
Aceito para publicação: 25/09/2018

HEADINGS - Peritoneum. Graft. Duodenum. Injury. Repair. Animal model.

RESUMO - Racional: Lesões duodenais e seu procedimento cirúrgico causam alta morbimortalidade. **Objetivo:** Avaliar a eficácia geral de retalho peritoneal no tratamento da perfuração do duodeno, visando reduzir o tempo, os custos, a complexidade e a mortalidade cirúrgicas. **Métodos:** Doze coelhos da raça Nova Zelândia, com idades entre 4-6 meses, ambos os sexos, foram submetidos a lesões duodenais cirúrgicas de grau III, que foram reparadas 18 h depois. Coelhos foram tratados cirurgicamente com a proposta de auto-enxerto de peritônio. **Resultados:** Não foram observados óbitos pós-operatórios; os animais apresentaram aumento de peso corporal e foram eutanasiados seis meses depois. Não houve diferença significativa entre os dois grupos em relação à evolução pós-operatória ou nas alterações histológicas. **Conclusão:** A auto-enxertia do peritônio e da fásia posterior é uma opção útil para o reparo duodenal e vale a pena ser avaliada em seres humanos.

ABSTRACT - Background: Duodenal injuries and their surgical procedure cause a high morbidity and mortality. **Aim:** To assess the overall effectiveness of the auto-graft of peritoneum in the treatment of the perforation of the duodenum, aiming to reduce surgery time, costs, complexity and mortality. **Methods:** Twelve New Zealand rabbits, ages 4-6 months, both sexes, underwent designed surgical grade III duodenal injuries that were repaired 18 h after. Rabbits were surgically treated with the proposed auto-graft of peritoneum. **Results:** No postoperative deaths were observed; the animals presented corporal weight increase and were euthanized six months later. There was no significant difference between both groups relating to the postoperative evolution or in the histological changes. **Conclusion:** Auto-graft of the peritoneum and posterior fascia is a useful option for duodenal repair and that is worth of evaluation for humans.

INTRODUÇÃO

A localização retroperitoneal do duodeno tem papel importante por ser protegida por traumatismo⁶. A incidência de lesões duodenais varia entre 3,7% e 5,0%^{3,23}. Destas lesões, 77,7% são devidas aos traumas penetrantes e 22,3% aos contusos^{2,17}. Lesões isoladas do duodeno não são frequentes; é necessário sempre manter presente a alta frequência de lesões associadas e isso se deve à proximidade das estruturas vasculares maiores⁵. Assim, o duodeno é a terceira estrutura digestiva mais afetada pelo traumatismo contuso, precedido de lesões no jejuno-íleo e no colon-retô¹⁸, para o qual é importante o reconhecimento e o tratamento precoce²¹. Com o trauma contuso, uma força direta aplicada na parede abdominal é transmitida para o duodeno, que é projetada para trás contra a vértebra rígida, comum em lesões esportivas ou acidentes automobilísticos^{10,12}. Tanto as lesões duodenais quanto o procedimento cirúrgico acarretam alta morbidade e mortalidade¹², decorrentes de complicações para o próprio procedimento ou a formação de uma fístula duodenal.

O peritônio consiste de uma monocamada de células do mesotélio situadas em uma membrana basal, cobrindo área de aproximadamente 2 m² em pessoa adulta^{11,25}. Uma técnica cirúrgica experimental com um enxerto de peritônio pode ser usada para oferecer prevenção para fístula duodenal.

O objetivo deste estudo foi descrever a eficácia da colocação desse enxerto como nova técnica cirúrgica de perfuração duodenal, reduzindo tempo cirúrgico, custos, tempo de recuperação pós-operatório, taxa de complicações e mortalidade.

MÉTODOS

Este estudo foi realizado na Faculdade de Medicina da Universidade Cristobal Colón, com autorização prévia do Comitê de Ética. Coelhos Nova Zelândia (*Oryctolagus cuniculus*) adultos, 4-6 meses de idade, de ambos os sexos foram utilizados. Um modelo

animal para lesão duodenal grau III foi desenvolvido, de acordo com a Associação Americana para a Cirurgia da Escala de Lesão Trauma-Órgão (AAST-OIS, Tabela 1)²¹. Todos os procedimentos foram realizados com rigoroso apego às especificações técnicas para experimentação em animais de laboratório de acordo com as Regras Oficiais Mexicanas^{13,22}.

