

# INFLUÊNCIA DA NICOTINA NA PROLIFERAÇÃO DE MIOFIBROBLASTOS E DE VASOS SANGUÍNEOS NO TECIDO CICATRICIAL DA PAREDE ABDOMINAL DE RATOS LACTENTES: ESTUDO IMUNOISTOQUÍMICO

*Nicotine effects in proliferation of myofibroblasts and blood vessels on abdominal wall scar tissue of suckling rats: immunohistochemical study*

Antônio Carlos Ligocki **CAMPOS**, Marcelo Ribas **ALVES**, Sérgio Ossamu **IOSHII**,  
Hugo **MORAES-JUNIOR**, Danielle **SAKAMOTO**, Lucas Wagner **GORTZ**

Trabalho realizado na Pós-Graduação em Clínica Cirúrgica da Universidade Federal do Paraná, Curitiba, PR, Brasil.

**RESUMO – Racional** - O tabagismo na gestação acarreta prejuízos para o crescimento intrauterino da criança. Assim como na gestação, as suas consequências sobre a lactação e a criança amamentada constituem somatório de efeitos prejudiciais ao desenvolvimento do lactente. **Objetivo** - Avaliar a influência da nicotina na proliferação de miofibroblastos e de vasos sanguíneos no tecido cicatricial da parede abdominal de ratos lactentes nascidos e amamentados por ratas que receberam nicotina durante a gestação e lactação. **Método** - Ratas Wistar prenhas foram divididas aleatoriamente em dois grupos; um grupo recebeu nicotina (GN) na dose diária de 2 mg/kg de peso durante a gestação e lactação; o grupo controle (GC) recebeu solução fisiológica a 0,9%, no mesmo período. Foram utilizados 60 ratos lactentes Wistar, divididos igualmente em dois grupos. Após o término do período de lactação (21 dias), todos foram submetidos à laparotomia transversa e ao fechamento da camada músculo-aponeurótica. Cada grupo foi dividido em dois subgrupos, com 15 animais cada, de acordo com o intervalo de tempo utilizado para a avaliação. As aferições foram realizadas no 7.º dia (subgrupos C7 e N7) e no 21.º dia (subgrupos C21 e N21) de pós-operatório. Foram retirados os retalhos da parede abdominal contendo a linha de sutura, os quais foram estudados pelo método imunoistoquímico para identificação de miofibroblastos e de vasos sanguíneos. A estatística foi baseada no modelo ANOVA, ao nível de significância de 5%. **Resultados** - No subgrupo N7 houve redução do número de miofibroblastos ( $9,93 \pm 3,06$  vs.  $21,87 \pm 9,07$ ,  $p=0,007$ ) e do número de vasos sanguíneos ( $8,33 \pm 4,43$  vs.  $13,4 \pm 5,33$ ,  $p=0,031$ ) em comparação ao C7. No subgrupo N21, não houve diferença significativa do número de miofibroblastos ( $7,47 \pm 3,96$  vs.  $12,00 \pm 7,21$ ,  $p=0,121$ ) e do número de vasos sanguíneos ( $9,47 \pm 2,42$  vs.  $12,93 \pm 4,35$ ,  $p=0,090$ ) em comparação ao C21. **Conclusão** - Observou-se o efeito deletério da nicotina no período de gestação e lactação sobre a proliferação de miofibroblastos e de vasos sanguíneos na cicatrização dos filhotes.

