

A nicotina atua como fator deletério na reparação da parede abdominal¹

Aldo da Cunha Medeiros²

Francisco Pignataro Lima³

Antônio Medeiros Dantas Filho⁴

Nara Medeiros Cunha de Melo⁵

Ítalo Medeiros de Azevêdo⁶

Medeiros AC, Lima FP, Dantas Filho AM, Melo NMC, Azevêdo IM. A nicotina atua como fator deletério na reparação da parede abdominal. *Acta Cir Bras* [online] 2003 vol 18 suppl 1. Disponível em www.scielo.br/acb.

RESUMO: Objetivo: Avaliar o efeito da nicotina na cicatrização da camada musculoaponeurótica da parede abdominal. **Métodos:** Estudo experimental em que foram usados 16 ratos da raça Wistar pesando em média 210±8g, separados aleatoriamente em 2 grupos de 8. Nos animais do grupo A foi implantado disco de nicotina (Nicotinel Ò) na dose de 5mg/Kg de peso/dia no subcutâneo da região dorsal, trocado a cada dois dias, a partir do 5º dia antes da operação em que foi feita laparotomia mediana de 5 cm, até o 10º dia de observação. No grupo B (controle) foram usados discos de celulose com o mesmo diâmetro. Tubo de silicone multiperfurado foi implantado no subcutâneo a 1cm da lesão da parede abdominal. A camada musculoaponeurótica e a pele foram suturadas com fio de nylon 5-0. No 10º dia pós-operatório foi colhido 1ml de líquido seroso do tubo de silicone por punção percutânea para dosagem de pO₂ e os animais receberam dose letal de anestésico. Foi ressecado um segmento da camada musculoaponeurótica com 2cm de largura para tensiometria, em seguida processado e corado em HE e tricrômico de Masson para análise quantitativa dos dados histopatológicos em sistema digitalizado. A análise estatística foi feita pelo ANOVA e teste Newman-Keuls, com significância 0,05. **Resultados:** No grupo A a pO₂ do líquido tecidual atingiu o valor 17,75±3,4 mmHg e no grupo B (controle) a pO₂ = 40,75±6,4 mmHg (p<0,01). A resistência à tensão apresentou o valor de 728,5±161,75gf no grupo A e 1241,6±232gf no grupo de controle (p<0,01), coincidindo com os achados da pO₂. A densidade média dos elementos histopatológicos estudados foi de 105±17,1 nos animais do grupo A e 146,2±8,8 no grupo B (p<0,01). **Conclusão:** após avaliação da pO₂ tecidual, tensiometria e histopatologia, concluiu-se que a nicotina por via subcutânea exerce efeito deletério sobre a cicatrização de lesões da parede abdominal de ratos. **DESCRITORES:** Nicotina. Cicatrização. Parede abdominal. Tensiometria. Histopatologia. Oxigênio.

1. Trabalho realizado no Núcleo de Cirurgia Experimental Prof. Travassos Sarinho -UFRN. Apoiado pelo CNPq.
2. Doutor em Cirurgia, Chefe do Núcleo de Cirurgia Experimental, Prof. Adjunto e Coordenador da Disciplina de Técnica Operatória -UFRN, Pesquisador nível I do CNPq.
3. Mestre e Prof. do Departamento de Patologia -UFRN.
4. Prof. do Departamento de Cirurgia e aluno do Programa de Pós-graduação-Doutorado.
5. Aluna bolsista de Iniciação Científica.
6. Aluno do Departamento de Estatística-UFRN.

INTRODUÇÃO

O tabaco é considerado como droga pelas normas que regem o "U.S Food and Drug Administration", que o inclui no mesmo grupo de substâncias como morfina, nicotina, ópio, entre muitas outras que causam dependência.

