

Daniel Oliveira Bonomi

Cicatrização de anastomoses traqueais após uso tópico de Mitomicina C em ratos

Universidade Federal de Minas Gerais – UFMG

Belo Horizonte

2011

Bonomi, Daniel Oliveira.
B697c Cicatrização de anastomoses traqueais após uso tópico de Mitomicina
C em ratos [manuscrito]: / Daniel Oliveira Bonomi. -- Belo Horizonte:
2011.
39f.: il.
Orientador: Ivana Duval de Araújo.
Co-Orientador: Rafael Calvão Barbuto.
Área de concentração: Ciências Aplicadas à Cirurgia e à Oftalmologia.
Dissertação (mestrado): Universidade Federal de Minas Gerais,
Faculdade de Medicina.
1. Traquéia/ cirurgia. 2. Mitomicina. 3. Cicatriz. 4. Dissertações
Acadêmicas. I. Araújo, Ivana Duval de. II. Barbuto, Rafael Calvão. III.
Universidade Federal de Minas Gerais, Faculdade de Medicina. IV. Título

NLM : WF 490

Daniel Oliveira Bonomi

Cicatrização de anastomoses traqueais após uso tópico de Mitomicina C em ratos

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Aplicadas à Cirurgia e à Oftalmologia, Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Minas Gerais como requisito parcial à obtenção do grau de Mestre em Medicina.

Orientador: Prof^ª. Dr^ª. Ivana Duval de Araújo

Co-orientador: Dr. Rafael Calvão Barbuto

Faculdade de Medicina da UFMG

Belo Horizonte

2011



FACULDADE DE MEDICINA
CENTRO DE PÓS-GRADUAÇÃO

Av. Prof. Alfredo Balena 190 / sala 533
Belo Horizonte - MG - CEP 30.130-100
Fone: (031) 3409.9641 FAX: (31) 3409.9640



ATA DA CENTÉSIMA OCTAGÉSIMA DEFESA DE DISSERTAÇÃO DE MESTRADO DE **DANIEL OLIVEIRA BONOMI**, nº de registro 2009655898.

Às quatorze horas do dia vinte e cinco de abril de dois mil e onze, reuniu-se na Faculdade de Medicina da UFMG, a Comissão Examinadora de dissertação indicada pelo Colegiado do Programa, para julgar, em exame final, o trabalho intitulado: **“CICATRIZAÇÃO DE ANASTOMOSES TRAQUEAIS APÓS USO TÓPICO DE MITOMICINA C EM RATOS”**, requisito final para a obtenção do grau de Mestre em Ciências Aplicadas à Cirurgia e à Oftalmologia, pelo Programa de Pós-Graduação em Ciências Aplicadas à Cirurgia e à Oftalmologia. Abrindo a sessão, a Presidente da Comissão, Profa. Ivana Duval de Araujo, após dar a conhecer aos presentes o teor das normas regulamentares do trabalho final passou a palavra ao candidato para apresentação de seu trabalho. Seguiu-se a arguição pelos examinadores, com a respectiva defesa do candidato. Logo após, a Comissão se reuniu sem a presença do candidato e do público para julgamento e expedição do resultado final. Foram atribuídas as seguintes indicações:

Prof. Ivana Duval de Araujo/Orientadora	Instituição: UFMG	Indicação: <u>aprovado</u>
Prof. Rafael Calvão Barbuti/Coorientador	Instituição: UFMG	Indicação: <u>aprovado</u>
Prof. Daniele Cristina Cataneo	Instituição: FM de Botucatu	Indicação: <u>Aprovado</u>
Prof. Andy Petroianu	Instituição: UFMG	Indicação: <u>Aprovado</u>

Pelas indicações, o candidato foi considerado Aprovado.

O resultado final foi comunicado publicamente ao candidato pela Presidente da Comissão. Nada mais havendo a tratar, a Presidente encerrou a sessão e lavrou a presente ATA, que será assinada por todos os membros participantes da Comissão Examinadora. Belo Horizonte, 25 de abril de 2011.

Prof. Ivana Duval de Araujo/Orientadora _____
 Prof. Rafael Calvão Barbuti/Coorientador Rafael Calvão Barbuti
 Prof. Daniele Cristina Cataneo Daniele Cristina Cataneo
 Prof. Andy Petroianu _____
 Prof. Marcelo Dias Sanches/Coordenador _____

Obs.: Este documento não terá validade sem a assinatura e carimbo do Coordenador

Prof. Marcelo Dias Sanches
Coordenador do Programa de Pós-Graduação em
Ciências Aplicadas à Cirurgia e à Oftalmologia
Faculdade de Medicina/UFMG

1002
CONFERE COM O ORIGINAL
Centro de Pós-Graduação



FACULDADE DE MEDICINA
CENTRO DE PÓS-GRADUAÇÃO
Av. Prof. Alfredo Balena 190 / sala 533
Belo Horizonte - MG - CEP 30.130-100
Fone: (031) 3409.9641 FAX: (31) 3409.9640



DECLARAÇÃO

A Comissão Examinadora abaixo assinada, composta pelos Professores Doutores: Ivana Duval de Araujo, Rafael Calvão Barbuto, Daniele Cristina Cataneo e Andy Petroianu, aprovou a defesa da dissertação intitulada: **“CICATRIZAÇÃO DE ANASTOMOSES TRAQUEAIS APÓS USO TÓPICO DE MITOMICINA C EM RATOS”**, apresentada pelo mestrando **DANIEL OLIVEIRA BONOMI**, para obtenção do título de Mestre em Ciências Aplicadas à Cirurgia e à Oftalmologia, pelo Programa de Pós-Graduação em Ciências Aplicadas à Cirurgia e à Oftalmologia da Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Minas Gerais, realizada em 25 de abril de 2011.


Profa. Ivana Duval de Araujo
Orientadora


Prof. Rafael Calvão Barbuto
Coorientador


Profã. Daniele Cristina Cataneo


Prof. Andy Petroianu

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS

Reitor: Prof. Dr. Clélio Campolina Diniz

Vice-Reitora: Prof. Dra. Rocksane de Carvalho Norton

Pró-Reitor de Pós-Graduação: Prof. Dr. Ricardo Santiago Gomez

FACULDADE DE MEDICINA

Diretor: Prof. Dr. Francisco José Penna

Vice-Diretor: Prof. Dr. Tarcizo Afonso Nunes

Coordenador do Centro de Pós-Graduação: Prof. Dr. Manoel Otávio da Costa Rocha

Vice-Coordenadora do Centro de Pós-Graduação: Profa. Dra. Teresa Cristina de Abreu Ferrari

DEPARTAMENTO DE CIRURGIA

Chefe: Prof. Dr. Marcelo Eller Miranda

Vice-Chefe: Prof. Dr. Renato Santiago Gomez

COLEGIADO DO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS APLICADAS À CIRURGIA E À OFTALMOLOGIA

Coordenador: Prof. Dr. Marcelo Dias Sanches

Sub-Coordenador: Prof. Dra. Ivana Duval de Araujo

Membros: Prof. Dr. Edson Samesima Tatsuo

Prof. Dr. Alcino Lázaro da Silva

Prof. Dr. Tarcizo Afonso Nunes

Prof. Dr. Márcio Bittar Nehemy

Prof. Dr. Marco Aurélio Lana Peixoto

Discente Livia Garcia Ferreira

SECRETÁRIA ADMINISTRATIVA DO CENTRO DE PÓS- GRADUAÇÃO

Sra. Jussara Magalhães

A minha esposa, Inessa, pelo apoio incondicional.

AGRADECIMENTOS

Dizem que se você deseja ser bem sucedido é necessário você conhecer, acreditar e amar o que você faz. Acredito que em minha vida eu tive o prazer e a grande oportunidade de conhecer pessoas que considero bem sucedidas que me ajudaram nesse período da minha vida. Agradeço a todos que de maneiras diferentes me conduzem nesse fascinante mundo da cirurgia.

A Prof^a. Dr^a. Ivana e Prof. Dr. Rafael Barbuto, pela confiança e dedicação sem preço.

Ao Dr. Paulo pela colaboração e avaliação dos parâmetros histológicos das traqueias dos ratos estudados.

A minha esposa, Inessa, pelo simples fato de existir e tanto me apoiar.

Ao meu filho David, sua chegada me incentiva a ser uma pessoa melhor.

Minha mãe, Sandra, minhas irmãs, Daniella e Bruna, e minha afilhada Camila; a falta de atenção não afasta o amor e o cuidado que tenho para com vocês.

Tito Herculano Diniz, pai de profissão e amigo do coração.

Aos professores Marcelo Raush, Alexandre Resende e Sérgio Alexandre; exemplos na minha vida profissional.

Rogério Lopes, seu incentivo, meu amigo, desde a escolha da especialidade, jamais será esquecida.

Aos professores Guilherme Ribeiro e Silvio Paulo, o respeito incondicional.

Aos colegas do Hospital Municipal de Contagem local de consolidação profissional.

Aos amigos do Hospital Vitallis Barreiro, Hospital Vila da Serra e Hospital João XXIII, agradeço a honra de poder trabalhar com vocês.

Aos residentes que me orgulham de levar adiante a idéia de serem cirurgiões e não apenas operadores.

Astunaldo, amigo leal; nossa união profissional acarretará grandes momentos.

Aos amigos do Hospital Luxemburgo das mais diversas clínicas, aonde o convívio se faz cada vez mais agradável.

Ao amigo Mário Carvalho pela oportunidade do convívio e do aprendizado.

Eduardo, Dimas, Marcelo e Ricardo de Luca, Joaquim, Genilson, Ricardinho, José Marcos, Tereza, Roberta, Aldemar, Leticia, Gisela e Heloisa; a verdadeira “Tropa de Elite” da anestesia.

Enfim, aos meus pacientes, que me levam a buscar cada vez mais conhecimento.

“Good judgment comes from experience. Experience comes from poor judgment.”

Will Rogers (1879-1935)

RESUMO

A ressecção traqueal seguida da reconstrução término-terminal é a escolha principal no tratamento de diversas doenças benignas e malignas da traqueia. As principais complicações dessa terapia incluem granuloma na linha de anastomose, deiscência da sutura e estenose que, apesar de incomuns, levam a grande morbidade. Para reduzir alguns desses obstáculos preconiza-se a utilização de diversos fármacos e envoltórios. A Mitomicina C, uma droga anti-neoplásica, é capaz de modular a cicatrização, inibindo a proliferação de fibroblastos, portanto, modulando a resposta inflamatória. O objetivo deste estudo foi avaliar a interferência de esponja gelatinosa hemostática embebida em Mitomicina C na cicatrização da traqueia de ratos. Foram utilizados 18 ratos *Wistar* machos de peso e idade semelhantes distribuídos em três grupos de seis animais. No grupo controle (C), foi feita a desvascularização da traqueia, com intuito de dificultar a cicatrização, seguida de traqueotomia e reconstrução da via aérea. O grupo esponja (E) foi submetido à desvascularização seguida de traqueotomia e reconstrução da traqueia, com envolvimento da anastomose com tira de esponja hemostática. O grupo Mitomicina C (M) foi submetido à desvascularização seguida de traqueotomia e reconstrução da traqueia com envolvimento da anastomose por tira de esponja hemostática embebida em Mitomicina C, na concentração 0,4mg/ml. Os animais foram mortos após quatorze dias de acompanhamento. Observou-se tendência à diminuição da estenose da traqueia no grupo M (aumento do percentual da área traqueal), apesar de maior grau inflamação e de hiperplasia epitelial, além de presença de deiscência da anastomose em dois animais. Concluiu-se que a Mitomicina C pode ter um papel importante na modulação da cicatrização da traqueia, com diminuição das chances de estenose pós-operatórias, porém suas complicações agudas impedem sua utilização indiscriminada. Novos estudos com concentrações e tempo de exposição diferentes devem ser considerados.

