

EFEITOS DA NICOTINA NA CICATRIZAÇÃO INTESTINAL EM RATOS

EFFECTS OF NICOTINE IN THE INTESTINAL HEALING IN RATS

Aldo da Cunha Medeiros, TCBC-RN¹

Maria Goretti Freire de Carvalho²

Marinaldo Horácio de Oliveira Medeiros³

Raquel Araújo Costa Uchôa³

RESUMO: É grande o número de pessoas que inalam nicotina diariamente através do hábito de fumar e eventualmente têm que ser submetidos a intervenção cirúrgica no aparelho digestivo. Sendo a nicotina um agente que tem sido implicado no retardo da cicatrização das feridas, foi realizado estudo experimental em ratos com o objetivo de testar o seu efeito na evolução histológica da cicatrização de anastomoses intestinais. Foram utilizados 17 ratos Wistar com média de peso 275 ± 14 g, divididos aleatoriamente em grupo I (n=9) e grupo II (n=8), anestesiados com éter sulfúrico e operados com técnica asséptica. A nicotina foi administrada por via subcutânea na dose de 5mg/kg em dias alternados, durante 17 dias nos ratos do grupo I e foi usado placebo no grupo II. Após sete dias de uso da nicotina e do placebo, foi feita secção transversal do jejuno a 5 cm do duodeno e anastomose com polipropileno 6-0. No décimo dia os ratos foram mortos com superdose de éter sulfúrico e foi feita biópsia da anastomose. Após processamento dos cortes histológicos e coloração pela hematoxilina-eosina, os dados foram quantificados por escores. A análise histológica revelou que o grupo I atingiu o escore 135 (média $15 \pm 4,41$) e o grupo II, 218 (média $27,25 \pm 4,89$). De acordo com o teste t, a diferença mostrou-se significativa ($p < 0,05$). Os dados permitem concluir que a nicotina, quando administrada por via subcutânea em ratos, contribui para prejudicar a cicatrização de anastomoses intestinais.

Unitermos: Nicotina; Cicatrização; Anastomose intestinal.

INTRODUÇÃO

Os efeitos indesejáveis do tabaco para a cicatrização das feridas foram inicialmente relatados por Mosely e Finseth,¹ que observaram retardo na cicatrização de uma ferida da mão de um fumante. Vários estudos clínicos e experimentais têm sido realizados para tentar explicar esses efeitos, todos eles demonstrando redução das defesas imunológicas e deficiências em vários parâmetros considerados na cicatrização das feridas dos fumantes.²⁻⁶

O cigarro contém mais de 4 mil substâncias tóxicas sob a forma de partículas e gases, mas as toxinas de maior interesse são a nicotina e os dois gases mais comuns na fumaça do cigarro, o monóxido de carbono e o cianeto de hidrogênio.⁷ Quando a fumaça do cigarro é inalada pelos pulmões, muitos

dos seus componentes tóxicos, principalmente a nicotina, provocam lesões na barreira ciliar do sistema respiratório, são absorvidos pelos tecidos, penetram na corrente circulatória e atingem outros órgãos. Após cada cigarro são inalados de 2 a 3 mg de nicotina e 30 ml de monóxido de carbono.¹⁻⁸ Aproximadamente 95% da nicotina contida na fumaça do cigarro são absorvidos desde a boca até os alvéolos. A nicotina de reação alcalina, que existe no tabaco utilizado nos cachimbos e charutos, é absorvida mais intensamente pela mucosa da boca, e a nicotina ácida dos cigarros industrializados é absorvida preferencialmente pelos alvéolos.

O modelo experimental utilizado no presente trabalho teve o objetivo de estudar a ação da nicotina na cicatrização de lesões intestinais, área que tem merecido pouca atenção, de acordo com pesquisa na literatura recente. Justifica-se o

1. Professor Adjunto Chefe do Núcleo de Cirurgia Experimental da UFRN. Doutor em Cirurgia. Pesquisador do CNPq.

2. Doutora em Patologia. Professora do Departamento de Patologia da UFRN.

3. Aluno Bolsista de Iniciação Científica do CNPq.

Recebido em 9/3/99

Aceito para publicação em 26/7/99

Trabalho realizado no Núcleo de Cirurgia Experimental do Departamento de Cirurgia da Universidade Federal do Rio Grande do Norte - UFRN.

Apoiado pelo CNPq.

estudo pelo grande número de fumantes operados, que eventualmente são acometidos de complicações das anastomoses digestivas por deficiências na cicatrização, sem causa aparente. O problema poderia estar na ação da nicotina nos mecanismos da cicatrização. Em decorrência das limitações dos modelos que fazem os animais inalarem a fumaça do cigarro com margem mínima de erro de dosagem e procurando minimizar o desconforto dos mesmos, quando são colocados em ambiente fechado com fluxo de fumaça, optou-se pela administração da nicotina por via subcutânea.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizados 17 ratos da linhagem *Wistar*, com média de peso de 275 ± 14 g, mantidos em gaiolas individuais com água e comida *ad libitum*. Eles foram divididos aleatoriamente em dois grupos I (n=9) e II (n=8), anestesiados com éter sulfúrico por inalação e operados com técnica asséptica.

