

Ação da L-arginina na evolução de retalhos cutâneos de ratos sob exposição à nicotina

L-arginine action in cutaneous flap evolution under nicotine exposure in rats

MARCUS VINICIUS THOMÉ NORA GUIMARÃES¹; GUILHERME HENRIQUE GONÇALVES MOREIRA²; LUANA PARMINONDI ROCHA²; JOÃO EDUARDO LEAL NICOLUZZI TCBC-PR³; CARLOS JOSÉ FRANCO DE SOUZA TCBC-PR³; JOÃO CARLOS DOMINGUES REPKA⁴

R E S U M O

Objetivo: Avaliar se o tratamento com L-arginina influencia a cicatrização de retalhos cutâneos em ratos expostos à nicotina. **Métodos:** Foram utilizados 40 ratos Wistar pesando $142,4 \pm 10,1$ g separados em quatro grupos: GC- tratamento com solução tampão fosfatos pH 7,4, confecção de retalho cutâneo, observação por 10 dias; GN- exposição à nicotina por quatro semanas, confecção de retalho cutâneo, observação por dez dias; GA- tratamento com solução tampão fosfatos pH 7,4 por quatro semanas, confecção de retalho cutâneo, tratamento com arginina por dez dias; GAN- exposição à nicotina por quatro semanas, confecção de retalho cutâneo, tratamento com arginina por dez dias. Foram avaliadas as áreas de necrose, re-epitelização, reação inflamatória e formação de tecido de granulação, pela coloração HE, a área de deposição total e a diferenciação de colágenos I e III por histometria com a coloração de picrossírius, e, através da marcação imunistoquímica com anticorpo monoclonal anti-CD34, a densidade vascular cicatricial. **Resultados:** As porcentagens de áreas de necrose de GN e GNA foram maiores ($p < 0,001$) do que GC e GA. Nos escores histológicos, a deposição de colágeno e a porcentagem de colágeno tipo I, no GC e GA foram similares ($p > 0,05$) e maiores ($p < 0,001$) do que em GN e em GAN e, nas densidades vasculares, GN e GAN foram menores ($p < 0,001$) do que em GC e em GA. **Conclusão:** A exposição à nicotina inibiu os efeitos da arginina, e nos ratos não expostos, induziu melhora na angiogênese e na deposição de colágeno total nos retalhos cutâneos.

Descritores: Nicotina. Arginina. Colágeno. Cicatrização. Retalhos de tecido biológico.

INTRODUÇÃO

O tabagismo é apontado como a principal causa de morte evitável no mundo e no Brasil, estima-se que 22,4% da população seja tabagista¹. O hábito tabágico é apontado como causa de alterações cicatriciais secundárias aos efeitos maléficos da nicotina na vascularização, especialmente em retalhos cutâneos, e alternativas para evitar esses efeitos têm sido motivo de investigações científicas².

A cicatrização de feridas é um processo dinâmico que envolve fenômenos bioquímicos e fisiológicos³. Nesse contexto, estudos experimentais demonstram que a complementação da dieta com arginina, em ratos, aumenta a força tênsil do tecido lesionado em processo cicatricial e a deposição de colágeno^{4,5}.

A arginina, um aminoácido semiessencial, precursora do óxido nítrico, da ornitina e da prolina, entre outras moléculas, é recrutada nas fases agudas e crônicas da cicatrização. O catabolismo da arginina em feridas

em cicatrização ocorre por duas principais vias, as isoenzimas, que sintetizam óxido nítrico, e as duas isoenzimas arginases⁶.

Foi descrita a influência da nicotina no comprometimento do relaxamento do endotélio, na patogênese da isquemia de retalhos cutâneos e o potencial uso de substâncias precursoras de óxido nítrico para a prevenção ou tratamento desses processos isquêmicos^{7,8}.

Assim sendo, destaca-se a L-arginina como precursora fisiológica da síntese de óxido nítrico^{2,9}. Considerando o efeito antiangiogênico induzido pelo hábito tabágico e a busca de alternativas que possam prover aos pacientes tabagistas uma melhor condição cicatricial pós-operatória, do ponto de vista angiogênico, e, também, considerando o efeito do óxido nítrico como catabólito da arginina, para estimular a angiogênese, o presente estudo tem por objetivo avaliar se o tratamento com arginina em ratos previamente expostos à nicotina e submetidos à confecção de retalhos cutâneos, influencia a angiogênese no processo cicatricial desses retalhos.

