

## **AVALIAÇÃO DO ÍNDICE DE MATURAÇÃO DO COLÁGENO EM ANASTOMOSES COLÔNICAS DE RATOS SUPLEMENTADOS COM PROBIÓTICOS.**

Gustavo Henrique Doná Rodrigues Almeida, Tiago Jacometo Coelho de Castilho, Eneri Vieira de Souza Leite Mello, e-mail: henriquegustavo1436@gmail.com.

Universidade Estadual de Maringá / Centro de Ciências Biológicas e da Saúde/Maringá, PR.

**Área e subárea do conhecimento:** Biologia Geral – Morfologia – Histologia.

**Palavras-chave:** probióticos, regeneração tecidual, histologia.

### **Resumo:**

Probióticos podem ser considerados substâncias dietéticas que promovem alterações na composição e/ou atividade da microbiota gastrointestinal e que acabam por conferir benefícios à saúde do hospedeiro. O objetivo desse trabalho foi avaliar o índice de maturação do colágeno no processo de cicatrização de anastomoses colônicas de ratos suplementados com o probiótico Probiatop®. Os animais foram divididos em dois grupos (n=9): o grupo CONTROLE, que recebeu maltodextrina (placebo) e o grupo TRATADO suplementado com probiótico, ambos tratados por 12 dias. Após 7 dias de tratamento foi realizado procedimento cirúrgico para realização das anastomoses no cólon. Cinco dias após a cirurgia, os animais foram mortos e o material coletado foi submetido a processamento histológico de rotina. As lâminas foram coradas por meio da técnica Picrosirius Red, a fim de evidenciar o colágeno do tipo I (maduro) por tons avermelhados/amarelados e o tipo III (imaturo) por tons esverdeados. Utilizou-se o programa Image Pro Plus para quantificar a porcentagem da área de colágeno ocupada. A análise estatística, mostrou que houve um aumento na quantidade de ambos os colágenos no grupo tratado em relação ao controle. O Índice de Maturação do Colágeno não mostrou diferença estatística. Pôde-se concluir através desse trabalho que o uso de probióticos se mostrou benéfico e positivo ao aumentar o depósito de colágeno maduro nos ratos suplementados.

### **Introdução**

Probióticos são substâncias dietéticas que promovem alterações na composição e/ou atividade da microbiota gastrointestinal que acabam por conferir benefícios à saúde do hospedeiro. Os probióticos mostraram eficácia na redução de índices de complicações cirúrgicas infecciosas ao melhorar a barreira intestinal ao ser administrado nos períodos pré e pós cirúrgico de pacientes (Didari et al., 2015).

A produção do colágeno no ambiente em cicatrização é mediada pela ação dos autocóides inflamatórios produzidos pelas células inflamatórias. Devido a evidências de que probióticos podem exercer funções imunomoduladoras em ambientes desfavoráveis, acreditamos que a suplementação com probióticos possa influenciar positivamente na fibroplasia durante a cicatrização de anastomoses colônicas (Didari et al., 2015).

## Materiais e métodos

Este estudo foi desenvolvido no Departamento de Ciências Morfológicas da Universidade Estadual de Maringá (UEM). (Certificado de aprovação: CEUA nº 5684270616). Foram utilizados 18 ratos Wistar (*Rattus norvegicus albinus*), machos, com peso corporal em torno de 250 gramas.

Após aclimatação inicial, os ratos foram divididos em 2 grupos:

- Grupo controle (n=9) - ratos sem suplementação de probióticos.
- Grupo tratado (n=9) – ratos com suplementação de probióticos.

O grupo controle foi suplementado com maltodextrina (placebo) e o grupo tratado foi suplementado com probiótico. Ambos foram tratados por 12 dias: 7 dias antes do procedimento cirúrgico e por mais 5 dias pós-cirúrgico, quando foram mortos. A administração de probiótico ou placebo foi feita via oral, com auxílio de uma espátula.