TABELA 1 - Escala de lesão do duodeno segundo a Associação Americana de Cirurgia do Trauma

Grau	Descrição da injúria	
I	Hematoma Laceração	Envolvendo porção única do duodeno Espessura parcial, sem perfuração
II	Hematoma Laceração	Envolvendo mais de uma porção Ruptura < 50% da circunferência
III	Laceração	Ruptura 50-75% da circunferência D2 Ruptura 50-100% da circunferência D1, D3, D4
IV	Laceração	Ruptura > 75% da circunferência D2 Envolvendo ampola ou ducto biliar comum distal
V	Laceração Vascular	Ruptura maciça vascular do complexo duodenopancreático Desvascularização do duodeno

D1=1ª porção; D2=2ª porção; D3=3ª porção; D4ª=porção do duodeno²¹

Todos os animais receberam quetamina (35 mg/kg IM; Anesket, Pisa) e xilazina (5 mg/kg IM; Tranquived, VEDCo). A anestesia por 30-45 min foi obtida por injeção intramuscular na região posterior da coxa com agulha 23 Gx1, usando cetamina combinada com xilazina na mesma seringa. Após a laparotomia mediana, a superfície antimesentérica do duodeno foi exposta e um defeito de 7 mm², assemelhando-se à lesão duodenal grau III, foi criado com uma tesoura cirúrgica; o defeito duodenal foi deixado aberto e a parede abdominal foi imediatamente fechada. Dezoito horas depois, o animal foi reoperado, a perfuração duodenal foi identificada e a ressecção das bordas danificadas foi realizada, deixando um defeito final de cerca de 8-9 mm². O local da lesão foi então reparado pela seguinte técnica: foi obtida uma lâmina de tecido de cerca de 10x15 mm, composta de peritônio parietal fixado na fáscia posterior do músculo reto abdominal⁴. O enxerto foi suturado como um emplastro com polipropileno monofilamentar 5-0 (Prolene, Ethicon, agulha atraumática de 1/2 círculo), com ou sem suporte do BioGlue®, com a membrana peritoneal voltada para o defeito e cobrindo-o; posteriormente, o omento foi abordado no local do enxerto, contribuindo para o suporte vascular e fechamento da cavidade abdominal.

Todos os coelhos foram alojados em ambiente animal de laboratório padrão (ar filtrado fresco, 15 mudanças por hora; temperatura 21±2° C; umidade 50±20%; e ciclo 12/12 h luz/escuro) e mantidos em contínuo monitoramento durante seis meses; depois, a eutanásia foi realizada por meio da administração intracardíaca de 250 mg/kg de pentobarbital sódico.

Secções de tecido embebidas em parafina foram coradas com H&E. Reação inflamatória foi classificada em uma escala de 0 a 3 (0=sem inflamação, 1=leve, 2=moderada, 3=inflamação intensa). O processo de reparo foi avaliado quanto à presença de mucosa, muscular própria e serosa. Coloração imunoistoquímica foi realizada em cortes de tecido embebidos em parafina, usando um método de avidina-estreptavidina.

Análise estatística

Os dados foram registrados no Excel®; os valores foram expressos como média +/- desvio-padrão. Os dados foram analisados usando ANOVA, e o teste U de Mann-Whitney para a análise de dados histopatológicos.

RESULTADOS

Doze coelhos Nova Zelândia adultos (*Oryctolagus cuniculus*) com peso entre 2-3,1 kg (mediana 2,5±0,5) com boa e nível normal de atividade foram incluídos. Para imitar a situação clínica, foram feitos todos os esforços para obter um defeito duodenal padrão de 7 mm de diâmetro durante a etapa da lesão duodenal.

Todos os procedimentos tardios (segundos) foram realizados sem complicações; o tempo cirúrgico médio durante a 1ª operação foi de 20,1 min e 59 min durante o 2º, com tempo médio de obtenção e reparo do enxerto peritoneal de 18,6±2,5 min (15-20). Os animais toleraram bem o procedimento (Figura 1) e não houve complicações pós-operatórias imediatas.