Trabalho realizado no Programa de Pós-Graduação em Cirurgia da Pontifícia Universidade Católica do Paraná, Curitiba, PR, Brasil.

1. Mestrando do Programa de Pós-Graduação em Cirurgia da Pontifícia Universidade Católica do Paraná (Curitiba/PR – BR); 2. Médico residente do Programa de Residência Médica em Cirurgia Geral do Hospital Angelina Caron (Campina Grande do Sul/PR – BR); 3. Serviço de Cirurgia Geral e Transplantes do Hospital Angelina Caron (Campina Grande do Sul/PR – BR); 4. Coordenação de Ensino e Pesquisa do Hospital Angelina Caron (Campina Grande do Sul/Pr – BR).

MÉTODOS

Utilizaram-se 40 ratos Wistar (*Rattus norvegicus*, *Rodentia Mammalia*), não isogênicos, pesando 142,4 ± 10,1g, obtidos do biotério da Universidade Federal do Paraná. A amostra foi dividida em quatro grupos de cinco (Tabela 1). Os animais foram mantidos em caixas de polipropileno adequadas para a espécie e mantidos em ambiente específico, com temperatura e umidade controladas sob ciclos de iluminação automaticamente regulados a cada 12 horas. Receberam ração específica para a espécie e água *ad libitum*. O projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa em Animais do Hospital Angelina Caron, conforme protocolo 018/09.

Os ratos dos grupos N e NA (Tabela 1) foram expostos à nicotina na dose de 2mg/kg/dia em duas inoculações diárias de 1mg/kg/SC, com intervalo de 12 horas. Foi utilizada nicotina (SIGMA® - N 5260), em solução aquosa a 20% preparada em tampão fosfatos pH 7,4, esterilizada por filtração em membranas MF (millipore membrane-SCWP304F0 Millipore®)¹⁰⁻¹².

Os tratamentos com L-arginina foram efetuados diariamente por via SC nos ratos dos grupos A e NA (Tabela 1), na dose de 300mg/kg/dia¹³. Foi utilizada L-arginina (Merck®) diluída a 20% em solução tampão fosfatos pH 7,4, esterilizada por filtração em membranas MF.

Os tratamentos solução tampão fosfatos pH 7,4 foram efetuados diariamente por via SC nos ratos dos grupos C, A e N (Tabela 1), em doses equivalentes aos pesos. Foi utilizada solução tampão fosfatos pH 7,4, esterilizada por filtração em membranas MF.

Para o procedimento cirúrgico, os ratos foram anestesiados por via IM com a associação de 100mg/kg de cloridrato de cetamina e 10mg/kg de cloridrato de xilasina. Após tricotomia da região dorsal e antisepsia com álcool iodado, procedeu-se a marcação da área retangular do retalho que se estendeu desde o ângulo inferior das escápulas até 8cm no sentido caudal, com largura de 4cm. Foi realizada incisão envolvendo a pele e o tecido subcutâneo nas bordas direita, esquerda e caudal da marcação do

retalho. A área cutânea foi a descolada e, em seguida, reposicionada em seu leito de origem, sendo fixada com oito pontos simetricamente distribuídos de nylon monofilamentar 6.0^{10,11}. Foram realizados curativos diários, por dez dias, no dorso para proteção dos retalhos.

A quantificação da área de necrose dos retalhos cutâneos se deu com os animais sedados por inalação com halotano, foram obtidos moldes em folhas plásticas do retalho que evidenciavam as áreas de tecido vascularizado viável e tecido necrosado que foram escaneados. A seguir, as imagens geradas foram analisadas através de escalas padronizadas pelo programa Paint-Autocad-2002® e realizada análise planimétrica dos retalhos, registrando-se em centímetros quadrados a área total, área de tecido vascularizado viável e área de tecido necrosado¹⁰.

Após a morte dos animais, induzida por inalação letal de halotano em circuito fechado, foram coletados três fragmentos de pele e tecido subcutâneo das áreas de suturas dos retalhos, identificadas como BD (borda direita), BE (borda esquerda) e BC (borda caudal) que foram imediatamente colocados em frascos com solução de formalina tamponada para fixação da amostra.

Para avaliação histológica cicatricial, as três amostras de cada retalho cutâneo foram submetidas às preparações pelo método de coloração pela Hematoxilina e Eosina (HE) e analisadas conforme os parâmetros histológicos de re-epitelização, reação inflamatória e formação de tecido de granulação. Para cada parâmetro foi estabelecido um escore e o resultado de cada amostra foi a média obtida dos três fragmentos BD, BE e BC, de maneira que cada grupo de animais teve um escore final, permitindo assim a classificação dos grupos em três fases do processo cicatricial.

