







AVALIAÇÃO HISTOPATOLÓGICA E MORFOMÉTRICA INTESTINAL DOS EFEITOS DA ADMINISTRAÇÃO PROLONGADA DE CORTICOSTERÓIDE EM CÃES¹



MURILO LOUZADA²
FLÁVIA SANTANA E MENESES²
LUÍS CÉSAR FERNANDES³
SU BONG KIM³
OSWALDO ALVES MORA⁴
MISUE IMOTO EGAMI⁴
JOÃO NORBERTO STÁVALE⁵
MARIA REGINA RÉGIS SILVA⁶
DÉLCIO MATOS⁷

Services on Demand

Article

-  Article in xml format
-  Article references
-  How to cite this article
-  Curriculum ScienTI
-  Automatic translation
-  Send this article by e-mail

Indicators

-  Cited by SciELO
-  Access statistics

Related links

Share

More 

More

 Permalink

Louzada M, Meneses FS, Fernandes LC, Kim SB, Mora OA, Egami, MI, Stávale, JN, Silva, MRR, Matos D. Avaliação histopatológica e morfométrica intestinal dos efeitos da administração prolongada de corticosteróide em cães. Acta Cir Bras [serial online] 1999 Jan Mar; 14(1). Available from: URL: <http://www.scielo.br/acb.htm>

RESUMO: Corticosteróides são de largo uso na prática médica. Porém, apresentam efeitos colaterais, que condicionam um fator de risco para procedimentos cirúrgicos gastrointestinais. O presente estudo visou avaliar as alterações da mucosa e submucosa em cólon de cães submetidos a administração prolongada de corticosteróides.

Quinze cães machos, sem raça definida, 15 kg, randomizados, 6 de grupo controle e 9 de grupo experimental, foram submetidos à aplicação intramuscular de hidrocortisona, 35 mg/Kg/dia, 30 dias. Foi realizada ressecção do segmento distal do cólon, fixado em Bouin, com cortes corados pelos métodos: PAS, alcian blue e HE. Na análise morfométrica, foi realizada contagem de: células caliciformes (CAL), células absortivas (ABS), células totais (TOT = CAL+ABS), mitoses (MIT) e linfócitos (LINF) presentes em cada cripta; mastócitos (MAST) na submucosa.

A avaliação histopatológica revelou infiltrado linfoplasmocitário, desorganização das criptas, presença de células picnóticas, ulcerações na mucosa; edema, congestão vascular e linfática na submucosa. Houve diminuição significativa do número de CAL, ABS, TOT e LINF, aumento de MIT no grupo experimental e não alteração do número de MAST.

Conclui-se que a administração prolongada de corticosteróides em cães induziu alterações histopatológicas e morfométricas significantes na mucosa cólica, que podem se constituir em importante fator de risco cirúrgico.

DESCRITORES: Corticosteróides. Hidrocortisona. Mucosa intestinal. Linfócitos. Mastócitos.

INTRODUÇÃO

Os corticosteróides constituem um grupo de substâncias de relevante importância e de largo uso na prática médica. Entretanto, além de seus efeitos terapêuticos, podem vir a apresentar efeitos colaterais importantes, capazes de proporcionar risco para procedimentos cirúrgicos^{1, 6,7}.

Em estudos experimentais tem sido demonstrado um aumento de incidência de complicações pós-operatórias em espécimes submetidos a administração prolongada de corticosteróides, como por exemplo: infecções e deiscências de ferida operatória e fístulas em anastomoses digestivas^{1,8}. Encontram-se sob contínua investigação os mecanismos através dos quais os corticosteróides podem provocar tais intercorrências, não estando claros, ainda atualmente, todos os efeitos desencadeados pelos corticóides nos tecidos do organismo humano ou de animais de experimentação³. Os mecanismos pelos quais os corticosteróides alteram os tecidos do aparelho digestivo prejudicando sua cicatrização são ainda controversos e incertos^{9,11}.