São bem conhecidos os efeitos negativos do cigarro no aparelho respiratório, provocando doenças como enfisema e a bronquite, bem como o elevado índice de câncer do pulmão e de outros órgãos relacionados ao consumo de cigarro^{1,2}. No que diz respeito à cirurgia, não é novo o conceito de que o ato de fumar prejudica a cicatrização das feridas. Os fumantes apresentam um maior risco de deiscência das feridas abdominais³, necrose de enxertos de pele^{4,5} e cicatrização precária de úlceras de perna⁶. Em um estudo de cicatrização de feridas em diabéticos fumantes, Goodson et al⁷ relataram uma deposição deficiente de colágeno.

O estudo aqui descrito procurou investigar experimentalmente a ação da nicotina aplicada por via subcutânea, na resistência dos tecidos suturados, na pO_2 dos tecidos em cicatrização e na evolução histopatológica desses tecidos da parede abdominal, após laparotomia mediana em ratos.

MÉTODOS

Foram utilizados 16 ratos adultos jovens da raça Wistar, com peso médio 210 ± 8 g, mantidos em gaiolas individuais com água e comida *ad libitum*.

No modelo animal utilizado foi feita a aplicação de nicotina, introduzindo-se o Nicotinell TTS® na dose de 5 mg/Kg/dia em dias alternados, em espaço subcutâneo cirurgicamente confeccionado no dorso dos animais. Foram operados em condições de assepsia e divididos aleatoriamente em dois grupos de igual número de animais, sendo os grupos A (n=8) e B (n=8), anestesiados com éter sulfúrico por inalação. Os animais do grupo A receberam a nicotina durante 6 dias antes da operação a que foram submetidos, para assegurar nível sérico da droga no momento da operação e por mais 10 dias no pós-operatório. No grupo B (controle) foram utilizados discos esterilizados de celulose sem nicotina, ao nível do dorso, na mesma localização e prazo de utilização do grupo experimental.

Em decúbito dorsal e devidamente anestesiados, todos os animais foram submetidos a depilação, anti-sepsia da região abdominal, laparotomia mediana de 5 cm. A parede abdominal foi suturada em dois planos em pontos simples separados com fio de nylon

monofilamentar 5-0. Um tubo de silicone multiperfurado, com 3mm de diâmetro e 2cm de comprimento foi implantado no subcutâneo próximo à zona de sutura. Completado o período de uso da droga antes descrito, procedeu-se a coleta de 1ml de líquido seroso da luz do tubo de silicone por punção percutânea, para determinação da pressão parcial do oxigênio (pO_2) e em seguida a morte dos animais com superdose de anestésico. Foi retirado segmento da parede abdominal incluindo a ferida da camada musculo-aponeurótica no sentido transversal, tendo a ferida no seu centro, com 2cm de largura. A zona de sutura foi submetida a teste de resistência à tensão (em gf) com o auxílio da Máquina de Ensaio EMIC DL500MF interligada a programa específico versão 3.0 para *Windows*. Concluído o teste de resistência, foi feita biópsia da zona de sutura, sendo o material fixado em formol 10% e processado através de técnica de rotina usando-se as colorações hematoxilina-eosina e tricrômico de Masson, seguindo a técnica utilizada por outros autores⁸. A avaliação histológica das lâminas foi efetuada em microscópio óptico (*Olimpus*) equipado com sistema digital de captura de imagens através de câmera e *Software Image Pro-plus*, versão 3.0 (*Media Cybernetics - LP, USA*). Cada campo digitalizado foi dividido em unidades de imagem denominadas *picture elements* ou *pixels*. Foram avaliados dez campos aleatórios de cada lâmina para quantificação dos elementos da reação inflamatória fibroblastos, neutrófilos, neovasos, tecido de granulação e colágeno, sob a forma de densidade mínima, máxima e média.

Os dados foram avaliados pela análise de variância ANOVA, complementada pelo exame das diferenças entre as médias através do teste Newman-Keuls, considerando-se as diferenças significantes quando $p < 0,05$.