A avaliação quantitativa do colágeno existente na linha de sutura do retalho cutâneo foi feita pela coloração pelo Picosirius para reconhecer, ao microscópio com luz polarizada, a densidade total do colágeno e as frações de colágeno I (maduro) e III (imaturo), pois as fibras mais espessas e fortemente birrefringentes apresentam-se coradas em tons de laranja a vermelho (colágeno I) e as fibras

Tabela 1 - Composição dos grupos.

Grupos	Observações
Controle (C)	Ratos submetidos ao tratamento com solução tampão fosfatos pH 7,4 por quatro semanas, a seguir a confecção de retalho cutâneo padronizado e observação por 10 dias com tratamento com solução tampão fosfatos pH 7,4.
Nicotina (N)	Ratos submetidos à exposição à nicotina por quatro semanas, a seguir a confecção de retalho cutâneo padronizado e observação por 10 dias com tratamento com solução tampão fosfatos pH 7,4.
Arginina (A)	Ratos submetidos ao tratamento com solução tampão fosfatos pH 7,4 por quatro semanas, a seguir a confecção de retalho cutâneo padronizado e observação por 10 dias com tratamento com solução de arginina.
Arginina-Nicotina (AN)	Ratos submetidos à exposição à nicotina por quatro semanas, a seguir a confecção de retalho cutâneo padronizado, e observação por 10 dias com tratamento com solução de arginina.

mais finas e dispersas, fracamente birrefringentes coradas de verde (colágeno III)¹⁴. Para as avaliações quantitativas as imagens foram captadas por uma câmera fotográfica, transmitidas a um monitor colorido, e digitalizadas. Realizou-se a análise das imagens usando o aplicativo Image-Plus® 4.5 em microcomputador. Foram analisados em cada corte o percentual de área ocupada pelas fibras vermelhas e amarelas (colágeno I) e verdes (colágeno III). Para cada amostra, área total de colágeno e as porcentagens dos tipos I e III foram obtidas pelas médias dos três fragmentos BD, BE e BC¹⁵.

As três amostras de cada retalho foram também submetidas às preparações pelo método imunistoquímico, para pesquisa do marcador CD34 como parâmetro da avaliação da densidade vascular cicatricial¹⁵. Foi empregado o anticorpo monoclonal anti-CD34, clone QBEnd10 (Dako®) e as contagens foram executadas nas áreas com maior número de capilares e pequenas vênulas, em três campos distintos utilizando-se magnificação de 200X. Para as contagens dos microvasos foram consideradas as células coradas em marrom, tanto isoladas quanto agrupadas. Para cada amostra a densidade vascular cicatricial foi estabelecida pela média dos três fragmentos BD, BE e BC.

A avaliação da normalidade da distribuição dos resultados foi feita pelo teste de Kolmogorov-Smirnov e expressas como média \pm desvio padrão. As variáveis foram testadas por meio de análise de variância (ANOVA) e os valores de $p < 0,05$ foram considerados estatisticamente significativos.

RESULTADOS

Os grupos nicotina (GN) e arginina-nicotina (GNA) apresentaram porcentagens médias de $23,7 \pm 7,7$ e $17,4 \pm 7,1$ de áreas de necroses, sendo significativamente maiores que o controle (GC), que apresentou $7,1 \pm 3\%$. O grupo arginina apresentou média de $6,5 \pm 3,1\%$ e não diferiu do GC (Figura 1).

A análise dos escores médios das avaliações histológicas dos retalhos cutâneos demonstrou que os grupos controle e tratados com arginina apresentaram escores similares quanto aos critérios re-epitelização ($p > 0,05$), reação inflamatória ($p > 0,05$) e formação de tecido de granulação ($p > 0,05$), cujos escores foram significativamente maiores que os observados nos grupos de ratos expostos à nicotina (GA) e expostos à nicotina e tratados com arginina (Figura 2).

A avaliação da síntese de colágeno demonstra pelas médias das avaliações histométricas das áreas totais de colágeno, representativas das amostras das bordas direita, esquerda e caudal dos retalhos cutâneos foram significativamente maiores nos grupos controle e arginina do que as médias observadas nos grupos de ratos expostos à nicotina (GA) e expostos à nicotina e tratados com arginina (Figura 3).