Palavras-chave: Traquéia/cirurgia; Mitomicina C; Cicatriz

ABSTRACT

The tracheal resection followed by end to end reconstruction is first choice in treating various benign and malignant diseases of the trachea. The main complications of this therapy include granuloma at the anastomotic site, suture dehiscence and stenosis, which, although uncommon, lead to high morbidity. To reduce some of these obstacles calls for the use of several drugs and wraps. The mitomycin C, an anti-cancer drug, is able to modulate wound healing by inhibiting fibroblast proliferation, thus modulating the inflammatory response. The aim of this study was to evaluate the role of hemostatic gelatin sponge soaked in mitomycin C on the healing of the trachea of rats. We used 18 male Wistar rats of similar weight and age distributed in three groups of six animals. In the control group (C), was made the devascularization of the trachea, with the aim of preventing wound healing, followed by tracheotomy, and airway reconstruction. The sponge group (E) underwent devascularization followed by tracheotomy and tracheal reconstruction, involving the anastomosis with a strip of hemostatic sponge. The group Mitomycin C (M) underwent devascularization followed by tracheotomy and tracheal reconstruction with involvement of the anastomosis by strip hemostatic sponge soaked in mitomycin C at the concentration 0.4 mg / ml. The animals were killed after fourteen days of monitoring. There was a tendency to decrease in tracheal stenosis in group M (an increase in the percentage of tracheal area), despite the higher degree of inflammation and epithelial hyperplasia, and presence of anastomotic dehiscence in two animals. It was concluded that mitomycin C may have an important role in modulating the healing of the trachea, with reduced chances of postoperative stenosis, but its acute complications prevent their indiscriminate use. Further studies with concentrations and different exposure time should be considered

Keywords: Trachea/surgery; Mitomycin C; Cicatrix

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

FIGURAS

Figura 1-	Cervicotomia e identificação de músculos pré-traqueais do rato	8
Figura 2-	Identificação da traqueia do rato	9
Figura 3-	Dissecção da traqueia do rato	9
Figura 4-	Desvascularização da traqueia do rato	9
Figura 5-	Reparo traqueal com fio de poliéster trançado 1	10
Figura 6-	Aspiração e higienização da traqueia do rato	10
Figura 7-	Confecção da anastomose traqueal com fio de polipropileno 5-0	11
Figura 8-	Adaptação de esponja envolvendo a traqueia do rato	12
Figura 9-	Confecção da anastomose e cobertura da mesma com a esponja	12
Figura 10-	Esponja embebida de Mitomicina C envolvendo a anastomose da traqueia do rato	13
Figura 11-	Dissecção e ressecção da traqueia para estudo após a eutanásia	13
Figura 12-	Desenho esquemático da coleta dos segmentos circunferenciais de traqueia não manipulada e da anastomose	15
Figura 13-	Estudo da integridade da luz traqueal na área de anastomose	17
Figura 14-	Tamponamento da deiscência da anastomose traqueal do rato	19
Figura 15-	Visualização da deiscência após liberação de estruturas	19
Figura 16-	Deiscência da anastomose da sutura traqueal do rato	19
Figura 17-	Microfotografia da traqueia de rato: Epitélio preservado, sem hiperplasia ou inflamação subepitelial. Neoformação fibrovascular exuberante abaixo do anel cartilaginoso, com esboço de célula gigante. (HE, 100X)	24
Figura 18-	Microfotografia da traqueia de rato: Detalhe da neoformação fibrovascular exuberante abaixo do anel cartilaginoso, com célula gigante multinucleada e imagem negativa de corpo estranho. (HE, 400X)	24
Figura 19-	Microfotografia da traqueia de rato: Hiperplasia do epitélio associada a inflamação moderada subepitelial. Demais camadas	25

sem alteração. (HE, 100X)

Figura 20- Microfotografia da traqueia de rato: Detalhe da hiperplasia do epitélio, com formação de projeções papilíferas, associada a inflamação moderado-acentuada subepitelial. Demais camadas sem alteração. (HE, 400X)

25

TABELAS

Tabela 1-	Comparação entre os grupos em relação ao grau de aderências	18
Tabela 2-	Distribuição dos grupos em relação à ausência ou presença de deiscência na anastomose traqueal	18
Tabela 3-	Avaliação do grau de inflamação na traqueia de ratos <i>Wistar</i> submetidos à traqueotomia e reanastomose	21
Tabela 4-	Avaliação de alterações da estrutura do epitélio na região da anastomose na traqueia de ratos <i>Wistar</i> submetidos à traqueotomia e reanastomose	22
Tabela 5-	Avaliação da presença de reação do tipo corpo estranho na traqueia de ratos <i>Wistar</i> submetidos à traqueotomia e reanastomose	23

GRÁFICOS

Gráfico 1-	Comparação entre o segmento controle e o segmento da anastomose traqueal	20
Gráfico 2-	Comparação percentual entre a área traqueal não manipulada e a da anastomose entre os grupos	21
Gráfico 3-	Avaliação do grau de inflamação na traqueia de ratos <i>Wistar</i> submetidos à traqueotomia e reanastomose	22
Gráfico 4-	Avaliação de alterações da estrutura do epitélio na região da anastomose na traqueia de ratos <i>Wistar</i> submetidos à traqueotomia e reanastomose	23

ÍNDICE

1 INTRODUÇÃO	1
2 OBJETIVO.....	5
3 RELEVÂNCIA.....	6
4 MATERIAIS E MÉTODO	7
4.1 Animais utilizados e cuidados dispensados	7
4.2 Delineamento experimental	7
4.3 Procedimentos cirúrgicos	8
4.3.1 Grupo C - Controle.....	10
4.3.2 Grupo E - Esponja	11
4.3.3 Grupo M – Mitomicina C	12
4.4 Eutanásia	13
4.5 Avaliação Macroscópica	14
4.6 Avaliação Microscópica.....	15
4.7 Análise estatística	16
5 Resultados	17
5.1 Sobrevida.....	17
5.2 Macroscopia.....	17
5.3 Microscopia	21
6 Discussão.....	246
7 Conclusão	30
8 Perspectivas futuras.....	31
9 Referências	32
10 Anexos	36

1 INTRODUÇÃO

Os procedimentos cirúrgicos que abrangem a traqueia e os brônquios fazem parte de um ramo da cirurgia torácica de alta complexidade que com frequência acarretam desafios ao cirurgião do tórax que se dedica a essas operações.¹

Operações sobre a traqueia datam de cerca de 3000 anos, com a realização de traqueotomias, porém foi creditado a Antonio Musa Brasavola, médico italiano, em 1546, a descrição da primeira traqueotomia bem sucedida. Sanctorio Sanctorius, em 1626, descreveu a técnica de realização de traqueotomia percutânea. Em meados de 1700 a traqueotomia foi encorajada como método de reanimação de vítimas afogadas. Apesar da descrição de procedimentos bem sucedidos, muitos cirurgiões da época acreditavam na inviolabilidade da traqueia, ou seja, todo e qualquer procedimento sob a traqueia deveria ser abandonado.²

A crença de que a cicatrização da traqueia e dos brônquios ocorria de forma ineficiente embasava-se na observação da escassa vascularização cartilaginosa e da tensão na linha de anastomose, o que justificou a falta de ousadia na elaboração de procedimentos complexos sob a traqueia e os brônquios antes do século XX.^{2, 3, 4} Junto com o desenvolvimento da medicina intensiva e da ventilação mecânica sob pressão positiva, em 1960, advieram complicações sobre a traqueia, com crescente aumento da frequência de lesões traqueais proporcionadas por estenoses pós intubação. Com isso, complicações antes raras, trouxeram a necessidade de abordagem para resolução desses novos problemas.^{2, 3, 5}

O estudo da anatomia e vascularização da traqueia e a experiência adquirida com a técnica de liberação traqueal permitiram o desenvolvimento de operações de maior porte, e a reconstrução traqueal e brônquica termino-terminal são, atualmente, as principais escolhas no tratamento das afecções cirúrgicas das vias aéreas. Atualmente pode-se retirar cerca de 50% da extensão traqueal com reconstrução por anastomose termino-terminal.⁵

A qualidade da anastomose traqueal pode ser influenciada por alguns fatores como a presença de processo inflamatório cicatricial, a força de tensão de aproximação das bordas da traqueia e a técnica cirúrgica.

O processo inflamatório cicatricial, que tem início no trauma aos tecidos, promovem um organizado e complexo evento celular e bioquímico em cascata. Este

processo de cicatrização das feridas é constituído de três fases distintas e superpostas. As fases são separadas com propósito didático em: inflamatória, proliferativa e de formação e remodelamento da matriz. O retardo ou falha em uma dessas fases pode resultar em retardo da cicatrização ou falha no fechamento da ferida, comprometendo a anastomose da via aérea e trazendo complicações.⁶

As principais complicações da sutura traqueal são a infecção e o granuloma na linha de anastomose, a disfunção laríngea, a deiscência da anastomose e a estenose.⁷ Esses obstáculos, quando presentes, impõem grande morbi-mortalidade aos pacientes.⁵ Portanto, investigar melhor a cicatrização traqueal é essencial para o avanço desse ramo da medicina ainda aberto a novas conquistas.

Para minimizar as complicações pós-operatórias, os princípios básicos das operações sobre a traqueia são: técnica cirúrgica exímia e meticulosa, para preservar o suprimento sanguíneo lateral na região da anastomose, evitando a lesão do nervo laríngeo recorrente e confecção de anastomose livre de tensão, por meio de técnicas de relaxamento traqueal.^{7, 8, 9}

O emprego de diversos envoltórios e fármacos tem sido descrito para modular a cicatriz e diminuir as complicações operatórias.^{4, 10} Várias próteses foram tentadas como, por exemplo, o dacron, o vidro e a tela de polipropileno. Algumas dessas apresentaram bons resultados em estudos experimentais, porém decepcionantes na prática clínica. A ocorrência de deiscência, oclusão por tecido de granulação, erosão e infecção com frequência dificultavam a utilização dessas próteses.⁵

A utilização de invólucros, como retalho de músculo intercostal, diafragma, pericárdio, retalho de pleura e omento são descritos como fatores adjuvantes no manejo de lesões e suturas sob a traqueia e os brônquios.^{3, 7, 11} O envolvimento do brônquio com o omento, associado à melhor qualidade da imunossupressão, foram eventos fundamentais no desenvolvimento do transplante pulmonar.¹²

A esponja gelatinosa com alta capacidade absorviva é um dos envoltórios empregados em cirurgias otorrinolaringológicas para acomodação de tecidos e hemostasia e na cirurgia do tórax como auxiliar no tratamento de fístulas bronco pleurais.¹³

A Mitomicina C é um agente antineoplásico que tem a capacidade de inibir a atividade e proliferação do fibroblasto. É um dos fármacos usados atualmente na prevenção de estenoses após cirurgias otorrinolaringológicas e no tratamento de

afecções oftalmológicas.^{10, 14, 15} Foi inicialmente utilizada como um antimicrobiano derivado do *Streptomyces caespitosus*. Este agente polivalente mostrou ter atividade antitumoral inibindo a síntese de DNA.¹⁶

Desde o início de 1990 a Mitomicina C passou a ser cada vez mais empregada como um fármaco capaz de reduzir a formação de cicatriz. O mecanismo de ação para redução de cicatrizes foi sugerido devido ao seu efeito de bloqueio da síntese do DNA, impedindo assim a proliferação de fibroblastos, um passo importante no reparo de feridas.¹⁶

Quando usada topicamente, aquele efeito da Mitomicina C tem demonstrado ser influenciado pela concentração e o tempo de exposição. Quanto maior a concentração e maior o tempo de exposição do fármaco na ferida, pode-se inferir um maior efeito biológico e também suas complicações.¹⁶

Diversos são os trabalhos que utilizam a Mitomicina C tentando modular a cicatrização. A maioria mostra efeitos benéficos porém poucos levantam a questão de possíveis complicações.