**DESCRIPTORIOS** - Cicatrização de feridas. Laparotomia. Nicotina. Imunoistoquímica.

## Correspondência:

Antônio Carlos Ligocki Campos,  
e-mail: accampos@hc.ufpr.br

Fonte de financiamento: não há  
Conflito de interesses: não há

Recebido para publicação: 23/06/2010  
Aceito para publicação: 25/10/2010

**HEADINGS** – Wound healing. Laparotomy. Nicotine. Immunohistochemistry.

**ABSTRACT – Background** - Smoking during pregnancy is detrimental to the intrauterine growth of the child. As in pregnancy, its effects on lactation and breast-fed child is the sum of adverse infant development. **Aim** - To analyze the effects of nicotine on the proliferation of myofibroblasts and of blood vessels, on the abdominal scar of suckling rats born of mothers that received nicotine, during pregnancy and lactation. **Methods** - Pregnant Wistar rats were randomly divided into two groups, the nicotine group (NG), in which nicotine was administered subcutaneous at a dose of 2 mg/kg/day, during pregnancy and lactation, and the control group (CG), that received subcutaneous isovolumetric saline solution at 0,9%, in the same period of time. Sixty baby rats, divided into two groups, were weaned at 21 days and a transverse laparotomy was performed. Each group was divided into two subgroups, each one containing 15 baby rats, in accordance with the date when the surgical scar was analyzed: on the 7th post-operative day, control subgroup C7 and nicotine subgroup N7, or on the 21st post-operative day, control subgroup C21 and nicotine subgroup N21. The surgical scar in the healing area was evaluated by immunohistochemistry study for identification of myofibroblasts and of blood vessels. The statistical analysis was based on the Anova model, at a significance level of 5%. **Results** - The subgroup N7 presented lower number of myofibroblasts ( $9,93 \pm 3,06$  vs.  $21,87 \pm 9,07$ ,  $p=0,007$ ) and lower number of blood vessels ( $8,33 \pm 4,43$  vs.  $13,4 \pm 5,33$ ,  $p=0,031$ ) when compared to C7. The subgroup N21 presented no significant difference on the number of myofibroblasts ( $7,47 \pm 3,96$  vs.  $12,00 \pm 7,21$ ,  $p=0,121$ ) and on the number of blood vessels ( $9,47 \pm 2,42$  vs.  $12,93 \pm 4,35$ ,  $p=0,090$ ) when compared to C21. **Conclusion**: Adverse effect of nicotine, administrated in pregnancy and lactation period, was observed on the proliferation of myofibroblasts and of blood vessels on the abdominal wall wound healing of suckling rats.

## INTRODUÇÃO

## MÉTODO

Na década de 90, o Instituto Nacional do Câncer (INCA) estimou que um terço dos brasileiros adultos fumavam, e aproximadamente 11,2 milhões deles, eram mulheres. Noventa por cento delas tornaram-se dependentes em idade jovem, e a taxa de incidência de fumantes era alta nas idades entre 20 e 49 anos<sup>5</sup>.

Felizmente, graças às políticas públicas de prevenção do tabagismo, de acordo com os resultados da pesquisa da Vigilância de Fatores de Risco e Proteção para Doenças Crônicas por Inquérito Telefônico (Vigitel Brasil 2008), houve redução da porcentagem de tabagistas para 17,2% na população total<sup>4</sup>.

O tabagismo na gestação acarreta prejuízos, devidamente reconhecidos e relatados, para o crescimento intra-uterino da criança. Na década de 90, do total de gestantes, 33,5% delas eram fumantes<sup>15</sup>. Assim como na gestação, as consequências do tabagismo materno sobre a lactação e a criança amamentada constituem somatório de efeitos prejudiciais ao desenvolvimento do lactente<sup>21</sup>.

Dentre os vários componentes do tabaco que interferem na evolução da gravidez destaca-se a ação da nicotina e do monóxido de carbono<sup>18</sup>. A nicotina é o principal componente vasoativo da fumaça do tabaco, inodora e incolor, e quando inalada ou injetada pode liberar catecolaminas e resultar em vasoconstrição e diminuição da perfusão tecidual<sup>13</sup>.

Vários estudos na literatura investigam os efeitos da nicotina sobre o processo de cicatrização<sup>3</sup>. Em 1977, Mosely e Finseth foram os autores que inicialmente relataram os efeitos indesejáveis da nicotina na cicatrização tecidual, observando retardo no processo cicatricial de ferida na mão de um fumante<sup>20</sup>.

Diversos estudos relataram inibição da proliferação de fibroblastos por ação direta da nicotina, assim como a diminuição da produção do colágeno<sup>8,31</sup> e da angiogênese<sup>8</sup>.

A influência do tabagismo materno, durante a gestação e lactação, sobre a cicatrização de feridas em lactentes, foi objeto de estudo prévio que evidenciou piora nos padrões tensiométricos de tensão, de força máxima e de força de ruptura do tecido cicatricial de filhotes expostos à nicotina<sup>1</sup>. No entanto, estudos complementares foram necessários para tentar estabelecer quais estruturas estavam relacionadas à diminuição da tensiometria no tecido cicatricial.

O objetivo do presente estudo é avaliar, experimentalmente, a influência da nicotina, durante a gestação e lactação, no processo de cicatrização da parede abdominal de ratos lactentes nascidos e amamentados por ratas que receberam nicotina, em relação à proliferação de miofibroblastos e de vasos sanguíneos no tecido cicatricial.