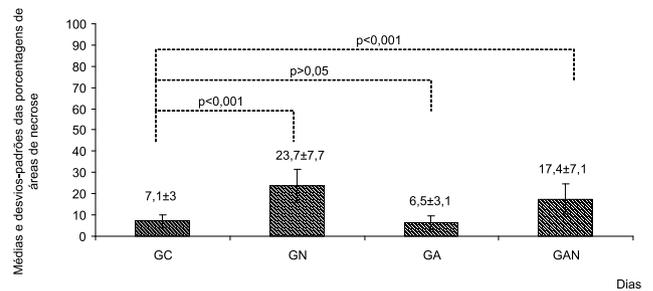


Figura 1 - Médias e desvios-padrões das porcentagens de áreas de necrose nos retalhos cutâneos.

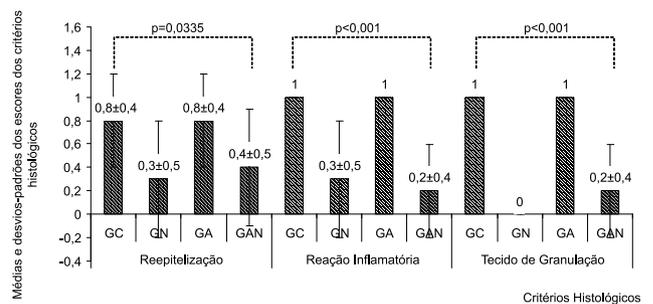


Figura 2 - Médias e desvios-padrões dos escores das avaliações histológicas nos retalhos cutâneos.

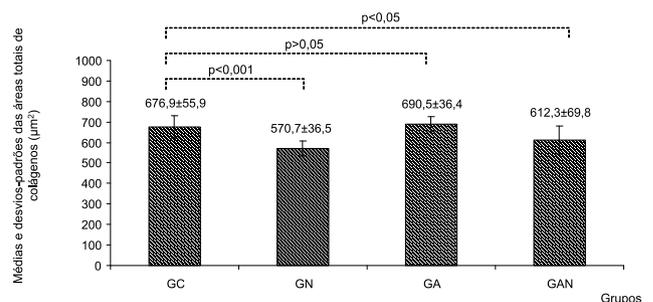


Figura 3 - Médias e desvios-padrões das áreas totais de colágenos em Mm².

Da mesma forma, a avaliação das médias histométricas de colágeno maduro, representativas das amostras das bordas direita, esquerda e caudal dos retalhos foram significativamente maiores nos grupos controle e arginina do que as médias observadas nos grupos de ratos expostos à nicotina (GA) e expostos à nicotina e tratados com arginina (Figura 4).

Houve diferenças significantes nas médias das contagens de vasos marcados pelo anticorpo anti-CD34 entre as bordas direita, esquerda e caudal entre os grupos avaliados. Destacam-se as médias observadas na borda caudal, em todos os grupos avaliados, menores do que as médias das outras bordas do retalho cutâneo. Nas avaliações estatísticas entre as médias dos fragmentos BD, BE e BC por grupos, observou-se que os grupos GN ($4,3 \pm 1,5$) e GAN ($2,9 \pm 1,1$) foram significativamente menores do que o GC ($6,3 \pm 1,9$) e o GA ($8,9 \pm 1,8$) (Figura 5).

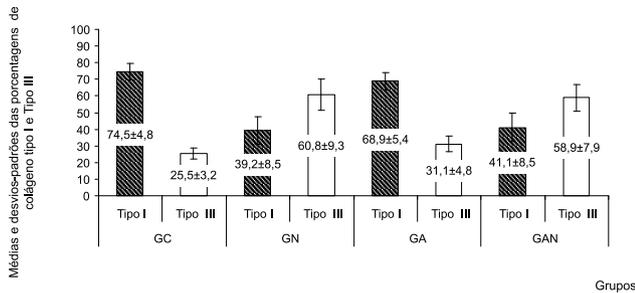


Figura 4 - Representação gráfica das médias e desvios-padrões das porcentagens de colágenos tipos I e III.

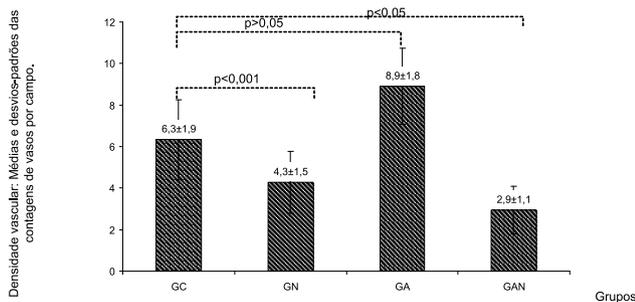


Figura 5 - Representação gráfica das médias e desvios-padrões das contagens de vasos marcados pelo anticorpo monoclonal anti-CD34 conforme os grupos avaliados.