Em todos os animais foi feita incisão de 2 cm na pele do dorso para se proceder ao implante da nicotina no tecido subcutâneo. No grupo I foi implantado disco contendo nicotina na dose de 5 mg/kg de peso. A cada dois dias os pontos que fechavam a pele da loja subcutânea eram retirados e efetuada a troca do implante de nicotina (Nicotinell TTS®), de modo que esse tratamento teve a duração de 17 dias. Nos animais do grupo II (controle) foram implantados discos com o mesmo diâmetro, sem nicotina, utilizando-se a mesma técnica e tempo de tratamento do grupo experimental.

Após o sétimo dia do início da aplicação dos discos, os animais foram submetidos a laparotomia mediana através de incisão de 4 cm. Identificada alça jejunal sempre a 5 cm da transição duodenojejunal, esta foi seccionada transversalmente e, em seguida, realizada anastomose com fio de polipropileno 6-0 em pontos simples separados, plano único.

Completados dez dias de observação com uso da droga, provocou-se a morte dos animais com superdose de anestésico e foi feita biópsia excisional da alça intestinal anastomosada. As peças de biópsia foram fixadas em formol por 48 horas, e a seguir processadas através de coloração pela hematoxilina-eosina para estudo de microscopia óptica. As lâminas foram examinadas com o objetivo de quantificar os achados de acordo com o método de Meyers modificado.⁹ (Tabela 1) Trata-se de um sistema de graduação com utilização de escores, no qual alguns achados histológicos foram estimados tomando por base o número de elementos observados por campo de grande aumento, sendo quantificados de 0 a +4. A cada elemento histológico foi atribuído um fator negativo ou positivo, de acordo com sua importância na cicatrização das lesões. Os valores de 0 a +4 de cada elemento e de cada secção histológica foram multiplicados por fatores positivos ou negativos e a soma desses valores foi considerada o escore de cicatrização das feridas.

Os procedimentos foram realizados de acordo com as normas estabelecidas pela Declaração de Helsinki.

Tabela 1
Modelo da tabela utilizada para calcular os escores das feridas em cicatrização

	0 nenhum	+1 leve	+2 moderado	+3 marcante	+4 maciço	Fator	Total
Necrose							-10
Inflamação aguda							-4
Inflamação crônica							+2
Regeneração mucosa							+5
Fibrose							+5
Tecido de granulação							+5
Colágeno							+10
Escore da lâmina histológica:							

Os dados obtidos foram analisados através do teste t de Student, considerando-se aceitável a margem de erro de 5%.

RESULTADOS

Todos os animais sobreviveram ao experimento e não ocorreu infecção da área dos implantes da nicotina em nenhum deles. Os parâmetros estudados relativos às alterações da parede intestinal foram: necrose, inflamação aguda, inflamação crônica, fibrose, presença de tecido de granulação, presença e intensidade do colágeno e regeneração da mucosa.

Os resultados dos escores histológicos dos grupos I e II encontram-se resumidos na tabela 2.

O resultado mostrou que no grupo I os dados histopatológicos atingiram o escore 135, que correspondeu à média de $15 \pm 4,41$ e o grupo II (controle) chegou ao escore 218, cuja média foi de $27,2 \pm 4,89$. Com esse resultado observou-se que a nicotina, aplicada no subcutâneo do dorso dos animais provocou alterações significativas na cicatrização de anastomoses

Tabela 2
Escore obtido após a observação das lâminas da cicatrização dos segmentos de intestino dos animais dos grupos I (experimental) e II (controle)

Rato número	Grupo I (Escore)	Grupo II (Escore)
01	19	22
02	12	29
03	18	22
04	19	35
05	9	31
06	20	27
07	11	22
08	10	30
09	17	—
Total	135 pontos	218 pontos
Média	$15 \pm 4,41$	$27,25 \pm 4,89$
Desvio padrão	4,41	4,89

Quando foram comparados os resultados dos grupos I e II as diferenças mostraram-se significativas ($p < 0,05$)

intestinais. A reação inflamatória mostrou-se mais intensa e a quantidade de colágeno nas lâminas examinadas foi particularmente menor no grupo que fez uso da nicotina. Na figura 1 pode-se observar a reação inflamatória pronunciada e fibras de colágeno com intensidade moderada entre fibroblastos, em lâmina de um dos animais do grupo I. A figura 2 mostra lâmina densamente povoada de colágeno, de rato do grupo de controle.