Foram utilizados 90 ratos Wistar, adultos, com 90 dias de vida, sendo 45 machos e 45 fêmeas, formando casais aleatoriamente, acasalados na proporção de 1:1. Do total de 45 fêmeas, todas nulíparas, com peso médio de 260 g, 35 delas engravidaram, sendo 19 ratas pertencentes ao grupo nicotina (GN) e 16 ratas pertencentes ao grupo controle (GC). Selecionaram-se, de modo aleatório, quatro ratas do GN com 43 filhotes no total, e outras quatro ratas do GC, totalizando 44 filhotes. Os animais receberam ração balanceada padrão e água ad libitum.

Nos animais do GN foi administrada nicotina, por via subcutânea, na dosagem de 2 mg por kg de peso dia, dividida em duas doses de 1 mg/kg de peso cada (12/12 horas), diluída em 0,3 ml de solução fisiológica a 0,9%, ajustada para pH 7,4. Nos animais do GC foi aplicada solução fisiológica a 0,9%, no volume de 0,3 ml, duas vezes ao dia (12/12 horas), por via subcutânea e sendo ajustada para pH 7,4. Administrou-se tanto a nicotina (GN) quanto a solução fisiológica (GC) a partir do 2.º dia de prenhez, durante todo o período gestacional e até 21 dias da amamentação dos filhotes. Ambas as doses foram ajustadas de acordo com o peso, quando necessário, até imediatamente após o parto e até o final do período de amamentação.

Os recém-nascidos foram amamentados pelas respectivas mães, desmamados no 21.º dia de vida e submetidos à procedimento cirúrgico imediatamente após o desmame. Foram selecionados, aleatoriamente, um total de 60 filhotes.

A técnica cirúrgica constou, em todos os grupos, de incisão transversa supra-umbilical envolvendo todos os planos da parede abdominal, com 30 mm de extensão, iniciando-se à direita e cruzando a linha média.

A diérese dos planos cuticular, aponeurótico, muscular e peritoneal iniciou-se com incisão de 5 mm a bisturi, realizada na borda lateral da laparotomia transversa. Procedeu-se, então, a ampliação da incisão com o uso de tesoura de íris no mesmo sentido da incisão da pele, totalizando abertura de 30 mm em todos os planos da parede abdominal.

Foi realizada sutura contínua não-ancorada, em bloco, interessando a aponeurose e musculatura, utilizando-se fio multifilamentar de poliglactina 4-0. Na pele foi utilizada sutura subcuticular contínua não-ancorada com fio multifilamentar de poliglactina 7-0. A ferida cirúrgica foi mantida sem curativo.

Os grupos C e N foram divididos aleatoriamente em 4 subgrupos, contendo 15 animais cada, segundo a solução aplicada nas mães durante a gestação e amamentação: animais mortos no 7.º dia de pós-operatório, sendo dividido em C7 e N7; e animais mortos no 21.º dia de pós-operatório, sendo dividido em C21 e N21.

Removeu-se a parede abdominal em bloco e a

cicatriz cirúrgica foi dividida em fragmentos contendo a cicatriz com 5 mm de comprimento e 30 mm de largura, imersos em formol tamponado a 10% e encaminhados para histologia.

Para o estudo imunoistoquímico utilizou-se a técnica descrita por Hsu, et al.<sup>16</sup>. Aplicaram-se os anticorpos primários antifator VIII na diluição de 1:200 e anti- $\alpha$ -actina muscular lisa, em lâminas separadas.

A positividade da coloração imunoistoquímica foi identificada nas áreas de pigmentação acastanhada. Controles positivos e negativos foram utilizados. As lâminas foram analisadas sem a identificação dos grupos dos animais.

A identificação dos miofibroblastos foi realizada contando-se as células coradas positivamente pela coloração imunoistoquímica com anticorpo monoclonal anti- $\alpha$ -actina muscular lisa em campo de grande aumento (objetiva de 40X), em três campos distintos aleatoriamente na linha de sutura da parede abdominal, correspondendo a uma área de 17.726  $\mu\text{m}^2$ , expressas em médias aritméticas. As imagens digitalizadas foram capturadas e analisadas por software específico, por meio de uma ferramenta calibrada previamente para objetiva de 40 vezes. Utilizou-se um sistema constituído por microscópio óptico acoplado com câmera de vídeo conectada a computador e monitor colorido de alta resolução.

A identificação dos vasos sanguíneos foi efetuada contando-se o número de estruturas circulares coradas positivamente pelo anticorpo policlonal antifator VIII, que revela as células endoteliais da camada íntima dos vasos. A contagem foi feita na área da sutura da parede abdominal em aumento de 40 vezes, em três campos distintos aleatoriamente, em área de 17.726  $\mu\text{m}^2$ , expressas em médias aritméticas.