DISCUSSÃO

Os efeitos deletérios do tabagismo estão diretamente associados ao número de cigarros consumidos por dia, que é o fator que determina nos modelos experimentais a intensidade diária da exposição à nicotina¹⁶.

No presente estudo, a dose de nicotina administrada aos ratos foi 2mg/kg por quatro semanas, equivalente a alta exposição à droga, mimetizando um quadro de tabagismo acentuado¹⁶.

O tema isquemia e angiogênese no modelo experimental retalho cutâneo dorsal proposto por Macfarlane¹² é intensamente utilizado para avaliar outras estratégias experimentais para a melhora da necrose distal do referido retalho.

Em resumo, nesse modelo, foram descritos os efeitos de substâncias antioxidantes como vitamina C, vitamina E e ginkgo-biloba, com menor dano tecidual e aumento da neovascularização¹⁷.

A associação de manitol com vitamina C reduziu, mas não impediu, a ocorrência de necrose¹⁸. A iontoforese, como forma de administração de cloridrato de hidralazina, não foi eficaz para o aumento da área de viabilidade do retalho, porém, quando associada à histamina, por essa mesma via, verificou-se aumento da área de viabilidade¹⁹, da mesma forma o minoxidil²⁰.

A associação entre a pentoxifilina e o cloridrato de buflomedil foi avaliada na sobrevida dos retalhos indu-

zidos em ratos expostos à nicotina, em doses que produzem níveis comparáveis a de fumantes humanos.

Verificou-se que a associação entre as drogas melhorou a resposta clínica com a sobrevida dos retalhos, e os autores consideraram como associação eficaz na reversão dos efeitos causados pela nicotina²¹.

A dose de 2mg/kg de nicotina e forma de administração SC utilizadas no presente estudo foram empregadas também para a avaliação dos efeitos da terazosina, um neuroreceptor antagonista, e demonstraram sua eficácia na prevenção da necrose, porém, quando associada ao propranolol, um bloqueador de receptores beta, o efeito protetor da reação necrótica anteriormente observada não ocorreu²².

Taxas de necrose em retalhos cutâneos dorsais de ratos de 28,5% no grupo controle e de 45,7% no grupo exposto à nicotina por sete dias no pré-operatório e sete dias no pós-operatório foram relatadas em estudos com metodologia diferente do presente trabalho, pois os retalhos eram mais longos e, por isso, mais isquêmicos, e a exposição à nicotina foi feita pela via inalatória^{23,24}.

No presente estudo, o tratamento diário com 300mg/kg com a arginina, durante o pós-operatório de dez dias, não impediu, mas minimizou a ocorrência de necrose nos retalhos dorsais dos ratos nos grupos GA (6,5±3,1%) e GAN (17,4±7,1%). A utilização da arginina, em estudo experimental de retalho miocutâneo, pediculado e dorsal, foi relacionada com a queda das concentrações sanguíneas, de piruvato, lactato e corpos cetônicos no 14º dia. Os autores sugeriram a ocorrência de maior utilização desses metabólitos pelos tecidos em cicatrização, por possível ação anabólica da oferta de L-arginina, e concluíram que a suplementação de L-arginina tem efeito sobre as concentrações séricas de substratos e sobre a cicatrização cutânea e muscular²⁵.

A nossa explicação para a síntese deficiente de colágeno nos ratos expostos à nicotina era de que os retalhos isquêmicos, decorrentes da exposição à nicotina, geravam tensões que só permitiam a divisão celular do fibroblasto, já que uma tensão maior era requerida para síntese de colágeno, o que foi verificado com a administração oral de L-arginina²⁶.

No presente estudo houve diferenças significantes entre os grupos nos três critérios histológicos avaliados: re-epitelização ($p=0,0335$), reação inflamatória ($p<0,001$) e formação de tecido de granulação ($p<0,001$).

Na comparação entre os pares de grupos, quanto à re-epitelização não houve diferença significativa ($p>0,05$). A análise da reação inflamatória mostrou que o GC apresentou resultados significativamente melhores do que GN e GAN ($p<0,001$); da mesma forma, o GA em relação ao GAN ($p<0,001$).