RESULTADOS

Entre os animais do grupo A, dois deles (números 3 e 5) apresentaram pequeno grau de infecção da ferida operatória. A pO_2 do líquido tecidual próximo à lesão da parede abdominal atingiu a média de $17,75 \pm 3,4$ mmHg no grupo submetido a tratamento com nicotina, no qual se observou que os animais de números 3 e 5, acometidos de infecção da ferida operatória, apresentaram os menores valores de pO_2 . No grupo B (de controle) a pO_2 correspondeu ao valor $40,75 \pm 6,4$ mmHg. Na tabela 1 observa-se que quando foram comparadas as duas médias, a diferença mostrou-se significativa ($p < 0,01$).

Tabela 1 – Valores em mmHg da dosagem da PO₂ do líquido seroso colhido da vizinhança do tecido músculo-aponeurótico em cicatrização.

Rato nº	Grupo A (nicotina)	Grupo B (controle)
01	20	38
02	17	44
03	14	35
04	18	51
05	12	42
06	18	37
07	22	32
08	21	47
Média±dp	17,75±3,4	40,75±6,4

A diferença entre as médias é significativa (P<0,01)

A resistência da camada musculo-aponeurótica à tensão apresentou o valor de 728,5±161,75gf nos animais do grupo experimental e 1241,6±232gf no

grupo de controle (p<0,01), coincidindo com os achados da pO₂ (tabela 2).

Tabela 2 – Resistência dos tecidos suturados à tensão, determinados em grama-força (gf).

Rato nº	Grupo A (nicotina)	Grupo B (controle)
01	745	1183
02	598	978
03	870	1493
04	459	1620
05	952	980
06	627	1314
07	842	1275
08	737	1090
Média±dp	728,5±161,75*	1241,6±232

*P<0,01 comparado com o grupo B.

De acordo com o método empregado na avaliação histológica, a densidade média dos elementos histopatológicos estudados foi de 105±17,1 nos animais do grupo A e 146,2±8,8 no grupo B (p<0,01). Os dados relativos ao estudo histopatológico de ambos os grupos

encontram-se resumidos na tabela 3. A diferença entre os dois grupos, ocorreu em decorrência, principalmente, da menor densidade de colágeno e de fibroblastos nas feridas dos animais que receberam a nicotina por via subcutânea.

Tabela 3 – Densidade média dos parâmetros histológicos analisados nos grupos A e B.

Rato nº	Grupo A (nicotina)	Grupo B (controle)
01	110.4	147.0
02	89.0	136.0
03	102.9	142.0
04	96.3	162.5
05	120.9	140.1
06	109.5	138.8
07	80.7	147.6
08	134.0	155.0
Média±dp	105,4±17,1*	146,2±8,8

*P<0,01 comparado com o grupo B

DISCUSSÃO

A análise da literatura induz à conclusão de que o hábito de fumar leva a uma série de alterações em diversos órgãos, em especial atingindo os pulmões e coração². No que diz respeito à cicatrização das feridas, são poucos os estudos específicos a respeito. Moosa et al³ relatam que os fumantes têm risco aumentado de apresentarem deiscência de feridas da parede abdominal, e Goodson et al⁷ demonstraram que ocorre uma deposição deficiente de colágeno nas feridas operatórias de fumantes, o que corrobora com os achados do nosso trabalho. Os efeitos vasoconstritores observados nos fumantes, que são principalmente devidos à nicotina, foram descritos por Lampson⁹. Os problemas observados nas feridas dos animais do presente estudo certamente foram decorrentes da diminuição da PO₂ tecidual nos que usaram nicotina subcutânea, uma vez que esse parâmetro é de suma importância para todos os fenômenos do processo da cicatrização^{10,11}.

Segundo Niinikoski¹², o fator central e básico do qual depende a realização, a bom termo, de todos os outros fenômenos da cicatrização é o suprimento de oxigênio aos tecidos. Com o auxílio de microeletrodos, foi demonstrado que a tensão de oxigênio próximo aos capilares da ferida estava em torno de 60 a 90 mmHg e, a pequena distância, os valores se aproximavam de zero. Verificou-se, ainda, que os fibroblastos necessitam de uma tensão de oxigênio de 15 mmHg para a divisão celular e de 15 a 30 mmHg, para a síntese de colágeno¹³. Estes mesmos autores^{12,13} observaram que se houver uma diminuição de volume sanguíneo até níveis que provoquem hipotensão arterial, a perfusão de oxigênio da ferida cessa quase inteiramente por longos períodos, interferindo drasticamente na síntese do colágeno. Quanto mais oxigênio houver nos tecidos maior será a síntese do colágeno e mais eficiente será sua

maturação¹⁴. Estes achados demonstram claramente que a vascularização, o teor de oxigênio tecidual e a proteína do colágeno maduro e estável representam fatores de grande importância na cicatrização das feridas.