Avaliam-se neste estudo, qualitativa e quantitativamente, as alterações histológicas da mucosa e submucosa intestinal de cães submetidos a administração parenteral prolongada de corticosteróides, para que seja possível verificar algumas das alterações teciduais induzidas por corticóides que poderiam provocar prejuízo nos processos de cicatrização intestinal.

MÉTODO

A investigação foi realizada nas dependências do Biotério e nos laboratórios da Técnica Cirúrgica e Cirurgia Experimental, Histologia e Patologia da Universidade Federal de São Paulo - Escola Paulista de Medicina (UNIFESP-EPM), de janeiro de 1996 a julho de 1997. Foram utilizados 15 cães do sexo masculino, sem raça definida, com peso corpóreo entre 15 e 20 kg, selecionados aleatoriamente, manuseados conforme normas do Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA)¹⁰. Os espécimes foram divididos de modo randomizado, por sorteio prévio ao experimento, em dois grupos, permanecendo 6 cães no grupo controle e 9 cães no grupo experimental, submetidos à administração intramuscular diária de hemissuccinato de hidrocortisona, doses padronizadas de 500 mg (25 a 33 mg/Kg de peso/ dia), durante 30 dias.

No 30º dia de administração de corticosteróides os espécimes foram submetidos a procedimento cirúrgico para obtenção de fragmento cólico de espessura total para avaliação. Os cães foram sedados com acepromazina a 0,2%, por via intramuscular, dosagem de 0,2 mg/kg de peso. A anestesia foi proporcionada pela administração endovenosa de tiopental sódico, na dose de 25 mg/kg, e os espécimes foram submetidos a intubação orotraqueal e mantidos em ventilação controlada. Após procedimentos de assepsia e anti-sepsia, procedeu-se a laparotomia longitudinal mediana supra e infra-umbilical, seguida de ressecção de segmento do cólon esquerdo de um centímetro de extensão, a 10 cm da reflexão peritoneal na pelve.

Os segmentos intestinais obtidos foram fixados em Bouin por 24 horas, incluídos em parafina e submetidos a preparo histológico. Foram obtidos 2 cortes de 5 µm de espessura, corados pelo método Hematoxilina-Eosina para avaliação de alterações histopatológicas.

Cortes seriados de 5 µm de espessura foram utilizados em outros métodos de coloração para verificações diversas. Lâminas coradas pelo método de Ácido Periódico de Schiff (PAS), seguida de coloração nuclear pela Hematoxilina de Carazzi, foram utilizadas para a análise morfométrica na mucosa, com a verificação dos seguintes parâmetros para cada cripta de mucosa intestinal: 1) células caliciformes (CAL); 2) células absortivas (ABS); 3) células totais (TOT = CAL+ABS); 4) figuras de mitose (MIT) e 5) linfócitos intraepiteliais (LINF). Foram avaliadas 10 criptas mucosas a partir de cada espécime do experimento.

Lâminas foram preparadas pelo método de Alcian blue pH 2.5, com coloração nuclear pela Hematoxilina de Carazzi, para contagem na submucosa de mastócitos (MAST) por campo. Foram analisados 10 campos microscópicos nos tecidos obtidos de cada espécime do experimento, com aumento estabelecido para observação de 528x.

Duas lâminas de cada espécime, coradas pelo método Hematoxilina-Eosina, foram observadas por 2 patologistas, de forma independente, sem conhecimento prévio dos animais componentes dos grupos de experimentação, para avaliação histopatológica das amostras intestinais.

Os parâmetros CAL, ABS, TOT, MIT e LINF foram quantificados na mucosa de 10 criptas de cada espécime, selecionadas aleatoriamente, totalizando 150 criptas. Somente foram consideradas as criptas cujo corte longitudinal evidenciou toda a sua extensão, da luz intestinal à submucosa, com estrutura totalmente identificável. Os mastócitos (MAST) foram quantificados na submucosa, em 10 campos consecutivos para cada caso, num total de 150 campos.

As contagens celulares nos tecidos foram realizadas por 2 pesquisadores, em imagens histológicas obtidas por microscopia óptica e fornecidas por sistema de vídeo.