Gray (2003) em seu trabalho afirma que feridas em ratos tratadas com Mitomicina C são de cicatrização mais lenta e com sua integridade comprometida. Além disso, ressalta a falta de consenso sobre a duração de ação e a dose ideal do fármaco *in vivo* para modulação de cicatrizes.

Ferguson (2005) em seu trabalho com aplicação de Mitomicina C, em diversas concentrações, no subcutâneo de ratos, com objetivo de determinar a dose de tratamento e seus efeitos tempo-dependente, concluiu que há um efeito a longo prazo da Mitomicina C na ferida, inibindo o colágeno e a produção de fibronectina e induzindo a apoptose. Também que o uso de Mitomicina C acima de 0,4 mg/mL não alterou as concentrações de proteína ou taxa de apoptoses.

Da mesma forma, Huan e Simpson (2005) ressaltam que concentrações maiores que 1% de Mitomicina C levam a uma irreversível inibição de fibroblastos e aumento significativo dos riscos de complicações respiratórias.

A Mitomicina C mostrou ser benéfica também no tratamento endoscópico adjuvante de estenoses traqueais, porém, os trabalhos a utilizando no momento da reconstrução traqueal são pouco discutidos.^{19, 20, 21}

Rahbar (2001) e Simpson *et al.* (2006) demonstraram que a aplicação de Mitomicina C tópica pode ser utilizada como auxiliar no tratamento endoscópico da

estenose traqueal e laríngea. Perepelitsyn (2004) em seu estudo de coorte retrospectivo também sugeriu um aumento significativo da taxa de sucesso obtido no tratamento endoscópico da estenose laringotraqueal com o emprego de Mitomicina C.

Diante do exposto, esse estudo se propõe a avaliar a cicatrização da anastomose traqueal envolta por esponja gelatinosa embebida por Mitomicina C em ratos *Wistar*, observando as características da luz da traqueia e as consequências histológicas sob o epitélio traqueal e o grau de inflamação na anastomose.

2 OBJETIVO

Avaliar os efeitos da Mitomicina C na cicatrização da anastomose traqueal de ratos *Wistar*, observando suas características macro e microscópicas.

3 RELEVÂNCIA

O manejo do paciente com afecção traqueal é complexo e deve ser individualizado, levando-se em conta o tipo da afecção (inflamatório, cicatricial, infeccioso ou tumoral), a extensão da doença e as condições clínicas do paciente. Muitas vezes são necessários repetidos procedimentos endoscópicos e cirúrgicos e, com frequência, ocorrem complicações como re-estenose, deiscência da sutura, traqueomalacia, formação de granuloma, perfuração traqueal e fístulas traqueoesofágica e traqueo-inonimada, além de sangramento e insuficiência respiratória.⁶ Por se tratar de complicações na via aérea principal fica fácil entender a gravidade e o perigo que elas representam. Portanto, o emprego de substâncias químicas capazes de interagir e modular a cicatrização traqueal no intuito de evitar complicações poderia revolucionar o tratamento das afecções traqueais, proporcionando operações mais seguras e com maior garantia de resultados positivos.

4 MATERIAIS E MÉTODO

4.1 Animais utilizados e cuidados dispensados

O experimento foi realizado de acordo com as Normas Internacionais para a Pesquisa Biomédica em Animais e com a Lei Federal nº. 11.794, de 08 de outubro de 2008 ²⁴, portanto dentro dos preceitos estabelecidos pelo Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA). Foi aprovado pelo Comitê de Ética em Experimentação Animal da Universidade Federal de Minas Gerais (CETEA/UFMG) em 23 de junho de 2010 sob o protocolo 130/2010 (ANEXO 1).

Foram utilizados 18 ratos adultos machos *Wistar*. Os animais foram obtidos no biotério do Instituto de Ciências Biológicas da UFMG, com idade semelhante e peso entre 286mg a 390mg. Após o período de quarentena, os animais foram acondicionados em gaiolas coletivas com capacidade máxima de seis animais e receberam água e ração Labina® (Purina) para ratos à vontade. Os ratos permaneceram alojados durante todo o experimento no Biotério Central da Faculdade de Medicina da UFMG e foram submetidos a ciclos naturais dia/noite.

Não foi necessário jejum pré e pós-operatório no dia do procedimento. Após a operação os animais receberam analgesia com Cetoprofeno (5mg/kg).

4.2 Delineamento experimental

Os animais foram distribuídos aleatoriamente em três grupos de seis animais, conforme abaixo:

Grupo C – (Controle): realizadas dissecação e desvascularização traqueal da laringe ao estreito superior do tórax, seguida de traqueotomia envolvendo 50% da circunferência da traqueia e traqueorráfia.

Grupo E – (Esponja): realizadas dissecação e desvascularização traqueal da laringe ao estreito superior do tórax, seguida de traqueotomia envolvendo 50% da

circunferência da traqueia e traqueorrafia, com envolvimento da anastomose por esponja gelatinosa hemostática.

Grupo M – (Mitomicina C): realizadas dissecação e desvascularização traqueal da laringe ao estreito superior do tórax, seguida de traqueotomia envolvendo 50% da circunferência da traqueia e traqueorrafia, com envolvimento da anastomose por esponja gelatinosa hemostática embebida em Mitomicina C.

4.3 Procedimentos cirúrgicos

Utilizou-se para a anestesia Ketamina (50mg/ml) na dose de 50 mg/kg e Xilazina (20mg/ml) na dose de 8 mg/kg via intra-peritoneal.

Os animais foram posicionados em decúbito dorsal com hiperextensão cervical. Foram realizadas remoção de pêlos e antissepsia da região cervical com solução alcoólica de Clorexidina 0,5% e, em seguida, a traqueia cervical foi abordada por meio de incisão mediana longitudinal e divulsão dos músculos e da fáscia pré-traqueal (Fig. 1, 2 e 3). Ao se identificar a traqueia, foi realizada a desvascularização desde a laringe até a porção mais distal possível da traqueia com a utilização da pinça hemostática (Fig. 4). Tal procedimento objetivou dificultar a cicatrização na anastomose traqueal.



Figura 1 - Cervicotomia e identificação de músculos pré-traqueais do rato.



Figura 2 - Identificação da traqueia do rato.



Figura 3 - Dissecção da traqueia do rato.



Figura 4 - Desvascularização da traqueia do rato.

Depois dessa etapa, os animais foram submetidos aos procedimentos específicos de acordo com o grupo a que pertenciam:

4.3.1 Grupo C - Controle

A traqueia foi reparada com fio poliéster trançado 1 pré-cortado, para garantir sua tração (Fig. 5). Foi realizada incisão semi circunferencial entre o quarto e quinto anel traqueal, com a utilização de lâmina de bisturi número 11, tomando-se cuidado de preservar a porção membranosa da traqueia.

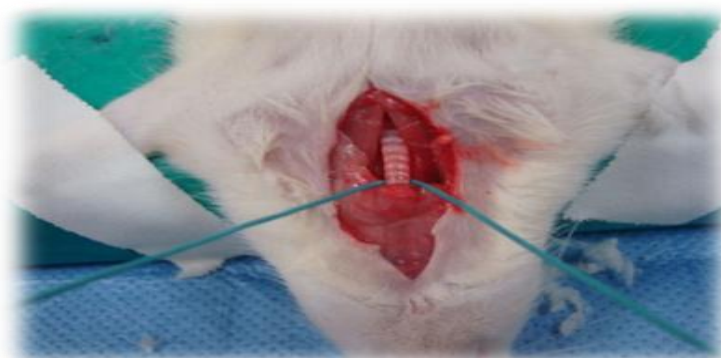


Figura 5 - Reparo traqueal com fio de poliéster trançado 1.

Procedeu-se a aspiração da traqueia com utilização de cateter de Nelaton número quatro, no intuito de higienizar a via aérea (Fig. 6).



Figura 6 - Aspiração e higienização da traqueia do rato.

Na seqüência foi realizada a reconstrução da traqueia com dois pontos simples, utilizando-se polipropileno 5-0 (Fig. 7).

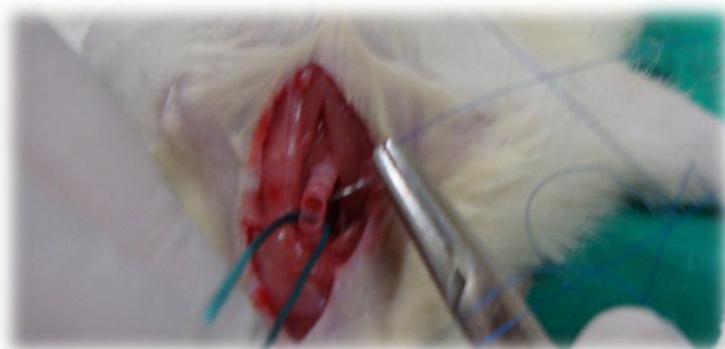


Figura 7 - Confecção da anastomose traqueal com fio de polipropileno 5-0.

Retirou-se o fio de reparo traqueal e procedeu-se a sutura por planos musculares utilizando o fio poliglactina 3-0.

4.3.2 Grupo E - Esponja

Realizado todos os tempos de dissecação e desvascularização da traqueia como no grupo C. Em seguida posicionou-se, posteriormente à porção membranosa da traqueia, a esponja gelatinosa absorvível e hemostática, constituída de fragmento retangular com medidas de 2,5 x 1,2cm e 0,2cm de espessura (Fig. 8).

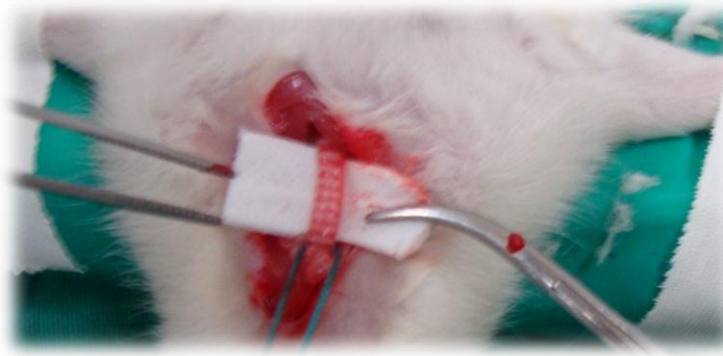


Figura 8 - Adaptação de esponja envolvendo a traqueia do rato.