O estudo estatístico foi realizado em 8 ratas, 4 ratas do GC e outras 4 ratas do GN, e em 60 filhotes selecionados aleatoriamente do GC e do GN, sendo 30 filhotes pertencentes ao GC, subdivididos em grupos C7 e grupo C21, e os outros 30 filhotes pertencentes ao GN, subdivididos em grupos N7 e N21.

A análise estatística foi efetuada mediante o teste de Fisher-Snedecor. Comparou-se a variação do peso na lactação e cotejaram-se os dados de imunoistoquímica. Considerando-se a estrutura hierárquica dos dados, seleção de mães e depois seleção de filhotes de cada mãe escolhida, com medidas ao longo do tempo (dados longitudinais) a modelagem mais apropriada foi a de Modelos Lineares Hierárquicos Condicionais (Anova), ao nível de significância de 5%.

## RESULTADOS

A média do peso inicial das ratas gestantes do GC foi semelhante à média do peso inicial das ratas do GN (259,50  $\pm$  21,46 g vs. 265,50  $\pm$  8,70 g,  $p=0,6228$ ). Os grupos completaram o período gestacional com média

de peso final similar (376,50  $\pm$  20,87 g vs. 368,00  $\pm$  10,42 g,  $p=0,4937$ ).

Na lactação, as ratas do GN apresentaram média de peso final similar às ratas do GC (310,50  $\pm$  18,57 g vs. 317,50  $\pm$  26,74 g,  $p=0,6822$ ). Na comparação da média do ganho de peso, também houve semelhança entre os grupos (33,50  $\pm$  17,29 g vs. 38,50  $\pm$  15,15 g,  $p=0,6788$ ).

A comparação da média de peso, no período de lactação, dos 30 filhotes do GC e de outros 30 filhotes GN não mostrou diferença significativa em nenhum momento analisado: ao nascimento ( $p=0,4544$ ), aos 7 dias de vida ( $p=0,3447$ ), aos 14 dias ( $p=0,6056$ ), no desmame ( $p=0,4264$ ) e no ganho de peso do período total da lactação (0,4475).

Os resultados obtidos na avaliação imunoistoquímica estão sumarizados na Tabela 1 e Figuras 1 e 2.

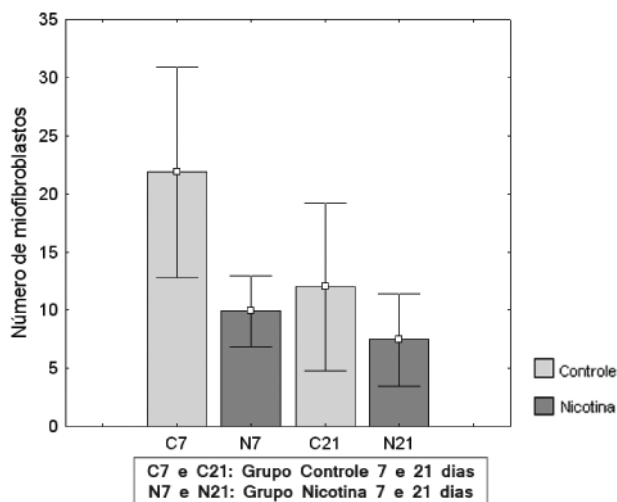


FIGURA 1 - Médias  $\pm$  EP do número de miofibroblastos dos subgrupos C7, N7, C21 e N21

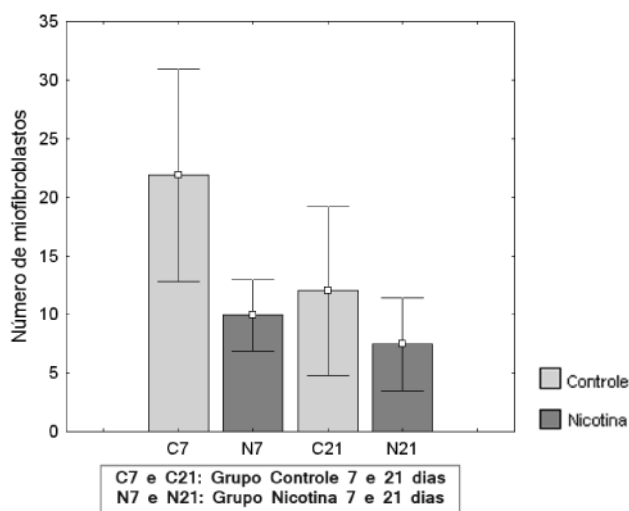


FIGURA 2 - Médias  $\pm$  EP do número de vasos sanguíneos dos subgrupos C7, N7, C21 e N21