As variáveis foram analisadas por testes estatísticos não paramétricos, com homogeneidade de cada grupo verificada por teste para médias independentes de Kruskal-Wallis, complementado, quando necessário, pelo

teste de comparações múltiplas; diferenças entre os grupos controle e experimental foram avaliadas segundo teste de Mann-Whitney. Em todos os casos, fixou-se em 0,05 ou 5% ($\alpha \leq 0,05$) o nível para a rejeição da hipótese de nulidade, assinalando-se os valores significantes.

RESULTADOS

À análise histopatológica, os segmentos cólicos dos animais do grupo controle apresentaram: mucosa com revestimento epitelial preservado, constituído por células prismáticas de aspecto habitual; lâmina própria típica com poucos linfócitos e plasmócitos e, eventualmente, presença de placas de Peyer ([Fig.1A](#)). Na submucosa, observou-se aspecto habitual com vasos sanguíneos e linfáticos preservados. As camadas muscular e adventícia apresentaram-se com aspecto usual.

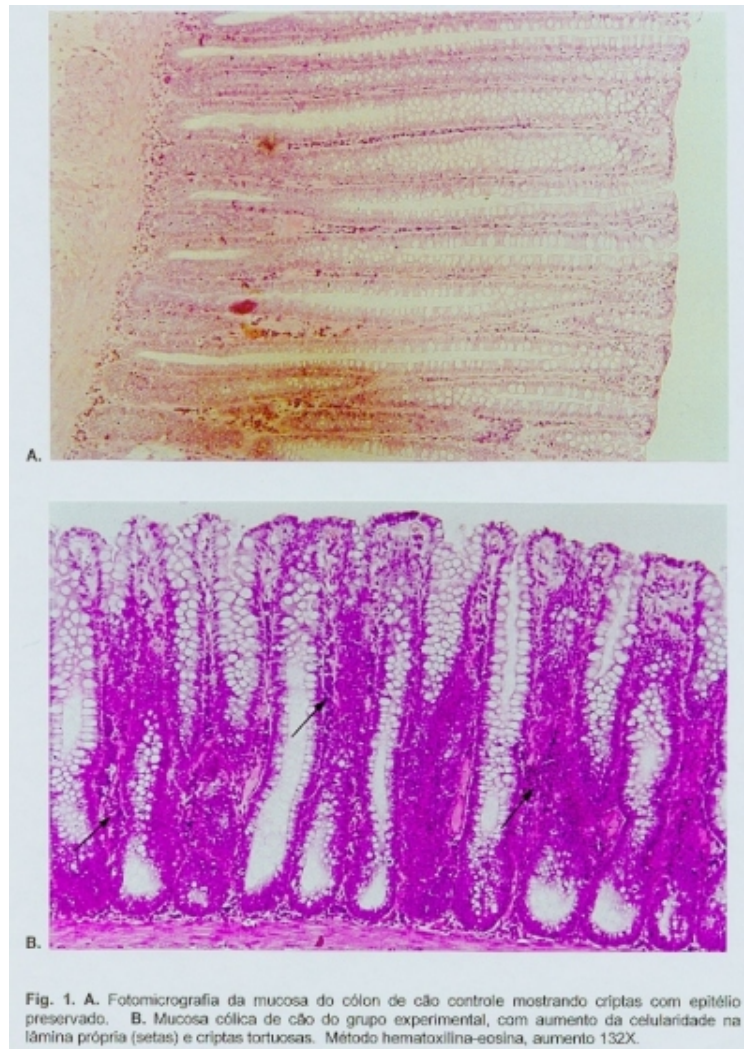
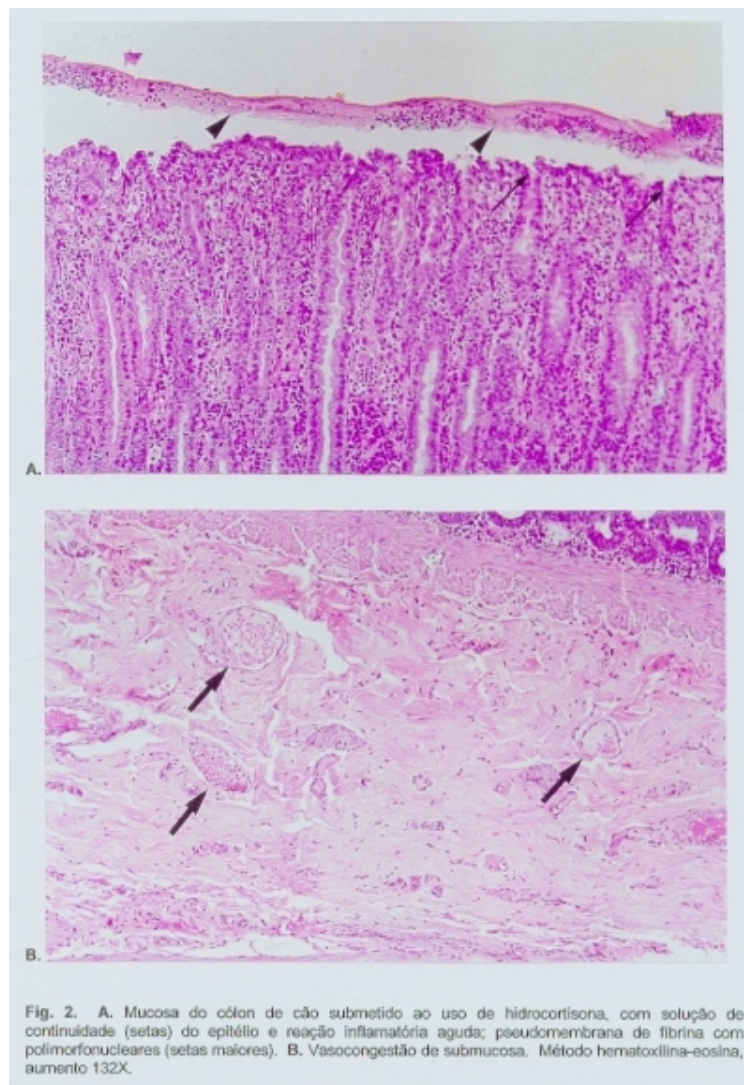