Continuou-se com a abertura da traqueia entre o quarto e quinto anel seguido de aspiração e reconstrução com polipropileno 5-0 (Fig. 9).

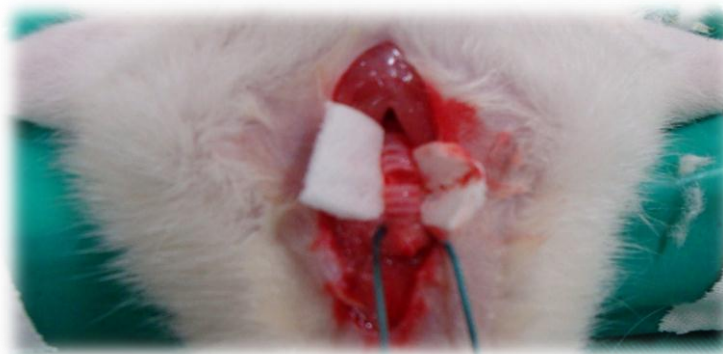


Figura 9 - Confeção da anastomose e cobertura da mesma com a esponja.

Após a sutura envolveu-se a anastomose com a esponja e procedeu-se ao fechamento da ferida por planos como realizada no grupo controle.

4.3.3 Grupo M – Mitomicina C

Os animais desse grupo foram submetidos aos mesmos tempos cirúrgicos observados no grupo E. A Mitomicina C foi obtida através da diluição de pó liofilizado contendo 5mg do produto em 12ml de NaCl 0,9%. A esponja hemostática foi

embebida em 0,5ml de Mitomicina C (0,4mg/ml) e envolta na traqueia, mantendo contato prolongado daquele fármaco (Fig. 10).



Figura 10 - Esponja embebida de Mitomicina C envolvendo a anastomose da traqueia do rato.

4.4 Eutanásia

Após 14 dias de observação e cuidados, os animais foram mortos através de sobredose de Ketamina e Xilazina, nas doses respectivamente, 150mg/Kg e 24mg/Kg. Após a morte os animais foram novamente posicionados em posição de hiperextensão cervical, sendo realizada nova cervicotomia para avaliação macroscópica da ferida operatória e coleta da traqueia para estudos microscópicos (Fig. 11).

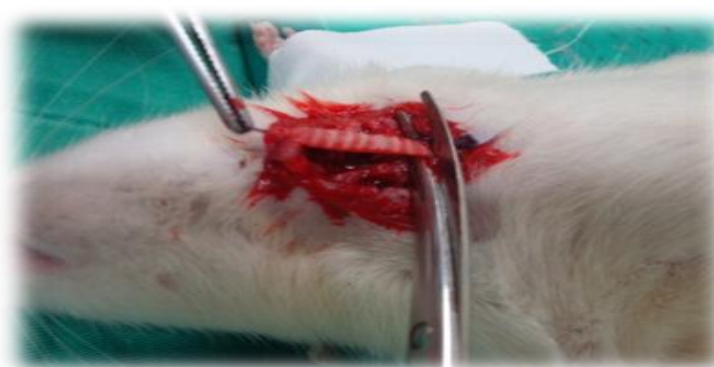


Figura 11 - Dissecção e ressecção da traqueia para estudo após a eutanásia.

Em seguida realizou-se a sutura da ferida e acondicionamento das carcaças dos animais em sacos plásticos, para serem descartados conforme protocolo do laboratório.

4.5 Avaliação Macroscópica

O estudo macroscópico consistiu-se de avaliar as características da luz traqueal, a ocorrência de abscessos, fístulas, deiscência de anastomose e de aderências com estruturas vizinhas na região da sutura (ANEXO 2).

As aderências foram classificadas como ausentes ou presentes. Quando presentes classificadas como firmes ou frouxas. As aderências firmes foram aquelas de difícil separação com tração, já as aderências frouxas foram as de fácil descolamento com tração.

Abscesso, fístula e deiscência da anastomose foram classificados como presentes ou ausentes. No caso da deiscência, se presente, essa foi classificada como completa ou incompleta, na dependência do acometimento da sutura. O estudo da luz traqueal, pérvia ou não, foi feito pela introdução de sondas (cateter de Nelaton) de calibres variados pela luz da traqueia.

Foi realizada a coleta de pequenos segmentos circunferenciais da traqueia. O primeiro a um centímetro da anastomose (segmento controle) e o outro, contendo a anastomose (Fig. 12). Essas amostras foram separadas e digitalizadas em todos os grupos (ANEXO 3), para posterior avaliação da área da traqueia através do programa Autocad. Foram feitas a definição das duas áreas da traqueia em cada animal, a área controle e a área da anastomose, além da relação entre as duas áreas. Após determinar a área, o segmento traqueal contendo a anastomose foi armazenado em frascos contendo formol a 10%, com intuito de se realizar a avaliação microscópica.

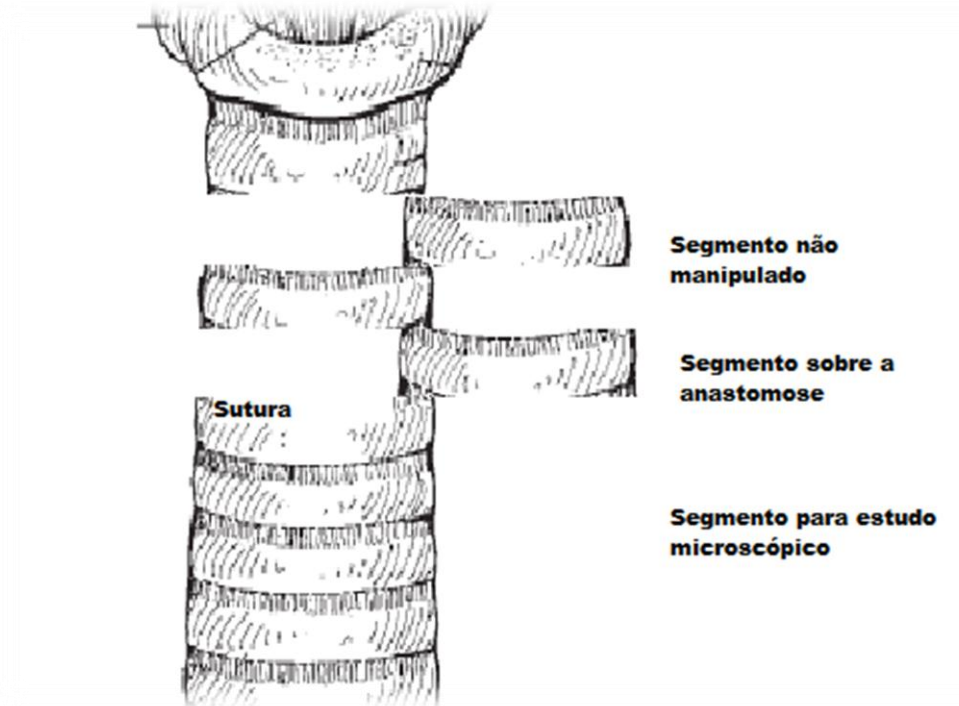


Figura 12 – Desenho esquemático da coleta dos segmentos da traqueia não manipulada e da anastomose.

4.6 Avaliação Microscópica

Os segmentos de traqueia foram enviados para exame anátomo-patológico, fixados em formol a 10% e incluídos em parafina de acordo com métodos usuais. Cortes de 4 μ de espessura, corados por Hematoxilina e Eosina (HE) foram realizados.

A avaliação histológica foi efetuada por médico patologista com expertise em estudos sobre alterações inflamatórias nos tecidos.

A inflamação do tecido traqueal foi classificada de acordo com o Sistema Sydney modificado²⁶, sendo considerada como:

- Ausente (“normal”): presença de células mononucleares (linfócitos, macrófagos e principalmente plasmócitos) isoladas, raras, ou em pequenos grupos de 2-5 células na lâmina própria, por campo de grande aumento (objetiva de 40X) e/ou infiltrado inflamatório mononuclear linfoplasmocitário em pequenos

agrupamentos (2-3 células) entre as foveolas; ausência de folículos linfóides e de neutrófilos polimorfonucleares.

- Discreta: infiltrado inflamatório em pequenos grupos localizados no terço superficial da mucosa, com ou sem folículos linfóides.

- Moderada: infiltrado inflamatório em grupos maiores em toda a lâmina própria, com ou sem folículos linfóides.

- Acentuada: infiltrado inflamatório denso em toda a lâmina própria, com tendência a afastar as glândulas.

Já as alterações epiteliais foram pontuadas como presente quando foram observadas alterações do epitélio ou ausente, quando não ocorreu nenhuma alteração quanto à estrutura do epitélio de uma traqueia de rato normal, que foi morto sem qualquer manipulação para a obtenção de uma traqueia controle (ANEXO 4).

4.7 Análise estatística

A área da traqueia controle, a área da anastomose da traqueia e a relação entre as áreas controle e de anastomose foram comparadas entre os grupos através do teste t de Student, utilizando o programa estatístico SPSS. Foram consideradas diferenças para $p < 0,05$.

As alterações histológicas da traqueia foram comparadas entre os grupos utilizando o teste do qui-quadrado com correção de Fisher. Foram consideradas diferenças para $p < 0,05$.

5 Resultados

5.1 Sobrevida

O único grupo que apresentou perdas foi o grupo E, com duas mortes. Um animal morreu no primeiro dia e o outro no décimo dia pós-operatório, porém não foi realizada necrópsia dos ratos. Para os demais, seguiu-se o protocolo e os animais foram mortos após 14 dias da operação. Durante o acompanhamento não se evidenciaram sinais de esforço respiratório ou dificuldade respiratória nos animais.

5.2 Macroscopia

O estudo da integridade da luz traqueal mostrou que todos os segmentos traqueais encontravam-se pérvios após a introdução de cateter de Nelaton número 6 (Fig. 13).



Figura 13 - Estudo da integridade da luz traqueal na área de anastomose

Não foram vistos abscessos ou fístulas da traqueia com outras estruturas do pescoço.

Encontraram-se aderências em todos os animais. A TABELA 1 mostra que as aderências do grupo C eram mais firmes que as do grupo E e as do grupo M.

Tabela 1- Comparação entre os grupos em relação ao grau de aderências

Aderências	Controle		Esponja		Mitomicina C	
	n	%	n	%	n	%
Firmes	6	100	0	0	2	33,3
Frouxas	0	0	4	100	4	66,6

A TABELA 2 mostra o resultado da presença de deiscência de anastomose traqueal em dois animais do grupo M. A deiscência encontrava-se tamponada por tecidos pré-traqueais (Fig. 14, 15 e 16).

Tabela 2 - Distribuição dos grupos em relação à ausência ou presença de deiscência na anastomose traqueal

Deiscência	Controle		Esponja		Mitomicina C	
	n	%	n	%	n	%
Ausente	6	100	4	100	4	66,6
Presente	0	0	0	0	2	33,3

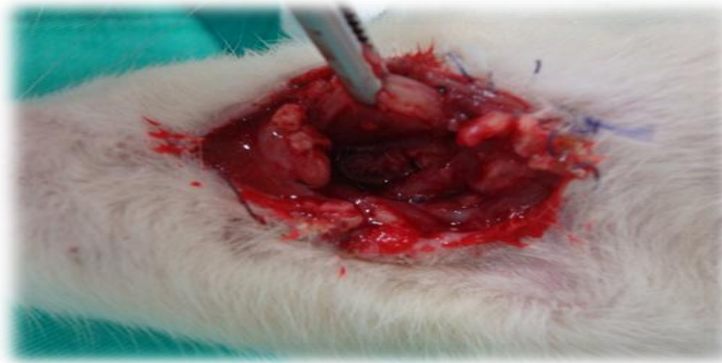


Figura 14 - Tamponamento da deiscência da anastomose traqueal do rato.