**TABELA 1** – Médias do número de miofibroblastos e de vasos sanguíneos dos subgrupos C7, N7, C21 e N21

Variável	Grupo	N	Média	
			Média ± EP	P
Número de miofibroblastos	C7	15	21,87 ± 1,75	0,007
	N7	15	9,93 ± 1,75	
	C21	15	12,00 ± 1,50	0,121
	N21	15	7,47 ± 1,50	
Número de vasos sanguíneos	C7	15	13,4 ± 1,27	0,031
	N7	15	8,33 ± 1,27	
	C21	15	12,93 ± 0,91	0,090
	N21	15	9,47 ± 0,91	

NOTA: EP= Erro padrão C7 e C21= Controle 7 e 21 dias, N7 e N21= Nicotina 7 e 21 dias. O valor p indica a rejeição da hipótese nula no nível de significância de 5%. Utilizou-se o teste de Fisher-Snedecor

Para o grupo de animais sacrificados no 7.º dia de pós-operatório, observou-se que no GN a média do número de miofibroblastos foi menor em relação ao GC (9,93 ± 3,06 vs. 21,87 ± 9,07, p=0,007). Para o grupo de animais sacrificados no 21.º dia de pós-operatório, o número de miofibroblastos no GN foi similar em relação ao GC (7,47 ± 3,96 vs. 12,00 ± 7,21, p=0,121). (Tabela 1 e Figura 1).

Ainda nos animais sacrificados no 7.º dia de pós-operatório, o GN apresentou média do número de vasos sanguíneos menor em comparação ao GC (8,33 ± 4,43 vs. 13,4 ± 5,33, p=0,031). Nos animais sacrificados no 21.º dia de pós-operatório, o GN apresentou média do número de vasos sanguíneos similar em comparação ao GC (9,47 ± 2,42 vs. 12,93 ± 4,35, p=0,090). (Tabela 1 e Figura 2).

Houve diminuição na média do número de miofibroblastos do C7 para C21 (21,87 ± 9,07 vs. 12,00 ± 7,21, p=0,013). No entanto, não houve diferença no número de miofibroblastos do N7 para N21 (9,93 ± 3,06 vs. 7,47 ± 3,96, p=0,345).

Também não houve diferença na média do número de vasos sanguíneos do C7 para C21 (13,4 ± 5,33 vs. 12,93 ± 4,35, p=0,780), assim como do N7 para N21 (8,33 ± 4,43 vs. 9,47 ± 2,42, p=0,507).

## DISCUSSÃO

O uso de nicotina no período gestacional e de lactação associou-se à diminuição na formação do número de vasos sanguíneos no tecido cicatricial da parede abdominal dos filhotes nos animais sacrificados no 7.º dia de pós-operatório (p=0,031). Para os animais sacrificados no 21.º dia de pós-operatório a neoformação vascular foi similar entre os grupos estudados. Também neste intervalo entre o 7.º e o 21.º dias de pós-operatório, não houve diferença na angiogênese para os animais do GN e para os animais do GC.

Angiogênese é a formação de novos vasos sanguíneos por meio de um processo em que são formados brotos capilares em resposta a estímulos

químicos externos. Isso ocorre durante a embriogênese, no crescimento de tumores sólidos e na cicatrização de feridas. O desenvolvimento de neovasos é essencial na cicatrização e está relacionado a fatores locais, mediadores químicos, matriz extracelular, gradientes metabólicos e forças físicas<sup>2,23</sup>.

De acordo com os trabalhos de Zimmerman e McGeachie, realizados por microscopia eletrônica, a nicotina causa alterações da luz de vasos sanguíneos, causando vacuolização citoplasmática, edema mitocondrial e edema subendotelial<sup>33</sup>. Riebel, et al.<sup>26</sup> concluíram que a nicotina causa diminuição, na ordem de 50%, do crescimento vascular em enxertos ósseos. Pinto, et al.<sup>24</sup> observaram que a nicotina diminui a formação de fibroblastos e de neovasos na ossificação de alvéolos dentais, e concluíram que a nicotina inibe a angiogênese. Chibata observou que a nicotina reduz a angiogênese na sutura da parede abdominal no 7.º dia pós-operatório<sup>8</sup> e Skinovsky relatou menor proliferação de vasos sanguíneos em anastomoses intestinais de ratos, sob o efeito da nicotina, no 28.º dia de pós-operatório<sup>30</sup>.