Fig. 1. A. Fotomicrografia da mucosa do cólon de cão controle mostrando criptas com epitélio preservado. B. Mucosa cólica de cão do grupo experimental, com aumento da celularidade na lâmina própria (setas) e criptas tortuosas. Método hematoxilina-eosina, aumento 132X.

No grupo experimental observou-se alteração na lâmina própria da mucosa, com aumento da infiltração linfoplasmocitária e predominância de plasmócitos. Na mucosa, em alguns casos, foram identificados: colite ulcerativa com pseudomembrana de fibrina, agressão do epitélio das criptas, presença de neutrófilos e ulceração superficial ([Figs.1B](#) e [2A](#)). Na submucosa, também alterada, foram verificados edema com dilatação linfática e vascular e aumento do infiltrado linfoplasmocitário ([Fig. 2B](#)). A camada muscular e os plexos nervosos não apresentaram alterações, assemelhando-se às amostras do grupo controle.



A análise quantitativa das variáveis CAL, ABS, LINF, MIT e MAST evidenciou heterogeneidade em ambos os grupos, predominante no grupo experimental.

A quantificação das células caliciformes (CAL), absortivas (ABS) e totais (TOT) mostrou redução estatisticamente significativa no grupo experimental em relação ao grupo controle ([Fig. 5](#) e [Tabela I](#)).