### *Procedimento cirúrgico, morte dos animais e coleta do material*

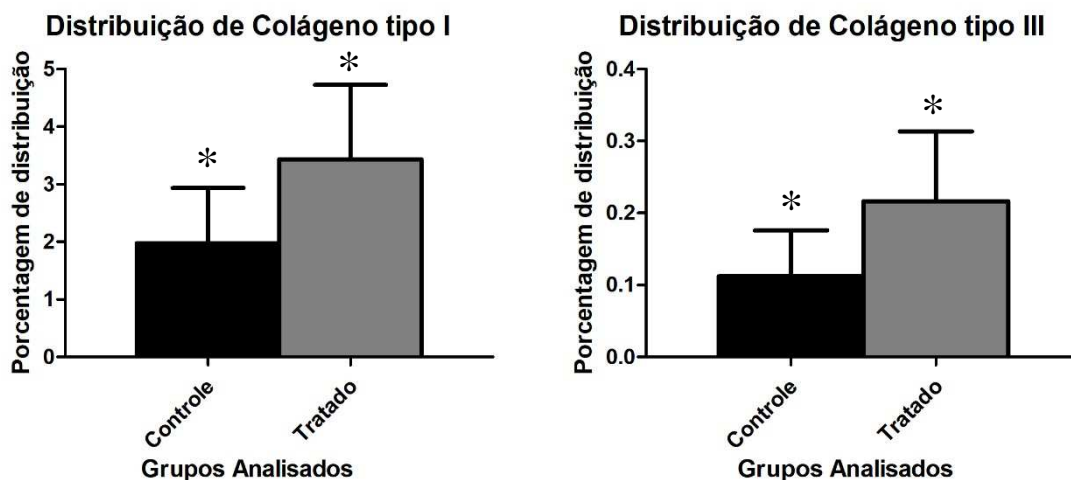
Para procedimento cirúrgico, após jejum de 12 horas, os animais foram anestesiados com a associação de lidocaína associada à tiopental. Foram realizadas duas secções totais do cólon (Castilho et al, 2015).

Pós-operatório: Após a recuperação anestésica, cada animal foi reconduzido à caixa, onde recebeu água e ração ad libitum associada ou não ao probiótico, permanecendo até o momento da eutanásia.

Os animais foram mortos com sobredosagem de anestésicos. Na sequência, foi realizada a retirada de um segmento do cólon seguida de sua fixação em paraformaldeído a 4%, para estudo da densitometria do colágeno. O material foi incluído em parafina, submetido a cortes de 8 µm de espessura e corado por meio da técnica de Picrossirius red (Figura 3). As lâminas foram fotografadas em fotomicroscópio Nikon Eclipse 80i e analisadas por meio do programa Image Pro-plus. A área ocupada pelo colágeno foi calculada e os resultados foram analisados pelo Programa GraphPad Prism 5.

## Resultados e Discussão

Os resultados referentes à área de colágeno dos tipos I e III nos grupos estudados estão expressos na Figura 1 e Tabela 1. Observou-se significativamente maior quantidade de colágeno tanto do tipo I, como do tipo III no grupo TRATADO em relação ao grupo CONTROLE.