Foi demonstrado que a nicotina injetada por via subcutânea prejudica a viabilidade de retalhos cutâneos em ratos, aumentando a área de necrose, quando se utiliza a droga no pré-operatório e que a continuidade do uso no pós-operatório aumenta a área comprometida¹⁵.

O montante de deposição do colágeno, epitelização, angiogênese, culminando com a maturação do colágeno, todos dependem da oxigenação tecidual. No que diz respeito à ação da nicotina na cicatrização da parede abdominal no presente trabalho, é provável que outros mecanismos ainda não bem esclarecidos estejam envolvidos. Tanto o ato de fumar como a aplicação de emplastos de nicotina na pele de pacientes, inibem o fluxo de oxigênio para os tecidos em cicatrização, via vasoconstricção simpaticomimética. Da mesma maneira, o fumo eleva os níveis de carboxihemoglobina no sangue, resultando igualmente em menor tensão de oxigênio nos tecidos. Estudo experimental demonstrou que, mesmo pequenas diminuições de tensão de oxigênio nos tecidos resultam em graves alterações na cicatrização das feridas, com substancial aumento nas taxas de infecção¹⁶. Rees et al⁴ documentaram bem um número razoável de complicações da ferida operatória, de retalhos cutâneos e demais localizações, todas decorrentes do uso do tabaco, tanto no homem como em animais de laboratório.

A determinação da resistência da camada musculoponeurótica foi testada com a mesma metodologia do presente trabalho, com resultados semelhantes¹⁷. Entretanto, o dinamômetro e outros equipamentos têm sido utilizados para a aferição da resistência dos tecidos biológicos¹⁸.

CONCLUSÃO

Com base nos resultados encontrados podemos concluir que a nicotina por via subcutânea, em ratos, exerce efeito deletério sobre a cicatrização de lesões da parede abdominal quanto à pO_2 dos tecidos em cicatrização, resistência à tensão e histopatologia.