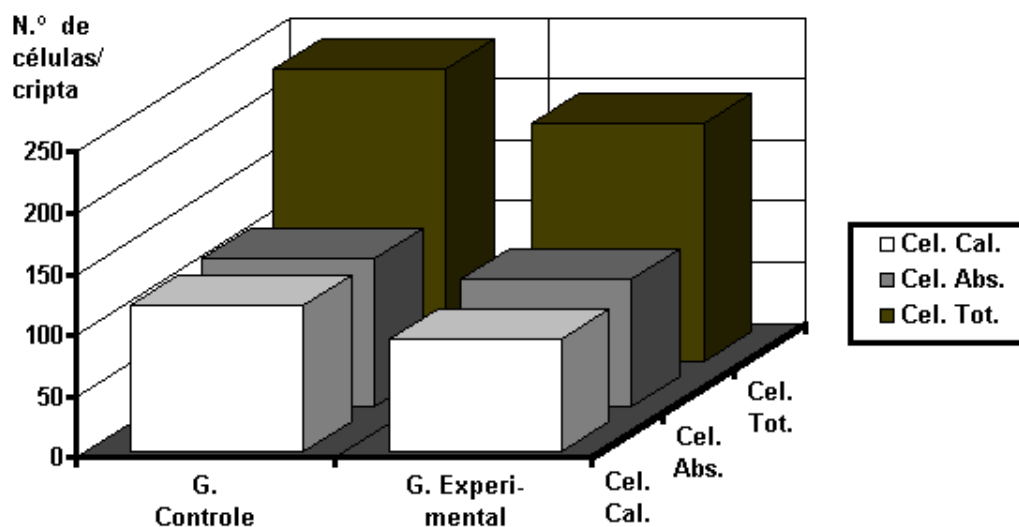


Fig. 5. Média do número de células caliciformes (Cal), absortivas (Abs) e totais (Tot) por cripta intestinal em cães dos grupos controle e teste. ($p < 0,05$)

Tabela I. Média de células caliciformes, absortivas, totais, linfócitos e mitoses por cripta da mucosa intestinal e média de mastócitos por campo em submucosa dos cães dos grupos controle e experimental.

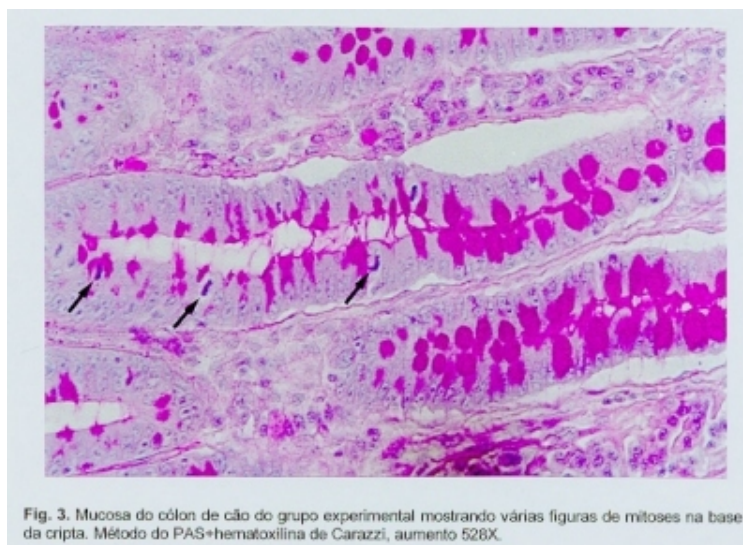
Variável analisada	Grupo controle	Grupo experimental	Δ % (G.exp. - G.cont.)
Células caliciformes*	119	91	-23,5
Células absortivas*	121	103	-14,9
Células totais*	240	194	-19,2
Linfócitos*	17	11	-35,3
Mitoses*	14	43	+207
Mastócitos campo /	12	17	+41,7

* - diferença com significância estatística ($p < 0,05$).

Pela comparação entre os grupos experimental e controle, através do percentil de células caliciformes (CAL/TOT), observou-se que houve equivalência na redução de células, tanto absortivas quanto caliciformes, no grupo submetido à ação de corticóides.