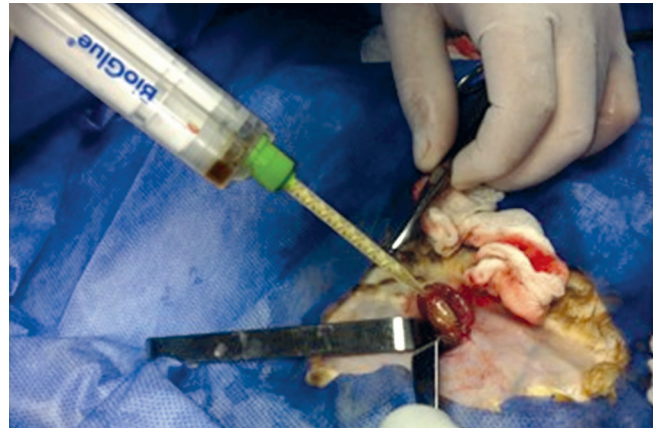


FIGURA 1 - É mostrado o procedimento de fazer e suturar o enxerto e a aplicação do BioGlue®

Alimentação oral e a água ad libitum foram iniciadas imediatamente após os cuidados pós-anestésicos. Após a recuperação, eles retornaram à atividade normal (ingestão, água potável e movimento adequado) em dois dias. A analgesia pós-operatória foi fornecida pelo cetorolaco, e quinolona foi administrada por uma semana. Nenhuma morte pós-operatória foi observada.

Com o aumento do tempo de acompanhamento, os animais ganharam peso. Nenhuma anormalidade bioquímica foi observada. Variáveis de cicatrização de feridas, tempo de recuperação e integração às atividades normais, complicações e laudos histopatológicos foram registrados e analisados. A eficiência do procedimento de reparo da lesão também foi avaliada em termos de complicações peri-operatórias.

Os animais foram acompanhados por seis meses e, posteriormente, a eutanásia foi realizada por meio de administração de 250 mg/kg de pentobarbital intrapulmonar com sódio. Na necropsia, nenhum vazamento foi observado ao redor do fragmento duodenal. A restituição da integridade da parede intestinal foi observada em ambos os grupos mostrando a camada de músculo liso que reveste a mucosa duodenal, com vilosidades compactas e finas e infiltração leve de linfócitos.

Regeneração da mucosa com achados de reação restauradora na parede duodenal associada à sutura, inflamação transmural, mucosa intestinal normal, ausência de reação inflamatória peritoneal e ausência de fístula foram encontrados em todos os coelhos (Figura 2). Achados de reparo crônico-fibroso foram observados em três coelhos (em um havia diâmetro da luz diminuído de 30%; dados não mostrados) e nove coelhos apresentaram características de reparo granulomatoso e fibroblástico. Alguns infiltrados linfocitários foram achado recorrente em todos os casos. Nenhum sinal de residual do BioGlue® foi observado. Nenhuma anormalidade foi demonstrada nas amostras de fígado e vias biliares.

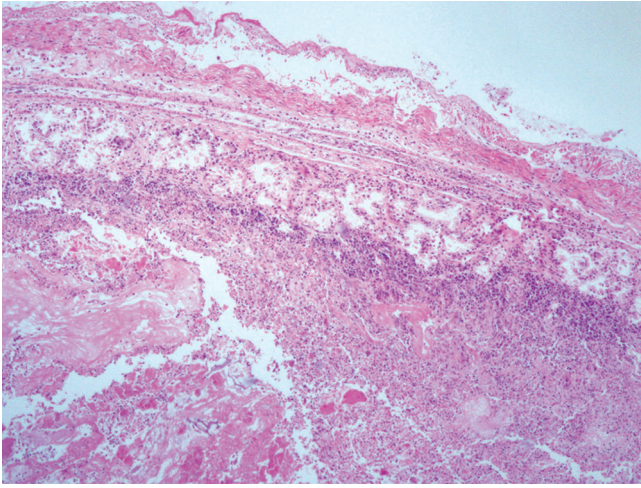


FIGURA 2 - Fotomicrografia mostrando fibrose na parede duodenal e infiltração tecidual por linfócitos

DISCUSSÃO

A lesão duodenal isolada é um achado operatório em 0,2–3,7% das laparotomias realizadas para trauma abdominal e constitui um grande desafio para o cirurgião⁷. Quando a lesão duodenal é confirmada, o cirurgião deve escolher com brevidade um método adequado de reparo¹⁴. Diversas opções de tratamento foram descritas, o que indica falta de satisfação com os procedimentos propostos para a correção duodenal²⁴. A maioria das lesões duodenais requer reparo simples e apenas um pequeno número delas necessita de esforço cirúrgico maior (mesmo o procedimento de Whipple acompanhado de drenagem, restrição GI, nutrição parental e suplementação de octreotida)⁶. Lesões duodenais grau III, entretanto, requerem reparo complexo ou descompressão duodenal^{1,16}. Reparo complexo tem duas grandes desvantagens: é demorado e é tecnicamente exigente. A taxa de mortalidade da lesão duodenal é de 12%, mas varia de 5–25%, em grande parte devido às lesões associadas^{8,14,24,26}.