REFERÊNCIAS

1. Benowitz NL. Pharmacologic aspects of cigarette smoking and nicotine addiction. *N Engl J Med* 1988; 319: 1318-1330.
2. National Research Council, Committee on Passive Smoking. Environmental tobacco smoke: measuring exposures and assessing health effects. Washington, DC: National Academic Press 1986.
3. Moosa AR, Jones ML, Scott M. Surgical complications. In: Sabiston DC, ed. *Textbook of Surgery*. Philadelphia, PA: WB Saunders Co; 1986: 340.
4. Rees TC, Liverett DM, Guy CI. The effect of cigarette smoking on skin flap survival in the face lift patient. *Plast Reconstr Surg* 1984; 73: 911-915.
5. OReifkohl R, Wolfe JA, Cox EB, McCarty KS. Association between cutaneous occlusive vascular disease, cigarette smoking and skin slough after rhytidectomy. *Plast Reconstr Surg* 1986; 77: 592-595.
6. Mosely L, Finseth F. Cigarette smoking: impairment of digital blood flow in the hand. *Hand* 1977; 98: 97-101.
7. Goodson III WH, Hunt TK. Wound healing in well-controlled diabetic men. *Surg Forum* 1984; 35: 614-616.
8. Aydos RD, Magalhães AM, Menezes Filho JF, Barone B, Goldenberg S. Efeitos da diatermia cirúrgica na cicatrização de anastomoses do intestino grosso. Estudo experimental em coelhos. *Acta Cir Bras* 1994;9:190-194.
9. Lampson RS. Quantitative study of the vasoconstriction induced by smoking. *JAMA* 1935; 104: 1964-1966.
10. Chvapil M, Hurych J, Ehrichova E. The influence of varying oxygen tensions upon proline hydroxylation and the metabolism of collagenous and noncollagenous proteins in the slices. *Z Physiol Chem* 1968; 349: 211-217.
11. Prockop D, Kivirikko KI, Tudrman L, Guszman NA. The biosynthesis of collagen and its disorders. *N Engl J Med* 1979; 301: 13-23.
12. Niinikoski J. Effect of oxygen supply on wound healing tissues. *Acta Psiol Scand*, sup. 334, 1969.
13. Niinikoski J, Hunt TK, Dunphy JE. Oxygen supply in healing tissues. *Am J Surg* 1972; 123: 247.
14. Kivisaari J, Viheesaari T, Renvall S, Niinikoski J. Energy metabolism of experimental wounds at various oxygen environments. *Ann Surg* 1975; 181: 823-827.
15. Campos H, Ferreira LM, Santos WLC, Araújo MCM. Efeitos da nicotina nos retalhos cutâneos em ratos. *Acta Cir Bras* 2001; 16:206-210.
16. LaVan FB, Hunt TK. Oxygen and wound healing. *Clin Plast Surg* 1990;17:463-466.
17. Tognini JRF, Goldenberg S, Naresse LE, Simões MJ, Alves FLG, Magalhães AM. Estudo comparativo entre a sutura contínua e a com pontos separados na parede abdominal de ratos. *Acta Cir Bras* 1997; 12:249-254.
18. Westphalen ACA, Cunha MEP, Camargo PV, Silva RC, Teruschkin M, Edelweiss MIA, Gomes C. Tendão x cicatrização retomada da resistência. *Acta Cir Bras* 1995;10:169-172.

Medeiros AC, Lima FP, Dantas Filho AM, Melo NMC, Azevêdo IM. The nicotine has a deleterious effect on the healing of abdominal wall. *Acta Cir Bras* [online] 2003 vol 18 suppl 1. Available in www.scielo.br/acb.

ABSTRACT Objective: An experimental study was done to evaluate the effect of nicotine on the healing of abdominal wall. **Methods:** Sixteen Wistar rats weighing 210 ± 8 g were randomly separated into two groups of eight rats each. In the group A Nicotine (Nicotinel \bar{O}) was implanted in the back subcutaneous 5mg/Kg each two days, beginning at the fifth preoperative day. A 5cm median laparotomy was done, sutured with nylon 5-0 and the rats were observed in individual cages. The group B (control) didn't use nicotine. A multiperforated silicone tube was implanted subcutaneously near the abdominal sutured lesion. In the tenth postoperative day 1ml of serous liquid was harvested from the silicone tube and a pO_2 dosage was done. The rats were killed with overdose of anesthetic. A 2cm width transversal segment of abdominal wall was submitted to tensile strength test by a tensiometer. A biopsy of the sutured area including muscle, aponeurosis and peritoneum was processed for histopatologic analysis by a digitalised system. The data were processed by the ANOVA and Newman-Keuls tests, considering significant the differences when $p < 0,05$. **Results:** In the group A the pO_2 on the tissue serous liquid reached $17,75 \pm 3,4$ mmHg and in the group B (control) the $pO_2 = 40,75 \pm 6,4$ mmHg ($p < 0,01$). The tensile strength reached $728,5 \pm 161,75$ gf in the group A and $1241,6 \pm 232$ gf in the control one ($p < 0,01$) The mean density of the histopatologic elements was $105 \pm 17,1$ in group A and $146,2 \pm 8,8$ in group B ($p < 0,01$). **Conclusion:** after evaluation of tissue pO_2 , tensiometry and histopatology, the data permitted to conclude that the nicotine has a deleterious effect on the healing the abdominal wall of rats.

KEY WORDS: Nicotine. Healing. Abdominal wall. Tensiometry. Histopatology. Oxigen.

Correspondência:

Aldo da Cunha Medeiros

Av. Miguel Alcides Araújo 1889 – 59078-270 Natal-RN