Quanto à formação de tecido de granulação, que traduz a fase proliferativa do processo cicatricial, observou-se a mesma tendência que o critério anterior, pois o GC apresentou resultados significativamente melhores do

que GN e o GAN ($p < 0,001$); o mesmo quanto ao GA em relação ao GAN ($p < 0,001$).

As alterações histológicas na cicatrização dos retalhos cutâneos dos ratos expostos à nicotina, no presente estudo, não diferiram dos achados histológicos de outros autores^{26,27}, ou seja, ocorreram alterações significativas nas avaliações dos critérios de re-epitelização, reação inflamatória e formação de tecido de granulação. Estes autores salientaram que as alterações descritas eram decorrentes da diminuição da pO_2 tecidual, uma vez que essa diminuição é consequência dos efeitos da nicotina, como verificado anteriormente que a boa cicatrização depende fundamentalmente da oferta de oxigênio aos tecidos^{27,28}, fortalecendo assim os achados deste trabalho, que, através da confecção de um retalho isquêmico e exposto à nicotina, uma droga sabidamente vasoconstritora, seguido de tratamento pela arginina, as médias dos escores dos padrões histológicos apresentaram-se mais próximas às do grupo controle.

No presente estudo, o GC demonstrou média de colágeno total significativamente mais elevada do que o GN e GAN ($p < 0,001$), porém, não demonstrou diferenças quando em comparação ao grupo GA ($p > 0,05$), cuja média foi maior do que a do GC. O GN demonstrou média significativamente ($p < 0,001$) menor do que o GA, mas semelhante ao GAN ($p > 0,05$). O GA mostrou média significativamente maior do que o GAN ($p < 0,01$).

A dose de nicotina utilizada por Salles Júnior *et al*¹⁰ induziu a diminuição do fluxo sanguíneo nos pontos mais distais de em retalhos cutâneos em ratos e avaliados por fluxometria à laser e, de modo similar no presente estudo, diminuiu a proporção entre as taxas de colágenos tipo I e tipo III.

Quanto ao colágeno tipo I, considerando a média porcentual dos três fragmentos (BD, BE e BC) no GC foi significativamente maior ($p < 0,001$) do que no GN e no GAN. O GA foi significativamente maior do que o GN ($p < 0,001$) e também que o GAN ($p < 0,01$) e, quanto a esses achados do presente estudo, pode-se inferir um efeito da arginina.

A B S T R A C T

Objective: To evaluate whether treatment with L-arginine influences the healing of skin flaps in rats exposed to nicotine.

Methods: 40 male Wistar rats weighing 142.4 ± 10.1 g were separated into four groups: GC: treatment with 7.4 pH phosphate buffer, submitted to skin flap and observation for ten days; GN: exposure to nicotine for four weeks, submitted to skin flap and observation for ten days; GA: treatment with 7.4 pH phosphate buffer for four weeks, submitted to skin flap and arginine treatment for ten days; GAN: exposure to nicotine for four weeks, submitted to skin flap and treatment with arginine for ten days. We evaluated: areas of necrosis, re-epithelialization, inflammatory reaction and formation of granulation tissue by HE stain; the total area of deposition and differentiation of collagens I and III by histometry with picrosirius staining; and the scar vascular density by immunohistochemical staining with monoclonal anti-CD34 antibodies. **Results:** The percentages of necrotic areas in GN and GNA were higher ($p < 0.001$) than in GC and GA. In histological scores, collagen deposition, and the percentage of type I collagen, GA and GC were similar to each other ($p > 0.05$), but higher ($p < 0.001$) than GA and GNA; as for vascular densities, they were lower in GN and GAN ($p < 0.001$) than in GC and GA. **Conclusion:** Exposure to nicotine inhibited the effects of arginine and in unexposed mice there was induction of angiogenesis and improvement in the total collagen deposition in the skin flaps.

Key words: Nicotine. Arginine. Collagen. Healing. Patchwork of biological tissue.

Essas afirmações foram reiteradas por outros autores²⁶, que inferiram ser a deposição de colágeno, a epitelização e a angiogênese, fenômenos dependentes da oxigenação tecidual. A cicatrização retardada observada no grupo exposto à nicotina (GN) e exposto à nicotina e tratado pela L-arginina (GAN) pode ser explicada pela diminuição da proliferação de fibroblastos e macrófagos induzidos pela nicotina².