Também observou-se que a nicotina utilizada no período gestacional e de lactação influenciou na proliferação de miofibroblastos no tecido cicatricial dos filhotes sacrificados no 7.º dia de pós-operatório. Houve menor número de miofibroblastos nos animais do GN (p=0,007). Para os animais sacrificados no 21.º dia de pós-operatório, não houve diferença entre os grupos controle e nicotina no número de miofibroblastos. No intervalo entre 7 e 21 dias de pós-operatório, o GN não apresentou diferença no número de miofibroblastos na cicatriz, enquanto o GC apresentou diminuição (p=0,013).

Vários estudos relacionam a nicotina como inibidora da proliferação dos fibroblastos, os quais, quando estimulados, sofrem modificação de seu fenótipo. Esta modificação pode ser ocasionada pela ação da nicotina em outras células e/ou mediadores químicos envolvidos na multiplicação dos fibroblastos, como linfócitos e eventualmente macrófagos<sup>7,31</sup>.

Segundo Tipton e Dabbous<sup>31</sup> e Chamson, Frey e Hivert<sup>6</sup>, os miofibroblastos são células produtoras de colágeno, predominantemente do tipo I, e a sua diminuição poderia estar relacionada à menor síntese desta proteína.

Chamson, et al.<sup>7</sup>, em estudo in vitro, concluíram que, à microscopia eletrônica, a ultraestrutura dos fibroblastos é modificada pelo tabaco, caracterizando toxicidade celular e inibição do crescimento destas células.

A angiogênese está relacionada com a liberação de fatores de crescimento produzidos por diversas células envolvidas no processo de cicatrização. A fibroplasia e a síntese do colágeno iniciam-se nas primeiras 24 horas após o ferimento, enquanto nas seguintes 48 a 72 horas ocorre a migração endotelial. A partir do quarto dia, os macrófagos produzem fatores

de crescimento que estimulam tanto a proliferação fibroblástica como a neovascularização<sup>22</sup>.

A força tênsil está relacionada com a multiplicação e maturação dos fibroblastos. Segundo Harvey<sup>14</sup>, é necessário período de aproximadamente quatro dias para a maturação dos fibroblastos. Os intervalos utilizados para avaliar a angiogênese e a formação dos miofibroblastos foram 7 e 21 dias após o procedimento operatório. Os miofibroblastos são encontrados no tecido de cicatrização entre o quarto e sexto dias após a injúria, com maior proliferação entre o 8.º e 30.º dia do processo de cicatrização<sup>9</sup>.

Em estudo sobre a angiogênese na cicatrização de feridas, Ruiten, et al.<sup>27</sup> utilizaram como antígeno a técnica imunistoquímica de PAL-E, que é altamente específica para endotélio de vaso sanguíneo, porém o fator VIII e o CD 34 apresentam maior sensibilidade e são expressos também em arteríolas. No presente estudo a contagem dos vasos sanguíneos foi feita pela técnica imunistoquímica mediante o antígeno do fator VIII, que se mostrou bastante adequada.

Para o estudo dos miofibroblastos igualmente foi realizado estudo de imunistoquímica, utilizando-se para tal anticorpo anti- $\alpha$ -actina muscular lisa (anti- $\alpha$ -sm), estudado pela primeira vez por Skalli, et al.<sup>29</sup>, que demonstraram positividade para a identificação dessas células.

A utilização de animais de ambos os sexos no estudo, pelo tempo máximo de 42 dias de vida, foi embasada no estudo de Hughes e Tanner, que compararam as variáveis morfométricas desde o nascimento até a vida adulta, e concluíram não haver diferenças relacionadas ao sexo antes dos 50 dias de vida para a variável peso<sup>17</sup>.

A utilização da parede abdominal para o estudo foi escolhida pela importância do fechamento deste segmento nas laparotomias, em especial as transversas por serem o tipo de incisão mais utilizado em recém-nascidos e crianças. É um tipo de incisão anatômica que segue as linhas de força da pele.

Com relação à técnica utilizada no fechamento, contínua ou interrompida, optou-se neste estudo pela sutura contínua<sup>28</sup>. Outro fator de importância é o tipo de fio a ser utilizado. A aplicação de fios de sutura interfere no processo de cicatrização. O ideal é aquele que produz a menor reatividade biológica possível. Há evidências de que os fios monofilamentares inabsorvíveis provocam menor reação tecidual e, como consequência, menor interferência no processo cicatricial<sup>32</sup>. Optou-se pelo fio multifilamentar de poliglatina por ser o tipo de material com o qual habitualmente é feito o fechamento das laparotomias no plano músculo-aponeurótico em humanos.