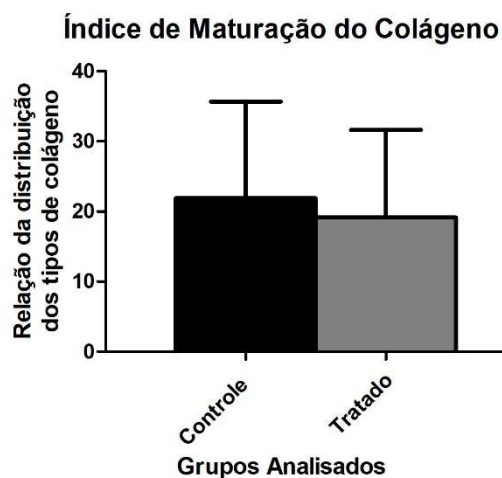


**Figura 1** – Distribuição dos colágenos tipos I e III nos grupos CONTROLE e TRATADO (\* $p < 0,01$ ).

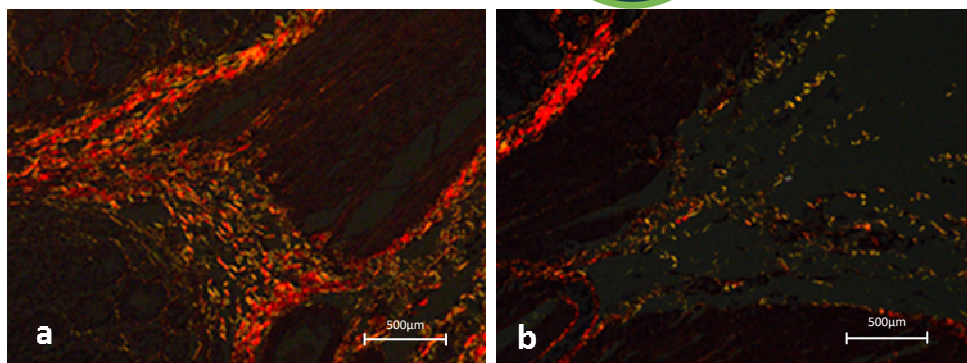
**Tabela 1** - Média  $\pm$  desvio padrão médio de área ocupada pelo colágeno maduro (tipo I) e imaturo (tipo III) nos grupos CONTROLE e TRATADO.

GRUPOS	CONTROLE			TRATADO		
	Média	$\pm$	DP	Média	$\pm$	DP
Colágeno I	1,976	$\pm$	0,960	3,436	$\pm$	1,292
Colágeno III	0,112	$\pm$	0,064	0,216	$\pm$	0,097

O Índice de Maturação do Colágeno (IMaC) foi estabelecido para os grupos CONTROLE e TRATADO. Não foi observada diferença estatística em relação às médias entre os grupos.



**Figura 2** – Índice da Maturação do Colágeno nos grupos CONTROLE e TRATADO.



**Figura 3** – Fotomicrografias de anastomoses colônicas de ratos evidenciadas pelo sistema de captação Picrosírius red. Predominância do colágeno tipo I (a); predominância do tipo III (b). Aumento 20x.

A maior quantidade de colágeno do tipo I (maduro) observada no grupo TRATADO, quando comparada ao CONTROLE pode conferir uma maior força de tensão do tecido conjuntivo na anastomose. Esse efeito do ponto de vista tecidual é muito importante, pois uma melhor regeneração/cicatrização do tecido lesado pelo processo cirúrgico favorece uma maior recuperação e pode diminuir o risco de complicações e/ou rompimentos que podem agravar o quadro do paciente no pós-operatório (Jonsson et al, 1983).

### Conclusões

O uso do probiótico Probiotop® se mostrou benéfico e positivo ao aumentar o depósito de colágeno maduro nos ratos suplementados.

### Agradecimentos

Agradeço a Deus, nosso Senhor, pois sem ele nada seria possível; agradeço imensamente à minha orientadora, Professora Dra. Eneri Vieira de Souza Leite Mello; ao Me. Tiago Jacometo por fornecer o material e apoio; à equipe do Laboratório de Histologia e ao CNPq pelo apoio financeiro a este projeto.

### Referências

Castilho T.J V.; Campos A.C.L.; Mello E. V. S. L. **Efeito do ácido graxo ômega-3 na cicatrização de anastomose colônica em ratos.** Arq. Bras. Cir. Dig., São Paulo, v. 28, p. 258-61, 2015.

Didari T.; Mozaffari S.; Nikfar S.; Abdollahi M. **Effectiveness of probiotics in irritable bowel syndrome: Updated systematic review with meta-analysis.** World J Gastroenterol, Pleasanton, v. 21, p. 3072–3084, 2015.

Jonsson, K.; Jiborn, H.; Zederferltd, B. **Breaking strength of small intestinal anastomoses.** Am J Surg, New York, v. 145, p. 800-803, 1983.