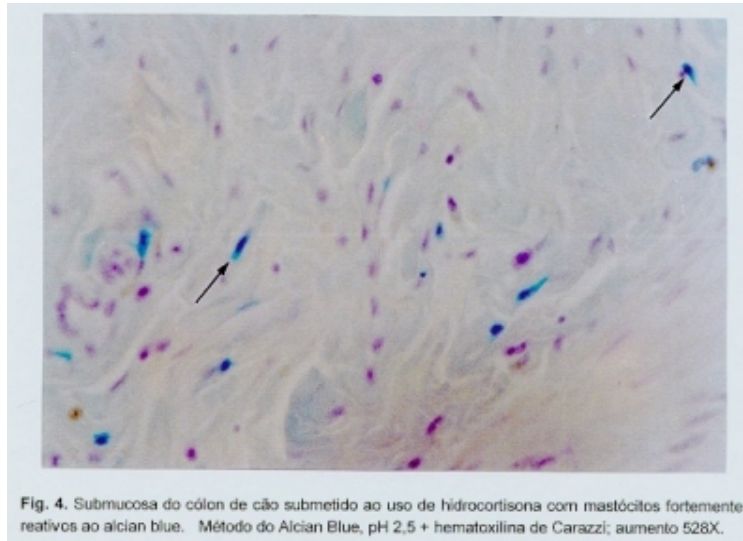
A análise dos linfócitos (LINF) mostrou redução significativa no grupo experimental quando comparado ao grupo controle ([Tabela I](#)).

Foi observado significativo aumento do número de mitoses (MIT) no grupo experimental ([Fig. 3](#) e [Tabela I](#)).



A análise estatística demonstrou que o grupo experimental não apresentou diferença estatisticamente

significante em relação ao grupo controle, quanto ao número de mastócitos presentes na submucosa. (Fig. 4 e Tabela I).



DISCUSSÃO

Numerosas pesquisas têm procurado avaliar a influência da administração de compostos corticosteróides em cobaias e em seres humanos, analisando as repercussões sobre diversos grupos celulares, órgãos e sistemas orgânicos³.

A análise qualitativa da mucosa intestinal dos grupos em estudo demonstrou evidentes e danosas alterações nos tecidos dos espécimes do grupo experimental. Observou-se, de modo geral, presença de ulcerações, reação inflamatória aguda, fenômenos necróticos e abscessos na mucosa. Na submucosa, camada tissular fundamental à cicatrização intestinal², evidenciou-se vasocongestão, edema e infiltrado linfoplasmocitário em submucosa. Nos animais do grupo controle tais eventos não foram identificados. Serosa, camadas musculares e plexos nervosos apresentaram-se preservados e semelhantes nas amostras obtidas dos espécimes de ambos os grupos sob experimentação.

É possível que os eventos identificados na submucosa intestinal nos espécimes do grupo experimental prejudiquem as condições locais e sejam fator importante no prejuízo da cicatrização intestinal. As alterações de mucosa identificadas, por sua vez, são passíveis de levar a deficiente cicatrização pelo agravamento das condições teciduais locais. São escassas descrições sobre a histopatologia intestinal na vigência de administração de corticosteróides; há resultados controversos, com relato de infiltrado polimorfonuclear abundante¹¹ coexistindo com descrições de tecidos intestinais sem alterações provocadas pelo uso de corticóides¹.

Nas avaliações quantitativas celulares efetuadas foi observada heterogeneidade importante no grupo experimental em relação ao grupo controle, o que pode significar resposta individual dos espécimes frente à administração dos corticóides, apesar da constância das doses ministradas.

Não têm sido analisados os aspectos histológicos quantitativos detalhados da mucosa intestinal de cães submetidos a administração prolongada de corticosteróides, tornando-se não factível a realização de comparações dos dados encontrados com os relatos de outros pesquisadores.

O estudo quantitativo das células caliciformes (CAL) nas criptas intestinais evidenciou redução significativa nos tecidos obtidos dos espécimes do grupo experimental. O mesmo foi observado para as células absortivas (ABS) e totais (TOT), em intrínseca correlação. Apesar de não terem sido efetuadas medidas lineares abrangendo o comprimento das criptas intestinais, é possível que a redução do número de células totais observada no grupo experimental traduza redução real na altura das criptas intestinais dos espécimes, fato que foi subjetivamente registrado na observação das amostras histológicas.