A via subcutânea de injeções diárias de nicotina demonstrou ser bem tolerada pelos animais e com rápida absorção da droga, com níveis plasmáticos detectados em cinco minutos<sup>11</sup>. Esta forma de aplicação subcutânea de nicotina é descrita por vários autores<sup>8,30</sup>.

A dose utilizada neste estudo (2 mg por kg de peso em duas administrações diárias) foi baseada em amostras plasmáticas de humanos tabagistas crônicos. Segundo Richardson, et al.<sup>25</sup>, é equivalente ao consumo de 60 cigarros ao dia.

Forrest, Pang e Lindsay<sup>12</sup> concluíram que o tabagismo influencia na cicatrização, quando o mesmo não cessa por pelo menos duas semanas antes da operação.

O efeito da exposição materna à nicotina, por via subcutânea durante o período gestacional e de lactação, foi avaliado quanto ao desenvolvimento pulmonar no período neonatal, e concluiu-se que nos filhotes cujas mães foram expostas à nicotina, houve diminuição do número de capilares dos septos alveolares<sup>19</sup>.

Quanto ao tempo de exposição à droga, para se mensurar com total segurança, utilizou-se o tempo de gestação médio dos ratos, a partir da constatação da prenhez e durante todo o período de lactação (21 dias), de tal modo que os filhotes estiveram expostos via placentária e pela lactação com doses similares e contínuas de nicotina.

## CONCLUSÃO

A nicotina utilizada em ratas na dose de 2 mg/kg de peso ao dia, durante a gestação e lactação, influencia o processo cicatricial da parede abdominal de seus respectivos filhotes, quando o procedimento cirúrgico é realizado logo após o desmame, por diminuir, no 7.º dia de pós-operatório, a proliferação do número de miofibroblastos e da angiogênese na fase de cicatrização. Tais alterações estão provavelmente implicadas na redução dos parâmetros tensiométricos das feridas.

## REFERÊNCIAS

- Alves MR, Campos ACL, Ioshii SO, Moraes-Junior H, Sakamoto D, Gortz LW. Influência da nicotina durante a gestação e lactação na cicatrização da parede abdominal de ratos lactentes: estudo tensiométrico. *Arq Bras Cir Dig*. 2009;22(2): 110-4.
- Arnold F, West DC: Angiogenesis in wound healing. *Pharmacol Ther*. 1991;52:407-22.
- Biondo-Simões MLP, Tetilla MR, Biondo-Simões R, Martin MM, Repka JCD, Zanato D. A influência da nicotina na densidade de colágeno em cicatrizes cutâneas, em ratos. *Rev Col Bras Cir*. 2009; 36(5): 425-43.
- Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Secretaria de Gestão Estratégica e Participativa. *Vigitel Brasil 2008: vigilância de fatores de risco e proteção para doenças crônicas por inquérito telefônico*. 2009:23-33.
- Cabar FR, Carvalho FRC, Carvalho JP. Efeitos do tabagismo na saúde da mulher. *Femina*. 2003;31(4):373-75.
- Chamson A, Frey J, and Hivert M. Effects of tobacco smoke extracts on collagen biosynthesis by fibroblast cell cultures. *J Toxicol Environ Health*. 1982;9:921-32.
- Chamson A, Garrone R, Avger C, Frey J. Effects of tobacco smoke extraction on the ultrastructure of fibroblasts in culture. *J Submicrosc Cytol*. 1980;12(3):401-6.
- Chibata M. Nicotina subcutânea e cicatrização da parede abdominal em ratos; estudo histológico e tensiométrico [Dissertação]. Curitiba: Universidade Federal do Paraná; 2003.