Poucos são os estudos que informam a densidade vascular cicatricial nas condições experimentais avaliadas no presente estudo, ou seja, pelas médias das contagens de vasos marcados pelo anticorpo anti-CD34, entre as bordas direita, esquerda e caudal nos grupos avaliados; demonstrou na borda caudal, em todos os grupos, médias menores que as das outras bordas do retalho cutâneo. Após serem obtidas as médias dos fragmentos BD, BE e BC por grupos, observou-se que os grupos GN e GAN foram significativamente menores do que o GC e o GA ($p < 0,001$).

Intensamente difundido é o fato de a arginina ser precursora do ON e esse, por sua vez, dispõe de propriedades terapêuticas, como a estimulação da resposta imunológica, o auxílio no processo de cicatrização, a vasodilatação e a angiogênese²⁹.

Em estudo experimental, com método similar ao do presente estudo, com o objetivo de avaliar a marcação imunoistoquímica com anticorpos monoclonais anti-CD34, a influência da L-arginina no desenvolvimento microvascular do intestino delgado de suínos desmamados precocemente, foi descrito que a suplementação alimentar com 0,7% de L-arginina reforça a expressão de fatores angiogênicos no intestino delgado. No entanto, a suplementação excessiva com L-arginina (1,2%) induziu estresse e disfunção intestinal³⁰.

O tratamento com arginina, na dose de 300mg/kg, demonstrou, no processo cicatricial de retalho cutâneo em ratos não expostos à nicotina, indução de angiogênese e aumento da deposição de colágeno total. Nos ratos expostos à nicotina, não foram observados efeitos relacionados com melhora da área de necrose, do padrão histológico, da deposição e maturação de colágeno e aumento na densidade vascular cicatricial.