Figura 15 - Visualização da deiscência após liberação de estruturas.



Figura 16 - Deiscência da anastomose da sutura traqueal do rato.

Quanto à avaliação das características da luz traqueal, observou-se que o segmento da traqueia onde não foi feita intervenção foi de $0,78 \pm 0,21\text{mm}^2$ no grupo controle, $0,69 \pm 0,13\text{mm}^2$ no grupo esponja e $0,78 \pm 0,14\text{mm}^2$ no grupo Mitomicina C. A área inicial das traqueias não foi diferente entre os grupos.

O segmento da anastomose foi $0,59 \pm 0,13\text{mm}^2$ no grupo controle, $0,55 \pm 0,11\text{mm}^2$ no grupo esponja e $0,71 \pm 0,18\text{mm}^2$ no grupo Mitomicina C. Apesar da maior área absoluta no grupo onde foi utilizada a Mitomicina C, não houve diferença entre os grupos (GRÁFICO 1).

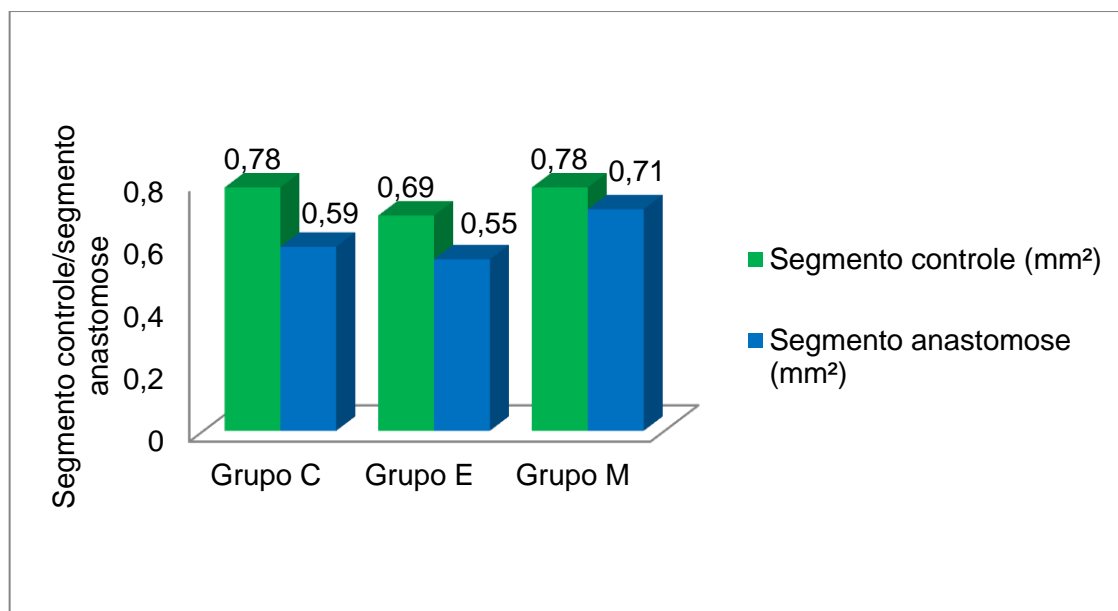


Gráfico 1 - Comparação entre o segmento controle e o segmento da anastomose traqueal.

Quando foi feito o cálculo percentual da área da anastomose em relação à área de traqueia não manipulada, o percentual foi de $76,5 \pm 5,7\%$ no grupo controle, $80,2 \pm 16,6\%$ no grupo esponja e $92,3 \pm 19,6\%$ no grupo Mitomicina C. Portanto, houve uma maior área percentual na anastomose no grupo Mitomicina C quando comparado ao grupo controle ($p = 0,03$ pelo teste t de Student), como pode ser visto no GRÁFICO 2.

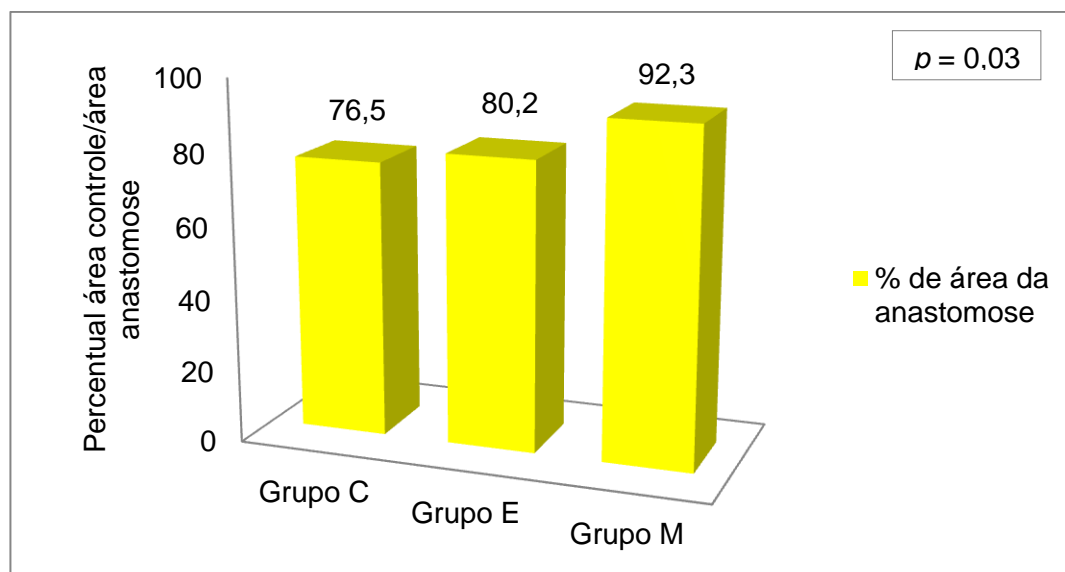


Gráfico 2 - Comparação percentual entre a área traqueal não manipulada e a da anastomose entre os grupos.

5.3 Microscopia

A TABELA 3 e o GRÁFICO 3 mostram o resultado do grau de inflamação na cicatriz traqueal de acordo com o Sistema Sidney modificado. Observaram-se dados compatíveis com parâmetros de inflamação acentuada do tecido traqueal no grupo M, estatisticamente significativos quando comparados aos demais grupos ($p = 0,03$ pelo teste Qui-quadrado com correção de Fisher).

Tabela 3 - Avaliação do grau de inflamação na traqueia de ratos *Wistar* submetidos à traqueotomia e reanastomose.

Inflamação	Controle		Esponja		Mitomicina C	
	n	%	n	%	n	%
Leve	4	66,6	2	50	0	0
Acentuada	2	33,3	2	50	6	100

$p = 0,03$

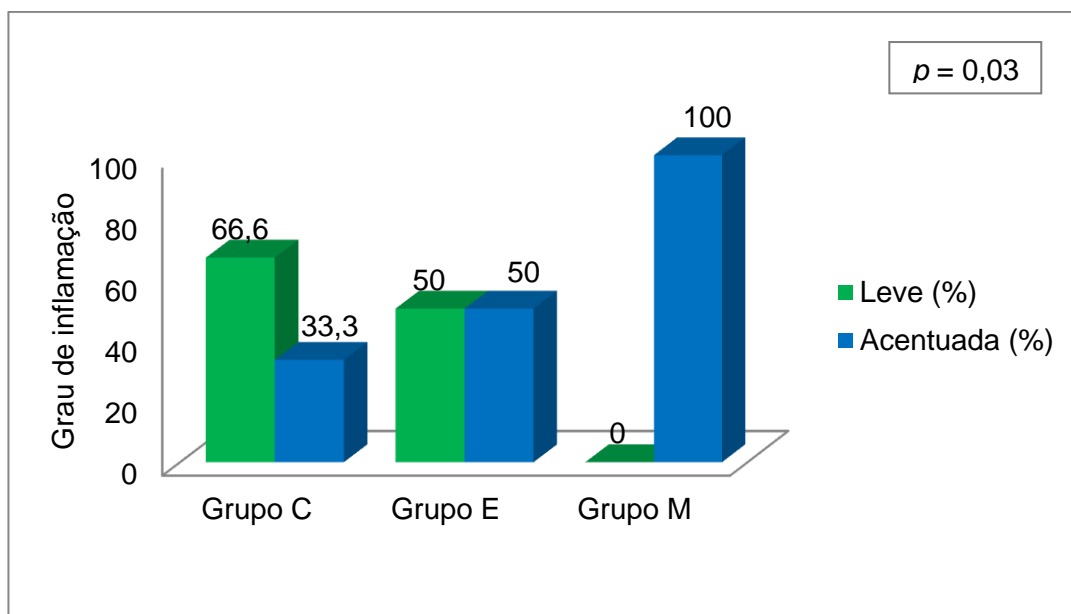


Gráfico 3 - Avaliação do grau de inflamação na traqueia de ratos *Wistar* submetidos à traqueotomia e reanastomose.

A TABELA 4 e o GRÁFICO 4 abordam o estudo do epitélio traqueal na região da anastomose, apontando alterações em sua estrutura. As alterações epiteliais hiperplásicas no grupo M foram relevantes quando comparadas aos demais grupos ($p = 0,002$ pelo teste Qui-quadrado com correção de Fisher).

Tabela 4 - Avaliação de alterações da estrutura do epitélio na região da anastomose na traqueia de ratos *Wistar* submetidos à traqueotomia e reanastomose.

Alterações epiteliais	Controle		Esponja		Mitomicina C	
	n	%	n	%	n	%
Ausentes	6	100	3	75	0	0
Hiperplasia	0	0	1	25	6	100

$p = 0,002$

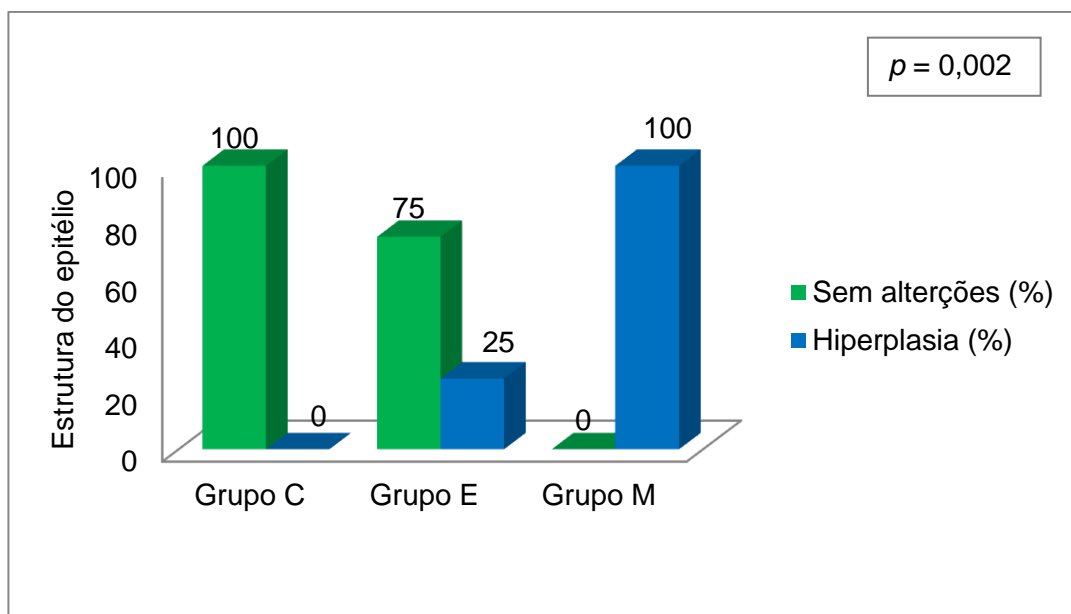


Gráfico 4 - Avaliação de alterações da estrutura do epitélio na região da anastomose na traqueia de ratos *Wistar* submetidos à traqueotomia e reanastomose.