9. Cornelissen AM, Stoop R, Von den Hoff HW, Maltha JC, Kuijpers-Jagtman AM. Myofibroblasts and matrix components in healing palatal wounds in the rat. *J Oral Pathol Med*. 2000;29(1):1-7.
10. Daftari TK, Whitesides TE Jr, Heller JG, Goodrich AC, McCarey BE, Hutton WC. Nicotine on the revascularization of bone graft. An experimental study in rabbits. *Spine*. 1994 Apr 15;19(8):904-11.
11. Forrest CR, Pang CY, Lindsay WK. Detrimental effect of nicotine on skin flap viability and blood flow in random skin flap on rats and pigs. *Surg Forum*. 1985;36:611-3.
12. Forrest CR, Pang CY, Lindsay WK. Pathogenesis of ischemic necrosis in random-pattern skin flaps induced by long-term low-dose nicotine treatment in the rat. *Plast Reconstr Surg*. 1991;87(3):518-28.
13. Frick WG, Seals RR Jr. Smoking and wound healing: a review. *Tex Dent J*. 1994;111(6):21-3.
14. Harvey SC. The velocity of the growth of fibroblasts in the healing wound. *Arch Surg*. 1929;18(4):1227-40.
15. Horta BL, Victoria CG, Barros FC, Santos IS, Menezes AMB. Tabagismo em gestantes de área urbana da região sul do Brasil, 1982 e 1993. *Rev Saude Publica*. 1997;31:247-53.
16. Hsu SM, Raine L, Fanger H. Use of avidin-biotin-peroxidase complex (ABC) in immunoperoxidase techniques: a comparison between ABC and unlabeled antibody (PAP) procedures. *J Histochem Cytochem*. 1981 Apr;29(4):577-80.
17. Hughes PCR, Tanner JM. A longitudinal study of the growth of the black-hooded rat: methods of measurement and rates of growth for skull, limbs, pelvis, nose-rump and tail. *J Anat*. 1970; 106(2): 349-70.
18. Lehtovirta P, Forsj M. The acute effect of smoking on intervillous blood flow of the placenta. *Br J Obstet Gynaecol*. 1978;85:729-31.
19. Maritz GS, Dennis H. Maternal nicotine exposure during gestation and lactation interferes with alveolar development in the neonatal lung. *Reprod Fertil Dev*. 1998;10(3):255-61.
20. Mosely LH, Finseth F. Cigarette smoking: impairment of digital blood flow and wound healing in the hand. *The Hand*. 1977;9(2):97-101.
21. Oliveira Netto IC. Avaliação do tabagismo passivo pela determinação de cotinina na urina de lactentes em aleitamento materno [Tese]. Porto Alegre: Universidade Federal do Rio Grande do Sul; 1991.
22. Orgill D, Demling RH. Current concepts and approaches to wound healing. *Crit Care Med*. 1988;16(9):899-907.
23. Pettet GJ, Byrne HM, McElwain DL, Norbury J. A model of wound-healing angiogenesis in soft tissue. *Math Biosci*. 1996;136(1):35-63.
24. Pinto JR, Bosco AF, Okamoto T, Guerra JB, Piza IG. Effects of nicotine on the healing of extraction sockets in rats. A histological study. *Braz Dent J*. 2002;13(1):3-9.
25. Richardson DR, Morton R, Howard J. Effects of chronic nicotine administration on RBC velocity in mesenteric capillaries of the rat. *Blood Vessels*. 1977;14(5):318-24.
26. Riebel GD, Boden SD, Whitesides TE, Hutton WC. The effect of nicotine on incorporation of cancellous bone graft in an animal model. *Spine*. 1995;20(20):2198-202.
27. Ruitter DJ, Schlingemann RO, Westphal JR, Denijn M, Rietveld FJ, De Waal RM. Angiogenesis in wound healing and tumor metastasis. *Behring Inst Mitt*. 1993;(92):258-72.
28. Seid MH, Owens MM, Poole GV, Meeks GM. A randomized trial of abdominal incision suture technique and wound strength in rats. *Arch Surg*. 1995;130(4):394-7.
29. Skalli O, Ropraz P, Trzeciak A, Benzouana G, Gillesse D, Gabbiani G. A monoclonal antibody against alpha-smooth muscle actin: a new probe for smooth muscle differentiation. *J Cell Biol*. 1986;103(6 Pt 2):2787-96.
30. Skinovsky JA. A influência da nicotina na cicatrização de anastomoses do intestino delgado em ratos [Dissertação]. Curitiba: Universidade Federal do Paraná; 2000.
31. Tipton DA, Dabbous MK. Effects of nicotine on proliferation and extracellular matrix production of human gingival fibroblast in vitro. *J Periodontol*. 1995;66(12):1056-64.
32. Van Winkle W, Hastings JC. Considerations in the choice of suture material for various tissues. *Surg Gynecol Obstet*. 1972;135(1):113-26.
33. Zimmerman M, McGeachie J. The effect of nicotine on aortic endothelium. A quantitative ultrastructural study. *Atherosclerosis*. 1987;63(1):33-41.