Houve um aumento significativo do número de mitoses presentes nas células das criptas dos espécimes do grupo experimental. Tal fato deve decorrer de acelerada tentativa de regeneração tecidual, para reparação dos danos histológicos verificados.

Foi registrada redução do número de linfócitos intraepiteliais, células de defesa imune com ação semelhante às células NK (*natural killer*)⁵, na mucosa intestinal dos animais do grupo experimental. Nas doses em que foram administradas, substâncias corticosteróides são conhecidos agentes imunossupressores¹⁴. A diminuição do

número linfocitário na mucosa intestinal dos espécimes pode constituir um dos mecanismos de imunocomprometimento provocado pelos corticóides ministrados.

Não ocorreu redução ou incremento do número de mastócitos identificados na submucosa da parede intestinal dos espécimes do grupo experimental em relação aos animais do grupo controle. Fato não concordante com outros estudos semelhantes, em que o uso de corticosteróides foi importante para a redução de fenômenos inflamatórios intestinais e diminuição da concentração local de mastócitos^{12,13}. Tal discrepância com tais relatos pode se dever a restrição da amostra do presente estudo ou ao fato de existir intensa variabilidade na contagem de mastócitos em diferentes protocolos na dependência do método histológico para avaliação utilizado⁴.

Em suma, as alterações histopatológicas identificadas evidenciaram importante processo destrutivo da mucosa e da submucosa intestinal nos espécimes submetidos a administração prolongada de corticosteróides. As análises quantitativas demonstraram redução quantitativa das células das criptas e de defesa imune, com aumento de mitoses a indicar acelerada tentativa de reparação tecidual.

CONCLUSÃO

Conclui-se que corticóides administrados em cães, em elevadas doses, por período de tempo prolongado, levam a importantes alterações deletérias na mucosa intestinal, possível fator de prejuízo em processos de cicatrização tecidual em experimentação.

REFERÊNCIAS

1. Aszodi A, Ponsky JL. Effects of corticosteroid on the healing bowel anastomosis. *Am Surg* 1984; 50:546-8. [[Links](#)]
2. Barone B, Furlaneto JA, Maranhão RFA, Goldenberg S, Oliveira E. A submucosa e sua importância nas anastomoses em um plano: estudo experimental em intestino grosso de cães. *An Paul Med Cir* 1979; 106:1-14. [[Links](#)]
3. Baxter JD, Forsham PH. Tissue effects of glucocorticoids. *Am J Med* 1972; 53:573-89. [[Links](#)]
4. Befus D, Goodacre R, Dyck N, Bienenstock J. Mast cell heterogeneity in man. *Int Archs Allergy Appl Immunol* 1985; 76:232-6. [[Links](#)]
5. Cerf-Bensussan N, Guy-Grand D, Griscelli C. Intraepithelial lymphocytes of human gut: isolation, characterisation and study of natural killer activity. *Gut* 1985; 26:81-8. [[Links](#)]
6. Cole JW, Orbison JL, Holden W, Hancock TJ, Lindsay JF. Histological study of the effect of cortisone on wounds healing per primam. *Surg Gynecol Obstet* 1951; 93:321-6. [[Links](#)]
7. Cronin K, Jackson DS, Dunphy JE. Changing bursting strength and collagen content of the healing colon. *Surg Gynecol Obstet* 1968; 126:747-53. [[Links](#)]
8. Fernandes LC. Estudo comparativo entre anastomoses intestinais com sutura manual e com anel biofragmentável, em cães sob a administração de corticosteróides [[Links](#)] [dissertação]. São Paulo: Universidade Federal de São Paulo; 1997.
9. Furst MB, Stromberg BV, Blatchford GJ, Christensen MA, Thorson AG. Colonic anastomoses: bursting strength after corticosteroid treatment. *Dis Colon Rectum* 1994; 37:12-5. [[Links](#)]
10. Goldenberg S. Normas. *Acta Cir Bras* 1993; 8(supl.1):8-24. [[Links](#)]
11. González E, Robles DC, González LL, Cataldo J, Barreiro LM, Deira S, Amenábar JM, Abba M, Lamy R. Efectos de los corticoides en anastomoses colonicas en ratas. *Rev Argent Cir* 1984; 46:290-2. [[Links](#)]
12. Lloyd G, Green FHY, Fox H, Mani V, Turnberg LA. Mast cells and immunoglobulin E in inflammatory bowel disease. *Gut* 1975; 16:861-6. [[Links](#)]
13. Mcneil HP. The mast cell and inflammation. *Aust N Z J Med* 1996; 26:216-25. [[Links](#)]
14. Rosemberg D, Nasser A, Behmer AO, Regen JB, Oksman PV, Deutsch CR. Ação da betametasona nas anastomoses intestinais em um e dois planos de sutura com diferentes materiais. *Rev Paul Med* 1976; 87:99-106. [[Links](#)]