Testamos um procedimento em modelo animal que pode reduzir a morbidade e mortalidade de lesões duodenais de grau III, isto é, enxerto de peritônio parietal com ou sem suporte de BioGlue[®]. Como um todo, neste estudo, escolhemos o peritônio parietal como enxerto porque: a) o mesotélio em sua superfície tem a mesma origem que o peritônio duodenal e a camada muscular; b) está prontamente disponível e não precisa de incisões adicionais; e c) está prontamente disponível em grandes quantidades.

O peritônio autólogo é arterial interessante a ser testado para o enxerto de intestino, devido à capacidade de regeneração e transdiferenciação de células mesoteliais. Seu mesotélio se origina embriologicamente a partir da mesma célula tronco que a parede do intestino, ou seja, as células tronco mesenquimais se originam da esplancopleura do mesoderma lateral que se diferencia nas camadas do músculo seroso do intestino. Ele também está envolvido no reparo do dano peritoneal após procedimento cirúrgico ou peritonite. As células mesoteliais produzem várias citocinas, fatores de crescimento e componentes da matriz extracelular, possuindo propriedades anti-inflamatórias e imunomoduladoras.

Carrel⁹ descreveu pela primeira vez o uso de peritônio como remendo vascular em 1901. Um enxerto peritoneal semelhante foi previamente descrito no Japão^{4,27} e também no México para tratar lesões vasculares¹⁵ e reconstrução de ductos biliares²⁰. Quando amostras de tecido foram analisadas seis meses depois, a integridade da parede intestinal foi observada em ambos os grupos, mostrando uma camada muscular lisa e mucosa duodenal com vilosidades finas e compactas e

infiltração linfocitária ocasional.

Os enxertos de peritônio parecem ser seguros, eficazes, fáceis de obter e baratos para reparar defeitos duodenais parciais. Nossos resultados após seis meses mostraram que os enxertos estavam bem integrados (embora uma das reconstruções tenha sido de alguma forma estenótica). É necessário destacar a baixa frequência de estenose duodenal, especialmente devido à proporção da circunferência perdida. Curiosamente, os animais não receberam nenhum antibiótico pós-operatório, octreotida ou outras drogas suplementares¹⁹.

É inacreditável para nós que, tendo já sido amplamente demonstrada a utilidade do enxerto em vários estudos de cirurgiões de reconstrução venosa, ainda não se reconheça um papel do enxerto na reconstrução duodenal. Enxerto de ligamento falciforme similar foi descrito e também pode ser considerado para a reconstrução do duodeno ou veia mesentérica veia-superior na ausência de enxerto sintético²⁸.

CONCLUSÃO

A autoenxertia do peritônio é um substituto acessível e seguro para a reconstrução das lesões duodenais grau III, com resultados satisfatórios.

AGRADECIMENTOS

Ao Dr. Angeles Acevedo, Diretor; ao laboratório clínico e à equipe de enfermagem cirúrgica e ao veterinário da Faculdade de Medicina da Universidade Cristobal Colón. Os agradecimentos são a todos eles pelo apoio, sem o qual não teríamos conseguido realizar este estudo.