Foi avaliada a presença ou ausência de reação de granuloma do tipo corpo estranho na região da cicatriz da anastomose traqueal. A TABELA 5 descreve os achados que não mostraram alterações estatisticamente significantes ($p = 0,08$ pelo teste Qui-quadrado com correção de Fisher).

Tabela 5 - Avaliação de reação tipo corpo estranho na traqueia de ratos *Wistar* submetidos à traqueotomia e reanastomose.

Reação de corpo estranho	Controle		Esponja		Mitomicina C	
	n	%	n	%	N	%
Ausentes	3	50	2	50	6	100
Presentes	3	50	2	50	0	0

$p = 0,08$

A seguir microfotografias dos parâmetros histológicos na traqueia de ratos *Wistar* submetidos aos procedimentos de traqueotomia e reanastomose com aplicação de esponja hemostática e de esponja embebida em Mitomicina C.

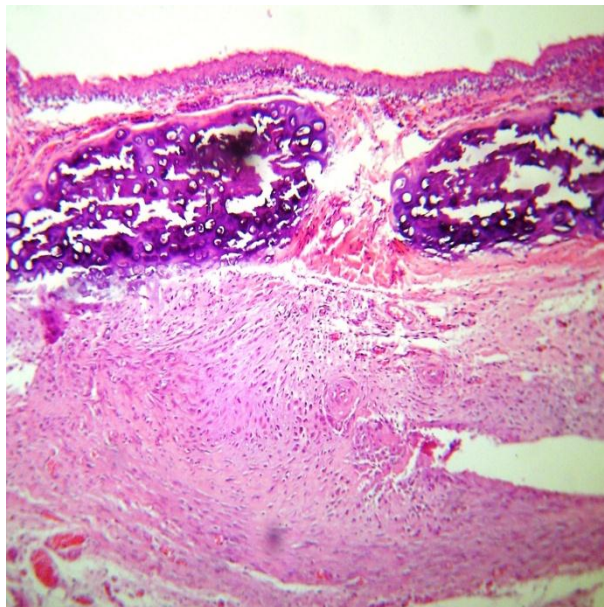


Figura 17 - Microfotografia da traqueia de rato: Epitélio preservado, sem hiperplasia ou inflamação subepitelial. Neoformação fibrovascular exuberante abaixo do anel cartilaginoso, com esboço de célula gigante. (HE, 100X).

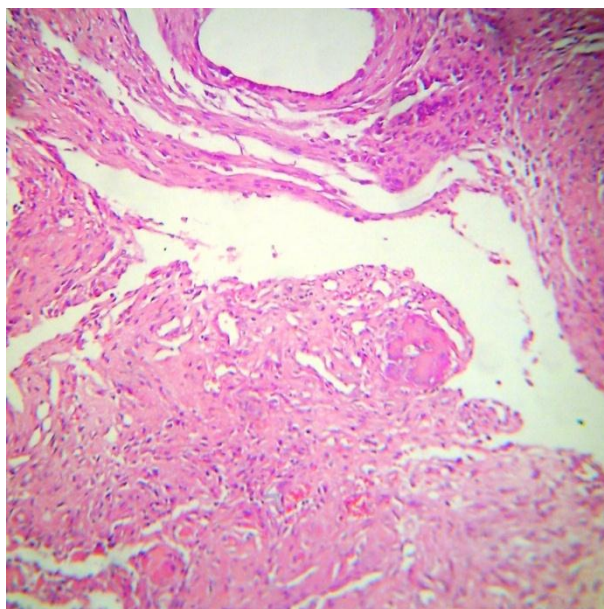


Figura 18 - Microfotografia da traqueia de rato: Detalhe da neoformação fibrovascular exuberante abaixo do anel cartilaginoso, com célula gigante multinucleada e imagem negativa de corpo estranho. (HE, 400X).

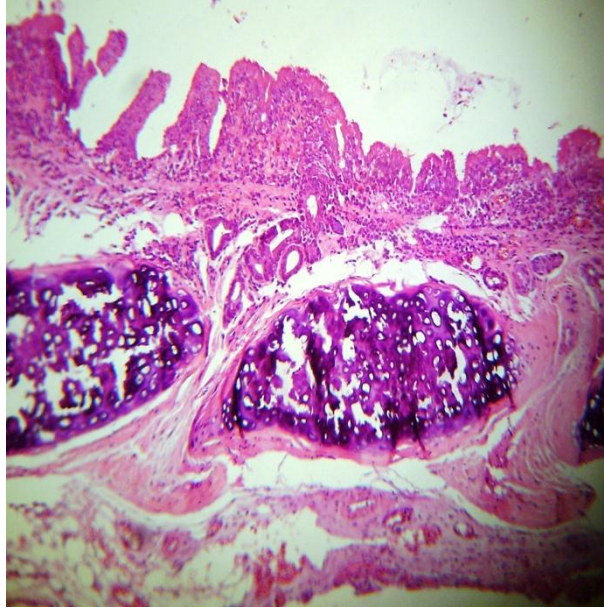


Figura 19 - Microfotografia da traqueia de rato: Hiperplasia do epitélio associada a inflamação moderada subepitelial. Demais camadas sem alteração. (HE, 100X).

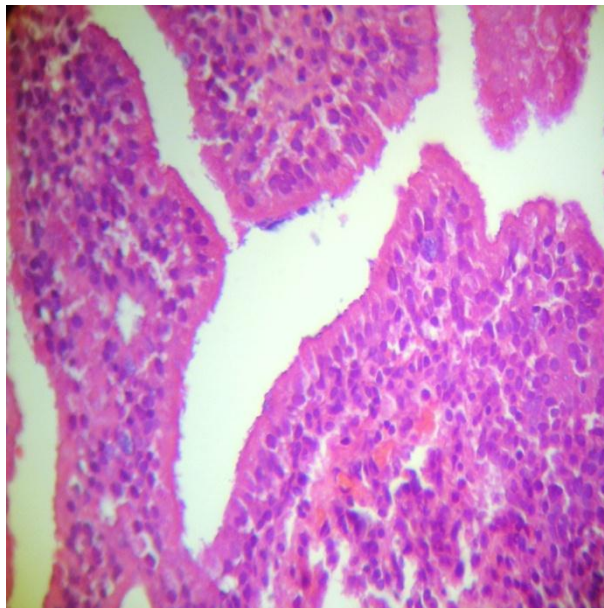


Figura 20 - Microfotografia da traqueia de rato: Detalhe da hiperplasia do epitélio, com formação de projeções papilíferas, associada a inflamação moderado-acentuada subepitelial. Demais camadas sem alteração. (HE, 400X).

6 Discussão

A cirurgia torácica moderna ainda esbarra nas dificuldades decorrentes das complicações da anastomose da traqueia e dos brônquios. Dessas a estenose e a deiscência são as que mais podem comprometer de forma significativa os resultados operatórios que envolvem as anastomoses daquelas estruturas.

A dificuldade de modular a cicatrização da traqueia e dos brônquios é um dos entraves para cirurgias mais complexas. Porém uma técnica cirúrgica insigne e minuciosa, respeitando a irrigação sanguínea e a força de tensão de aproximação das bordas da traqueia, pode garantir a qualidade e o bom êxito da anastomose.²

A reação inflamatória é essencial para a reparação cicatricial. Assim, após uma lesão traqueal existe uma reação inflamatória intensa, inclusive com metaplasia epitelial (o epitélio cilíndrico ciliado transforma-se em epitélio escamoso) e formação de tecido de granulação. Tal processo pode ser exuberante o suficiente para obstruir a luz traqueal. A associação dessas alterações regenerativas epiteliais com a reabsorção da cartilagem traqueal expõe a formação de estenose circunferencial e, conseqüentemente, obstrução respiratória.^{6, 25} Montovani (2003) mostrou evidências de que as alterações em epitélio escamoso reativo, agregadas à hiperplasia de células basais próximo à sutura, constituíam um sinal de atividade inflamatória residual. De mais a mais, apontou que a presença de exsudato fibrino-leucocitário compacto na luz traqueal, formando uma rolha, seria o responsável por obstruir as vias aéreas. Apesar de não ter sido feito o estudo *pos-mortem*, isso poderia explicar os óbitos que ocorreram em fases mediatas e tardias do pós-operatório de dois ratos do grupo com aplicação de esponja (grupo E).

Nos resultados desse estudo, foi feita análise histológica com determinação do grau de inflamação no segmento suturado. A inflamação é a variável que mostra a pior concordância nas avaliações particularmente nos casos em que há variação entre “ausente” e “discreta”, como é o caso do Sistema de Sydney.²⁶ São levantados como fatores que justifiquem essa discordância: a dificuldade de se definir o padrão “normal”, a presença de inflamação exuberante, a presença de folículos linfóides, a experiência do patologista, a “falsa” relação com a metaplasia e fatores que interferem na qualidade da amostra (má orientação, artefatos de esmagamento, superficialidade).^{26, 27} Com intuito de se evitar essas interferências na

interpretação dos dados foi usado escalas de analogia visual.²⁷ Além disso, Cross (1998) mostrou que a graduação de qualquer variável em categorias por si só possivelmente prejudicaria a reprodutibilidade ao “dividir” um fenômeno biológico contínuo em categorias e Miller (1956) que o ser humano tende a empregar sempre sete categorias de julgamento ao realizar julgamentos subjetivos em sequências ininterruptas visuais ou auditivas. Portanto, as alterações inflamatórias encontradas foram classificadas somente em “leves” e “acentuadas” para minimizar essa subjetividade.

Dessa maneira, no estudo histológico da traqueia (inflamação e estrutura do epitélio), os resultados apontam que as alterações hiperplásicas epiteliais e o pronunciado grau de inflamação no grupo com aplicação de esponja embebida em Mitomicina C (grupo M) foram estatisticamente significantes quando comparados aos outros grupos. Contudo, é interessante ressaltar que os resultados macroscópicos conflitam com os microscópicos. Apesar da melhora estatisticamente significativa da luz traqueal em relação aos outros grupos, o grupo M apresentava muito maior grau de inflamação, com dois casos de complicação grave: deiscência da sutura.