Louzada M, Meneses FS, Fernandes LC, Kim SB, Mora OA, Egami, MI, Stávale, JN, Silva, MRR, Matos D. Intestinal histopathological and morphometric evaluation of effect of extended administration of corticosteroids in dogs. Acta Cir Bras [serial online] 1999 Jan Mar; 14(1). Available from: URL: <http://www.scielo.br/acb.htm>

SUMMARY: Corticosteroids are largely used in the medical practice. However, they present side effects, that condition a risk factor for gastro-intestinal surgical procedures. The present study seeks to evaluate the histological changes of the mucosa and submucosa in colon of dogs submitted to the extended administration of corticosteroids.

Fifteen male dogs with no defined pedigree, weighing 15 kg, randomized, being 6 dogs of the control group and 9 dogs of the experimental group, were submitted to the intramuscular application of hydrocortisone, 35 mg/kg/day for 30 days. The colonic distal segment was resected, fixed in Bouin and the courts were stained by the methods: PAS, alcian blue and HE. In the morphometric analysis, was accomplished the counting of: goblet cells (GLO), absorptive cells (ABS), total cells (TOT= GLO+ABS), mitosis (MIT) and lymphocytes (LYMP) in each crypt; mast cells (MAST) in the submucosa.

The histopathological evaluation revealed lymphocytic and plasma cells infiltrated, disorganization of the crypts, presence of pictotic cells, ulcerations in the mucosa; edema, vascular and lymphatic congestion in the submucosa. Analysis revealed: significant decrease of the number of GLO, ABS, TOT and LYMP, increase of MIT in the experimental group and non alteration of the number of MAST.

It was concluded that the extended administration of corticosteroids in dogs induced significant histopathological and morphometric alterations in the colonic mucosa, that can be constituted important factors of surgical risk.

SUBJECT HEADINGS: Adrenal cortex hormones. Hydrocortisone. Intestinal mucosa. Lymphocytes. Mast cells.

Endereço para correspondência:

Dr. Luís César Fernandes
Rua Damião Fernandes, 75
02342-120 - São Paulo - SP
Tel: (011) 6953-9502

1. Trabalho realizado nos Departamentos de Cirurgia, Morfologia e Anatomia Patológica da Universidade Federal de São Paulo - Escola Paulista de Medicina (UNIFESP - EPM).
2. Acadêmico do 6º Ano do Curso de Medicina - UNIFESP - EPM
3. Cirurgião geral, Mestre em Gastroenterologia Cirúrgica - UNIFESP - EPM
4. Professor Adjunto Doutor da Disciplina de Histologia do Departamento de Morfologia - UNIFESP - EPM
5. Professor Adjunto Doutor da Disciplina de Patologia Cirúrgica do Departamento de Anatomia Patológica - UNIFESP - EPM
6. Professor Adjunto Doutor da Disciplina de Patologia Aplicada do Departamento de Anatomia Patológica - UNIFESP - EPM
7. Professor Livre-Docente e Coordenador do Curso de Pós-Graduação em Gastroenterologia Cirúrgica - UNIFESP - EPM



Al. Rio Claro, 179/141
01332-010 São Paulo SP Brazil
Tel./Fax: +55 11 3287-8814



sgolden@terra.com.br