REFERÊNCIAS

- Iglesias R, Jha P, Pinto M, Silva VLC, Godinho J. Controle do Tabagismo no Brasil [online]. Washington, DC: Banco Internacional para Reconstrução e Desenvolvimento / Banco Mundial; 2007 [acessado em: out 2011]. Disponível em: <http://portal.saude.gov.br/portal/arquivos/pdf/Controle%20do%20Tabagismo%20no%20Brasil.pdf>
- Mosely LH, Finseth F, Goody M. Nicotine and its effect in wound healing. *Plast Reconstr Surg*. 1978;61(4):570-5.
- Mandelbaum SH, Di Santis EP, Mandelbaum MHS. Cicatrização: conceitos atuais e recursos auxiliares – Parte I. *An Bras Dermatol*. 2003;78(4):393-410.
- Seifter E, Rettura G, Barbul A, Levenson SM. Arginine: an essential amino acid for injured rats. *Surgery*. 1978;84(2):224-30.
- Witte MB, Barbul A. General principles of wound healing. *Surg Clin North Am*. 1997;77(3):509-28.
- Moncada S, Palmer RM, Higgs EA. Nitric oxide: physiology, pathophysiology, and pharmacology. *Pharmacol Rev*. 1991;43(2):109-42.
- Billiar TR, Simmons R. The therapeutic use of L-arginine to increase nitric oxide production. *Nutrition*. 1992;8(5):371-3.
- Das UN. L-arginine, nitric oxide and collagen vascular diseases: a potential relationship? *Nutrition*. 1992;8(5):371.
- Medeiros AC, Lima FP, Dantas Filho AM, Melo NMC, Azevedo IM. A nicotina atua como fator deletério na reparação da parede abdominal. *Acta Cir Bras*. 2003;18(1):19-23.
- Salles Júnior GS, Melo RCI, Schmidt FR, Grega FH, Dietz U, Araújo U, et al. Avaliação da exposição e interrupção da nicotina em tempos diferentes na evolução de retalho cutâneo ao acaso de dorso de ratos por meio de fluxometria a laser e de picrosirius. *Rev bras cir plast*. 2008;23(4):322-7.
- McFarlane RM, Deyoung G, Henry RA. The design of a pedicle flap in the rat to study necrosis and its prevention. *Plast Reconstr Surg*. 1965;35:177-82.
- Campos H, Ferreira LM, Santos WLC, Araújo MCM. Efeitos da nicotina nos retalhos cutâneos em ratos. *Acta Cir Bras*. 2001;16(4):206-10.
- Shukla A, Rasik AM, Shankar R. Nitric oxide inhibits wound collagen synthesis. *Mol Cell Biochem*. 1999;200(1-2):27-33.
- Junqueira LC, Cossermelli W, Brentani R. Differential staining of collagen type I, II and III by Sirius Red and polarization microscopy. *Arch Histol Jpn*. 1978;41(3):267-74.
- Hsu SM, Raine L, Fanger H. Use of avidin-biotin-peroxidase complex (ABC) in immunoperoxidase techniques: a comparison between ABC and unlabelled antibody (PAP) procedures. *J Histochem Cytochem*. 1981;29(4):577-80.
- Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). A ANVISA na redução do tabagismo [online]. Brasília, Brasil; 2007. [acessado em: set. 2011]. Disponível em: http://bvsm.s.saude.gov.br/bvs/publicacoes/anvisa_reducao_tabagismo.pdf
- Pace D, Campos AC, Graf R. Efeito de substâncias antioxidantes (vitamina C, vitamina E e ginkgo biloba) na viabilidade de retalho cutâneo dorsal em ratos. *Rev Soc Bras Cir Plást*. 2006;21(2):77-81.
- Yoshida WB, Campos EBP. Ischemia and reperfusion in skin flaps: effects of mannitol and vitamin C in reducing necrosis area in a rat experimental model. *Acta Cir Bras*. 2005;20(5):358-63.
- Esteves Júnior I, Tacani PM, Liggieri VC, Ruggi BG, Ferreira LM, Liebano RE. Histamine iontophoresis on the viability of random skin flap in rats. *Acta Cir Bras*. 2009;24(1):48-51.
- Bittencourt RC, Biondo-Simões MLP, Paula JB, Martynetz J, Groth A. Influence of minoxidil on ischemic cutaneous flaps in rats. *Acta Cir Bras*. 2005;20(6):450-4.
- Leal PR, Cammarota MC, Sbalchiero J, Marques MM, Moreira M. Efeitos da pentoxifilina e o cloridrato de buflomedil em retalhos randomizados em ratos sob influência da nicotina. *Rev Soc Bras Cir Plast*. 2004;19(3):31-42.
- Fonseca AV, Ferreira LM, Gomes HC, Percario S. Terazosin and propranolol as blockers to the deleterious effect of nicotine in a random skin flap in the rat. *Acta Cir Bras*. 2004;19(3):186-95.
- Kivisaari J, Vihersaari T, Renvall S, Niinikoski J. Energy metabolism of experimental wounds at various oxygen environments. *Ann Surg*. 1975;181(6):823-8.
- Kaufman T, Eichenlaub EH, Levin M, Hurwitz DJ, Klain M. Tobacco smoking: impairment of experimental flap survival. *Ann Plast Surg*. 1984;13(6):468-72.
- Penaforte LRA, Guimarães SB, Farias RAF, Alves GC, Oliveira TR, Vasconcelos PRC, et al. Efeitos da L-Arginina sobre as concentrações in vivo de metabólitos no sangue e em retalho miocutâneo contendo cicatriz cirúrgica, em ratos wistar. *Rev Bras Cir Plast*. 2003;18(3):61-6.
- Komorowska-Timek E, Timek TA, Brevetti LS, Szuba A, Stuehlinger M, Hardesty RA, et al. Oral administration of L-arginine decreases necrosis of the epigastric skin flap in the rat. *Ann Plast Surg*. 2004;53(1):73-8.
- Niinikoski J, Hunt TK, Dunphy JE. Oxygen supply in healing tissue. *Am J Surg*. 1972;123(3):247-52.
- Murohara T, Asahara T, Silver M, Bauters C, Masuda H, Kalka C, et al. Nitric oxide synthase modulates angiogenesis in response to tissue ischemia. *J Clin Invest*. 1998;101(11):2567-78.
- Neilly PJ, Kirk SJ, Gardiner KR, Rowlands BJ. The L-arginine/nitric oxide pathway—biological properties and therapeutic applications. *Ulster Med J*. 1994;63(2):193-200.
- Zhan Z, Ou D, Piao X, Kim SW, Liu Y, Wang J. Dietary arginine supplementation affects microvascular development in the small intestine of early-weaned pigs. *J Nutr*. 2008;138(7):1304-9.

Recebido em 21/05/2012

Aceito para publicação em 30/07/2012

Conflito de interesse: nenhum

Fonte de financiamento: nenhuma

Como citar este artigo:

Guimarães MVTN, Moreira GHG, Rocha LP, Nicoluzzi JEL, Souza CJF, Repka JCD. Ação da L-arginina na evolução de retalhos cutâneos de ratos sob exposição à nicotina. *Rev Col Bras Cir*. [periódico na Internet] 2013;40(1). Disponível em URL: <http://www.scielo.br/rcbc>

Endereço para correspondência:

João Carlos Domingues Repka
E-mail: repka@hospitalcaron.com.br