Ainda não existe tecido capaz de substituir integralmente um segmento da traqueia, mantendo suas mesmas características fisiológicas.³¹ Entretanto, alguns agentes farmacêuticos são capazes de modular o processo inflamatório e com isso diminuir as complicações das suturas na traqueia.^{4, 10, 14, 20, 32} A Mitomicina C é descrita como um importante agente adjuvante na prevenção das estenoses traqueais, atuando como um potente inibidor da ação do fibroblasto no processo inflamatório e é custo efetiva, segundo Ubell *et al.* (2006). Porém, para que a Mitomicina C tenha algum efeito é necessária a presença de lesão tecidual, ou seja, o simples contato com a mucosa íntegra não leva a alterações.³⁴ Assim, se optou nesse estudo por avaliar o seu uso após suturas sobre traqueias desvascularizadas e com tensão na linha da anastomose.

A Mitomicina C além de inibir a atuação do fibroblasto, reduz a deposição do colágeno, quando associado a certo grau de desvascularização e tensão na linha de sutura da traqueia.^{17, 34} Essa ação pode também ser a causa de empecilhos como a deiscência de anastomoses. Todavia, quando observado o resultado de redução de retração cicatricial, a Mitomicina C pode ser considerada benéfica nas cirurgias de reconstrução traqueal

Por fim, a concentração e a taxa de liberação da Mitomicina C devem ser levadas em conta ao se analisar seus riscos e benefícios. A literatura não é conclusiva em relação a qual deve ser a concentração da Mitomicina C, para que se obtenham os melhores efeitos moduladores na cicatrização sem comprometimento dessa. As doses recomendadas variam de 0,2 a 10 mg/ml.^{17, 18, 22, 34} Acredita-se que quanto maiores as concentrações e o tempo de contato com a ferida, maiores são os efeitos inibitórios na cicatrização e também as suas complicações.^{15, 36} Cuadra *et al.* (2008) em seu estudo prospectivo com coelhos, com o objetivo de definir qual a dose a ser utilizada mostrou que concentrações maiores de Mitomicina C podem causar efeitos deletérios, levando ao óbito do animal. A concentração utilizada no presente estudo, 0,4mg/ml, embasou-se nessa teoria.¹⁷

Quanto à taxa de liberação da Mitomicina C, não sabemos se existe uma liberação gradual dessa substância quando empregada junto com a esponja, o que poderia interferir no processo cicatricial. Talvez se a Mitomicina C fosse liberada apenas em uma fase mais tardia da cicatrização não houvessem resultados adversos como a deiscência da sutura e o grau de inflamação acentuado.

Baseado no exposto acima, o efeito benéfico da Mitomicina C na redução de estenose pode ser constatado neste trabalho, por meio de uma maior área percentual de circunferência traqueal em ratos onde se usou a esponja hemostática embebida com Mitomicina C (grupo M). Apesar de mostrar algum resultado favorável na prevenção da estenose traqueal, observou-se, como já descrito, tendência a um alto grau de processo inflamatório e a complicações agudas, como a deiscência da sutura, embora sem diferença significativa, quando se utilizou a Mitomicina C tópica. Essa sem dúvida é uma das complicações mais catastróficas que podem ocorrer na cirurgia da traqueia e dos brônquios, o que nos faz repensar a questão do mecanismo de ação da Mitomicina C no papel de modulação da cicatriz, assim como seu uso rotineiro.

Na análise da qualidade da anastomose da traqueia, deve-se também levar em conta os resultados que podem ser obtidos com a observação da tensão de ruptura da sutura traqueal.^{38, 39} É possível que a elaboração de algum método capaz de medir a tensão de ruptura da anastomose em ratos possa melhorar as observações obtidas em experimentos envolvendo a cicatrização da traqueia e brônquios.

Outro fator capaz de interferir na qualidade da cicatrização da traqueia são as táticas empregadas na confecção da anastomose. A escolha do fio de sutura é uma delas. O fio pode atuar como fator irritativo permanente, exacerbando e perpetuando a resposta inflamatória local. Alguns dos maus resultados de uma anastomose como o retardo na reepitelização da linha de sutura, a predisposição a formação de granulomas e a exacerbação na fibroplasia podem ser atribuídos à escolha do fio.⁴⁰
⁴¹ Apesar de não ter sido variável desse estudo, parece que a utilização do fio polipropileno (monofilamentar, não absorvível e de fácil manuseio) não mostrou qualquer interveniência sobre a anastomose da traqueia dos ratos.

Muitos estudos experimentais têm como tema o estudo da cicatrização da traqueia, porém poucos utilizam o rato como modelo experimental.^{41, 42, 43} Isso se deve supostamente às dificuldades técnicas de sutura em uma traqueia de diâmetro muito pequeno e os riscos de morte no cuidado pós-operatório. Nesse trabalho foi demonstrada que a cirurgia experimental da traqueia tem no rato um modelo animal adequado, no qual se realizou procedimentos complexos, em uma via aérea muito pequena e com mortalidade muito baixa. Além disso, nesse modelo experimental não é necessário induzir ventilação sob pressão positiva, logo não é necessária a intubação orotraqueal, facilitando a técnica cirúrgica.

Apesar dos resultados deste estudo não terem sido completamente satisfatórios em relação ao uso da Mitomicina C como modulador da cicatrização da anastomose da traqueia, eles sugerem que o uso de substâncias adjuvantes pode ser promissor no sentido de apontar a possibilidade de melhorias na cicatrização de suturas traqueais, diminuindo as complicações.

Para se definir o verdadeiro papel da Mitomicina C e de outros agentes como auxiliares terapêuticos nas reconstruções traqueais, seria necessária a análise de um maior número de animais, assim como o uso de outros fármacos. Outros estudos poderiam contribuir com aquela finalidade, além de avaliarem a concentração precisa das substâncias químicas e o seu tempo de exposição exato, auxiliando o processo cicatricial e minimizando as complicações pós-operatórias.

7 Conclusão

A cicatrização da traqueia de ratos parece ser influenciada pela presença de Mitomicina C na região da sutura, com diminuição das chances de estenose pós-operatórias. No entanto as complicações agudas graves ocorridas no presente estudo de certa forma dificultam sua utilização de forma habitual na prática clínica.

8 Perspectivas futuras

A cirurgia da traqueia e dos brônquios é um ramo da cirurgia do tórax que permanece em crescimento contínuo. Ainda há muito que fazer e muito para se melhorar. Existe a busca por um substituto ideal para essa estrutura tão vital, e o transplante de traqueia já está em estudo. Enquanto o transplante não é uma opção plausível e o substituto ideal não é encontrado, deve-se procurar por substâncias químicas ou envoltórios capazes de conferir maior segurança aos procedimentos sob a traqueia e os brônquios.

9 Referências

- 1- Kashiwa K, Kobayashi S, Tono H, Nohara T, Honda T, Sakurai S. Reconstruction of the Cervical Trachea Using a Prefabricated Corticoperiosteal Flap from the Femur. *Ann Plast Surg* 2009 Jun;62 (6):633-36.
- 2- Grillo HC. *Surgery of the Trachea and Bronchi*. Hamilton: BC Decker; 2004. p.1-35.
- 3- Grillo HC. *Surgery of the Trachea and Bronchi*. Hamilton: BC Decker; 2004. p. 803-14.
- 4- Wright CD, Grillo HC, Wain JC, Wong DR, Donahue DM, Gaissert HA, et al. Anastomotic Complications after Tracheal Resection: Prognostic Factors and Management. *J Thorac Cardiovasc Surg*, 2004 Nov;128:731-39.
- 5- Merritt RE, Mathisen DJ. Tracheal resection. In: Patterson GA, Cooper JD, Deslauries J, Luketich JD, Rice TW. *Pearson's Thoracic and Esophageal Surgery*. Philadelphia: Churchill Livingstone Elsevier; 2008. p.376-82.
- 6- Montovani JC, Nakajima V. Alterações Epiteliais e Cartilaginosas em Cirurgia Traqueal: Estudo Experimental em Cobaias. *Rev Bras Otorrinolaringol* 2003 Mar/Abr; 69 (2):159-64.
- 7- Mathisen DJ. *Surgery of the Trachea*. *Curr Probl Surg* 1998 Jun;35(6):457-539.
- 8- Shrager JB. Cervical Tracheal Resection and Reconstruction. In: Evans SR. *Surgical Pitfalls Prevention and Management*. Philadelphia: Saunders Elsevier; 2009. p.741-51.
- 9- Ferreira S, Nogueira C, Oliveira A, Neves S, Almeida J, Moura e Sá J. Técnicas de Dilatação Broncoscópica e Aplicação Tópica de Mitomicina C no Tratamento da Estenose Traqueal Pós-entubação - A propósito de Dois Casos Clínicos. *Rev Port Pneumol* 2010 Jan/Fev;16(1):149-56.
- 10- Sen S, Meteoglu I, Ogurlu M, Sen S, Derinceoz OO, Barutca S. Topical Heparin: A Promising Agent for the Prevention of Tracheal Stenosis in Airway Surgery. *J Sug Res* 2009 Nov;157(1):1-7.
- 11- Kouerinis IA, Loutsides AE, Hounts PA, Apostolakis EE, Bellenis IP. Treatment of Iatrogenic Injury of Membranous Trachea With Intercostal Muscle Flap. *Ann Thorac Surg* 2004 Nov;78(5):85-6.
- 12- Kreisel D, Krupnick AS, Patterson GA. Lung Transplantation. In: Patterson GA, Cooper JD, Deslauries J, Luketich JD, Rice TW. *Pearson's Thoracic and Esophageal Surgery*. Philadelphia: Churchill Livingstone Elsevier; 2008. p.660-90.

13- Shah AM, Singhal P, Chhajed PN, et al. Bronchoscopic Closure of Bronchopleural Fistula Using Gelfoam. J Assoc Physicians India 2004 Jun; 52:508-9.

14- Roh J-L, Kim DH, Rha SK, Sung M-W, Kim KH. Benefits and Risks of Mitomycin use in the Traumatized Tracheal Mucosa. Otolaryngol Head Neck Surg 2007 Mar; 136(3):459-63.

15- Ribeiro FA, Borges JP, Zacchi FF, Guaraldo L. O Comportamento Clínico e Histológico da Pele do Rato Submetido ao Uso Tópico e Injetável de Mitomicina C. Rev Bras Otorrinolaringol 2003 Mar/Abr; 69(2):151-8.

16- Gray SD, Tritle N, Li W. The Effect of Mytomycin on Extracellular Matrix Proteins in a Rat Wound Model. Laryngoscope 2003 Fev;113:237-42.

17- Ferguson B, Gray SD, Thibeault S. Time and Dose Effects of Mitomycin C on Extracellular Matrix Fibroblasts and Proteins. Laryngoscope 2005 Jan;115:110-15.

18- Hueman EM, Simpson BS. Airway Complications from Topical Mitomycin C. Otolaryngol Head Neck Surg 2005 Dez;133(6):831-35.

19- Warner D, Brietzke SE. Mitomycin C and Airway Surgery: How well does it work? Otolaryngol Head Neck Surg 2008 Jun; 138(6):700-9.

20- Perepelitsyn I, Shapshay SM. Endoscopic Treatment of Laryngeal and Tracheal Stenosis - has Mitomycin C Improved the Outcome? Otolaryngol Head Neck Surg 2004 Jul;131(1):16-20.

21- Eliashar R, Eliachar I, Esclamado R. Can Topical Mitomycin Prevent Laryngotracheal Stenosis? Laryngoscope 1999 Out;109:1594-600.