REFERÊNCIAS

1. Agarwal P, Sharma D. Repair of duodenal fistula with Rectus Abdominis muscle 'Pull-In' flap. *Indian J Surg*. 2005;67:253-256.
2. Aherne NJ, Kavanagh EG, Condon ET, Coffey JC, El-Sayed A, Redmond HP. Duodenal perforation after a blunt abdominal sporting injury. The Importance of Early Diagnosis. *J Trauma*. 2003;54:791-794.
3. Ahn MS, Miyai K, Carethers JM. Intramural duodenal hematoma presenting as a complication of peptic ulcer disease. *J Clin Gastroenterol*. 2001;33:53-55.
4. Akimaru K, Onda M, Tajiri T, Yoshida H, Mamada Y, Tani N, et al. Reconstruction of the vena cava with the peritoneum. *Am J Surg*. 2000;179:289-293.
5. Albright H, Field L. Duodenal fistula, problems in management. *Ann Surg*. 1950;132(1):49-63.
6. Astarcioglu H, Koçdor MA, Sökmen 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):309-312.
7. Blocksom JM, Tyburski JG, Sohn RL, Williams M, Harvey E, Steffes CP, et al. Prognostic determinants in duodenal injuries. *Am Surg*. 2004;70(3):248-55.
8. Bozkurt B, Ozdemir BA. Operative approach in traumatic injuries of the duodenum. *Acta Chir Belg*. 2006;106:405-408.
9. Carrel A. Peritoneal patching of the aorta. *J Exp Med*. 1910;12:139-145.
10. Chung MA, Wanebo HJ. Surgical management and treatment of gastric and duodenal fistulas. *Surg Clin North Am*. 1996;76(5):1137-1146.
11. Collins D, Hogan AM, O'Shea D. The omentum: anatomical, metabolic, and surgical aspects. *J Gastrointest Surg*. 2009;13:1138-1146.
12. Cozzaglio L, Farinella E, Coladonato M, Sciannameo F, Gennari L, Doci R. Current role of surgery in the treatment of digestive fistulas. *Ann Ital Chir*. 2010;81:285-294.
13. Declaración mexicana y principios básicos de la experimentación en animales, (consulted Nov 06 2013) available at http://www.inb.unam.mx/bioetica/documentos/declar_mex_cnb_93.pdf
14. Degiannis E, Boffard K. Duodenal injuries. *British J Surg*. 2000;87:1473-1479.
15. Garcia-Graz NJ, Galindo-Ibarra JL, Garcia-Soto G, Mejia-Arreguin H, Trejo-Suarez J, Ramirez-Salas MA. Injerto vascular de aponeurosis con peritoneo en perros. *Cir Cir*. 2008;76:235-239.
16. Ivatury RR, Gaudino J, Ascer E, Nallathambi M, Ramirez-Schon G, Stahl WM. Treatment of penetrating duodenal injuries: Primary repair vs. repair with decompressive enterostomy / serosal patch. *J Trauma*. 1985;4:337-341.
17. Jani K, Saxena AK, Vagharia R. Oriental plugging for large-sized duodenal peptic perforations: A prospective randomized study of 100 patients. *Southern Med J*. 2006;99(5):467-471.

18. Karagöz AS, Yüceyar S, Aytac E, Bayraktar O, Erenler I, Üstün H, Uzun H, Ertürk S. Comparison of classical surgery and sutureless repair with DuraSeal or fibrin glue for duodenal perforation in rats. *Turk J Trauma Emerg Surg.* 2011;17(1):9-13.
19. Kayaalp C, Sumer F, Polat Y, Kutlu R. Autologous Peritoneum Graft Repair of a Superior Mesenteric Vein Defect During Pancreaticoduodenectomy. *Cureus* 2015;7(10):e340-e345.
20. Lorenzana-Bautista I, Flores-Plascencia A, Barrios-Pineda FJ, Alderete-Vazquez G, Sanchez-Valdivieso EA. Reparacion de coledoco con autoinjerto de peritoneo. *Cir Cir.* 2013;81:373-382.
21. Moore EE, Cogbill TH, Malangoni MA, et al: Organ Injury Scaling. II. Pancreas, duodenum, small bowel, colon and rectum. *J Trauma.* 1990;30:1427-1429.
22. Norma Oficial Mexicana NOM-062-ZOO-1999. Especificaciones técnicas para la producción, cuidado y uso de los animales de laboratorio, (consulted Nov 06 2013) available at <http://www.fmvz.unam.mx/fmvz/principal/archivos/062ZOO.PDF>
23. Soeta N, Terashima S, Kogure M, Hoshino Y, Gotoh M. Successful healing of a blunt duodenal rupture by non operative management. *J Trauma.* 2002;52:979-981.
24. Svanes C. Trends in perforated peptic ulcer: incidence, etiology, treatment, and prognosis. *World J Surg.* 2000;24:277-283.
25. van der Wal JB, Jeekel J. Biology of the peritoneum in normal homeostasis and after surgical trauma. *Colorectal Dis.* 2007; 9 Suppl 2:9-13.
26. Verma GR, Kaman L, Singh G. External duodenal fistula following closure of duodenal perforation. *Indian J Gastroenterol.* 2006;25(1):16-19.
27. Yoshioka M, Onda M, Tajiri T, Akimaru K, Mineta S, Hirakata A, et al. Reconstruction of the portal vein using a peritoneal patch-graft. *Am J Surg.* 2001;181:247-250.
28. Zhiying Y, Haidong T, Xiaolei L, Yongliang S, Shuang S, Ligu L, Li X, Atyah M. The falciform ligament as a graft for portal-superior mesenteric vein reconstruction in pancreatectomy. *J Surg Res.* 2017;218:226-231.