22- Rhabar R, Shapshay SM, Healy GB. Mitomycin: Effects on Laryngeal and Tracheal Stenosis, Benefits and Complications. Ann Otol Rhinol Laryngol 2001 Jan;110:1-6.

23- Simpson CB, James JC. The Efficacy of Mitomycin-C in the Treatment of Laryngotracheal Stenosis. Laryngoscope 2006 Out; 116:1923-25

24- BRASIL. *Decreto-Lei nº 11.794, de 8 de outubro de 2008*. Estabelece procedimentos para o uso científico de animais; revoga a Lei nº 6.638, de 8 de maio de 1979; e dá outras providências. Diário Oficial [da República Federativa do Brasil], Brasília, p.1-2, 9 out. 2008.

25- Kuzucu A, Erkal HS, Serin M. et al. The effects of Granulocyte colony-stimulating Factor on the Healing of Tracheal Anastomosis Following Radiation Therapy in Rats. Eur J Cardiothorac Surg 2006 Out; 30:840-845.

26- Misiewicz JJ. The Sydney System: a new classification of gastritis. Introduction. J Gastroenterol Hepatol 1991;6(3):207-8.

27- Genta RM. Recognizing atrophy: another step toward a classification of gastritis. *Am J Surg Pathol* 1996;20(Suppl 1):S23-S30.

28- Offerhaus GJA et al. Observer agreement on the grading of gastric atrophy. *Histopathology* 1999;34:320-325.

29- Cross SS. Grading and scoring in histopathology. *Histopathology* 1998;33:99-106.

30- Miller GA. The magical number seven plus or minus two: some limits in our capacity for processing information. *Psychol Rev* 1956;63: 81-97.

31- Cibantos-Filho JS, Mello-Filho FV, Campos AD, Ellinguer F. Viability of a 12 Ring Complete Tracheal Segment Transferred in the Form of a Compound Flap: an Experimental Study in Dogs. *Laryngoscope* 2004 Nov;114:1949-52.

32- Olmoz-Zuniga JR, Santos-Cordeiro JA, Jasso-Victoria R, et al. Effect of the hyaluronic acid on tracheal healing. A Canine Experimental Model. *Acta Otorrinolaringol Esp* 2004;55:81-87.

33- Ubell ML, Ettema SL, Toohill RJ, Simpson CB, Merati AL. Mitomycin-C Application in Airway Stenosis Surgery: Analysis of Safety and Costs. *Otolaryngol Head Neck Surg* 2006 Mar;134:403-06

34- Pereira MC, Repka JC, Camargo PA, et al. Efeito da Mitomicina-C Tópica sobre os Depósitos de Colágeno Total na Submucosa das Pregas Vocais Íntegras de Suínos. *Rev Col Bras Cir* 2009 Jul; 36(3):236-40.

35- Sittel C. *Helping Drugs In: Remacle M, Eckel HE. Surgery of Larynx and Trachea.* Berlin: Springer; 2010. p.295-98.

36- Ward RF, April MM. Mitomycin-C in the Treatment of Tracheal Cicatrix after Tracheal Reconstruction. *Int J Pediatric Otorhinolaryngol* 1998 Ago;44:221-26.

37- Cuadra RI, Prieto JS, Cuadra MI, Erranz SZ, Pavez DJP, Bombardiere SG, et al. Effect of Mitomycin in the Surgical Treatment of Tracheal Stenosis. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg* 2008 Jul; 134(7):709-14.

38- Behrend M, Klempnauer J. Tracheal Reconstruction Under Tension: An Experimental Study in Sheep. *Eur J Surg Oncol* 2001 Set;27:581-88.

39- Araujo CAA, Aguiar JLA, Lima FP, Azevêdo IM, Medeiros AC. Influência do Corticóide na Cicatrização da Anastomose Traqueal sob Tensão em Cães. *Acta Cir Bras* 2003;18:33-39.

40- Bandeira CO, Nigro AJ, Netto MZ, Prado-Filho OR, Sales KP. Comparação da Anastomose Traqueal Suturada com Fio Absorvível e Inabsorvível em Coelhos. *Acta Scientiarum* 2002;22(2):615-21.

41- Manna MCB, Montero EFS, Silva MALG, Juliano Y. Tracheotomy in Growing Rats. Histological Aspects. Acta Cir Bras 2003 Mai-Jun;18(3):189-95.

42- Vaidergorn J, Fagundes DJ, Machado AL, Ferreira RG, Juliano Y, Novo NF, Gomes PO. Model of Extensive and Severe Tracheal Stenosis in Dogs. Acta Cirur Bras 2008 Nov-Dez;23(6):497-500.

43- Behrend M, Klempnauer J. Influence of Suture Material and Technique on End to End Reconstruction in Tracheal Surgery: an Experimental Study in Sheep. Eur Surg Res 2001 Mar;33:210-16.

10 Anexos

ANEXO 1 – Protocolo de aprovação CETEA/UFMG



UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
COMITÊ DE ÉTICA EM EXPERIMENTAÇÃO ANIMAL
- C E T E A -

CERTIFICADO

Certificamos que o **Protocolo nº 130/2010**, relativo ao projeto intitulado "**Influência da mitomicina C na cicatrização da traquéia de rato**", que tem como responsável(is) **Ivana Duval de Araujo**, está(ão) de acordo com os Princípios Éticos da Experimentação Animal, adotados pelo **Comitê de Ética em Experimentação Animal (CETEA/UFMG)**, tendo sido aprovado na reunião de **23/ 06/2010**.

Este certificado expira-se em **23/ 06/ 2015**.

CERTIFICATE

We hereby certify that the **Protocol nº 130/2010**, related to the project entitled "**Influency of mitomicyn C on the cicatrization of mouses trachea**", under the supervisors of **Ivana Duval de Araujo**, is in agreement with the Ethical Principles in Animal Experimentation, adopted by the **Ethics Committee in Animal Experimentation (CETEA/UFMG)**, and was approved in **June 23, 2010**.

This certificate expires in **June 23, 2015**.

Belo Horizonte, 24 de Junho de 2010.

Profª. Jacqueline Isaura Alvarez-Leite
Coordenadora do CETEA/UFMG

Universidade Federal de Minas Gerais
Avenida Antônio Carlos, 6627 – Campus Pampulha
Unidade Administrativa II – 2º Andar, Sala 2005
31270-901 - Belo Horizonte, MG - Brasil
Telefone: (31) 3499-4516
www.ufmg.br/bioetica/cetea - cetea@prpq.ufmg.br

(Mod.Cert. v1.0)

ANEXO 2 – Protocolo de Avaliação Macroscópica

ANIMAL NÚMERO: _____

DATA DA OPERACAO ___/___/___

DATA DA EUTANASIA ___/___/___

GRUPO

() C () E () M

ADERENCIAS

() AUSENTES

() PRESENTES

() ADERENCIAS FROUXAS

() ADERENCIAS FIRMES

FISTULAS

() AUSENTES

() PRESENTES

ESTRUTURAS ENVOLVIDAS

ABCESSOS

() AUSENTES

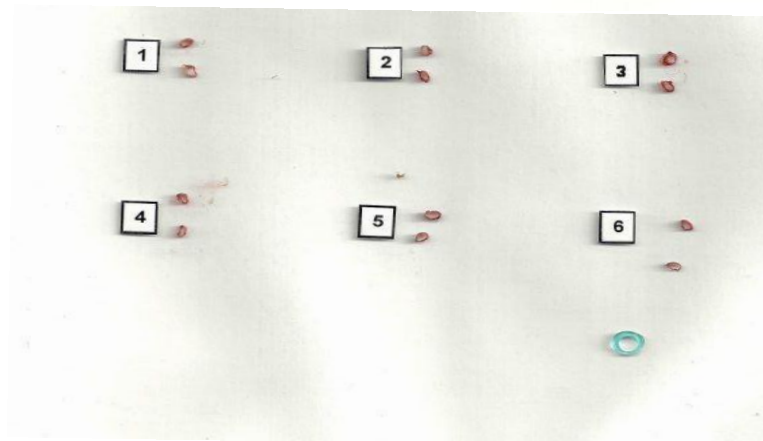
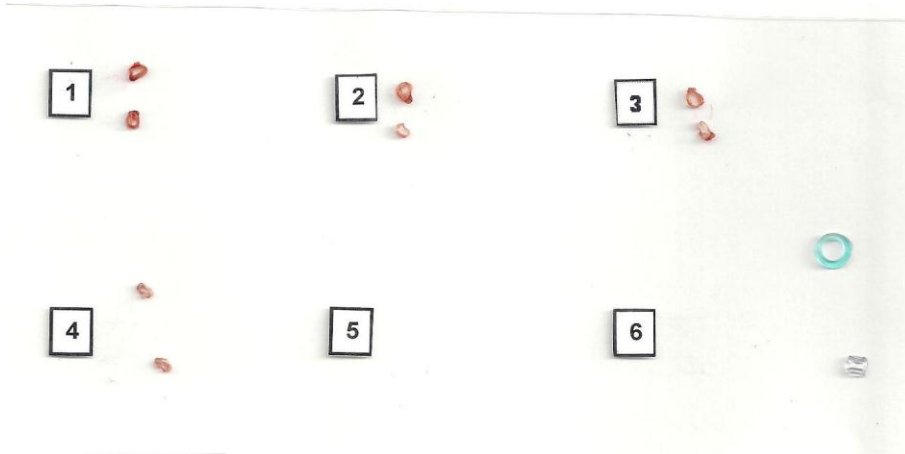
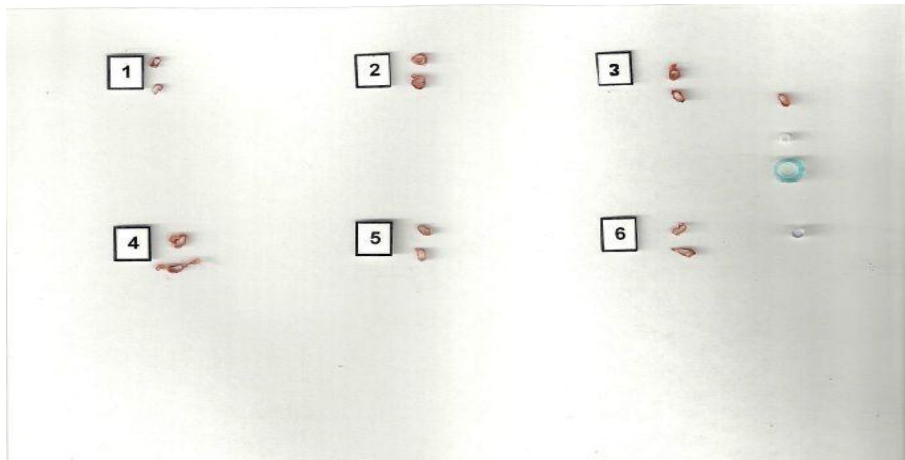
() PRESENTES

INTEGRIDADE DA TRAQUEIA

SONDA NUMERO: _____

OBSERVACÕES

ANEXO 3 - Digitalização de segmentos traqueais dos ratos



ANEXO 4 – Protocolo de Avaliação Microscópica

ANIMAL NUMERO: _____

ALTERACOES EPITELIAIS

() AUSENTES () PRESENTES

COMENTÁRIOS

GRAU DE INFLAMAÇÃO

() AUSENTES () PRESENTES

() LEVE () MODERADA () ACENTUADA

COMENTÁRIOS

OUTROS ACHADOS