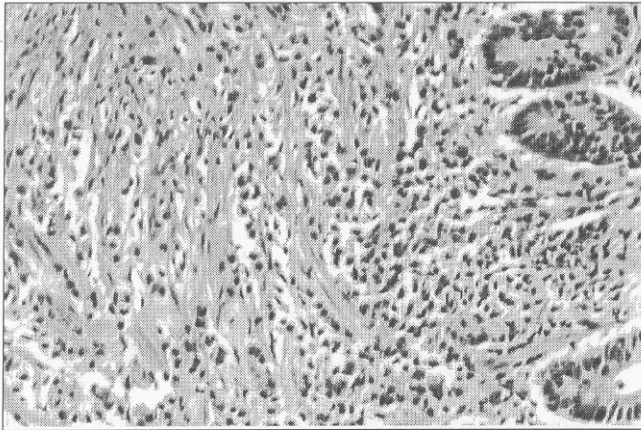


Figura 1 – Corte histológico do jejuno do rato nº 2 do grupo I. Observa-se reação inflamatória marcante (+3) e fibras de colágeno em quantidades moderadas (+2) entre poucos fibroblastos. Coloração HE, 40X

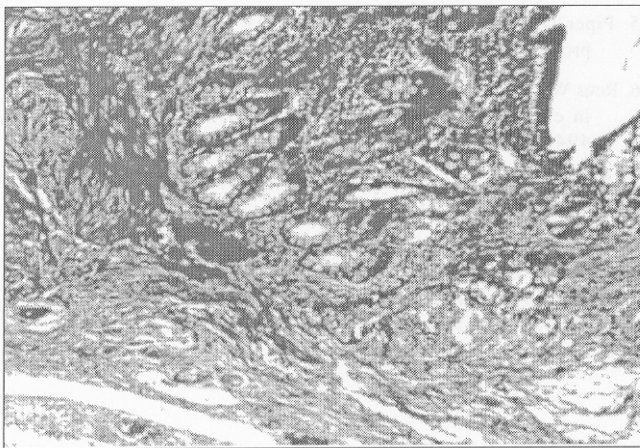


Figura 2 – Corte histológico do intestino do rato nº 4 do grupo II. Observa-se grande quantidade de fibras colágenas (+3) entre as estruturas da mucosa e submucosa. Coloração HE, 40 X

DISCUSSÃO

O uso do tabaco é um fator de risco para o aparecimento de muitas doenças das áreas cerebrovascular, cardiovascular, gastrointestinal e pulmonar, e a nicotina exerce um papel importante na sua gênese. Ela é responsável por vários efeitos específicos que podem influenciar a cicatrização das feridas. Em primeiro lugar, provoca uma diminuição dos fibroblastos

e dos macrófagos.⁸ Em segundo lugar, a nicotina aumenta a adesividade plaquetária,¹ que causa a formação de microcoágulos e diminui a microperfusão tecidual. A microperfusão diminuída leva à oclusão da microcirculação por trombos e, eventualmente, à isquemia tecidual. A terceira ação prejudicial da nicotina nos tecidos em cicatrização refere-se ao fato de que, enquanto o tecido está com o fluxo sanguíneo e oxigenação diminuídos, a nicotina produz vasoconstrição. Esta resulta da liberação de catecolaminas, que também fazem aumentar a frequência cardíaca, a pressão arterial e a demanda por oxigênio.¹⁰

Estudo de Mosely¹¹ demonstrou que as catecolaminas liberadas pela ação da nicotina estimulam a liberação de substância que retarda a reepitelização das feridas. Durante a avaliação dos cortes histológicos do presente estudo observou-se uma quantidade de fibroblastos e de macrófagos significativamente menor no grupo I (nicotina) e essas células têm uma participação da maior importância no processo da cicatrização. Os fibroblastos são os responsáveis pela síntese do colágeno, que, após o processo de maturação, dará resistência às feridas em cicatrização, e os macrófagos exercem as seguintes funções igualmente importantes: são células de grande poder de fagocitose, estimulam a neovascularização do tecido lesado, estimulam a formação de fibroblastos e a síntese do colágeno.¹²

Desse modo, a diminuição observada no número dessas células pode contribuir para explicar a redução nos escores histológicos no grupo I. Os linfócitos e neutrófilos foram observados em maior número no grupo I do que no controle. Estudos *in vitro* têm demonstrado que a nicotina provoca crescimento anormal dos fibroblastos, pode ser estocada no interior dessas células e em seguida liberada.¹³ Após sua absorção, a nicotina é metabolizada e resulta em dois principais metabólitos, a cotidina e óxido de nicotina. Há evidências de que a cotidina, o metabólito mais ativo, está presente na saliva, na urina e no plasma dos fumantes, chegando a 424 ng/ml, comparado com nível zero nos não fumantes.¹⁴

A literatura contém numerosos relatos a respeito dos efeitos da nicotina e da fumaça do tabaco na cicatrização das feridas, especialmente nas áreas referentes a úlcera péptica,⁴⁻¹⁵ de microcirurgia,¹⁶ traumatologia^{5,6} e cirurgia plástica.¹⁷⁻¹⁸ Entretanto, pouco se tem estudado a respeito desses efeitos na cicatrização de órgãos digestivos operados, objetivo do presente trabalho, que faz parte de uma linha de pesquisa com estudos a respeito da ação da nicotina na resistência das anastomoses, microcirculação, histoquímica e imunohistoquímica. Justifica-se pela grande frequência com que essas anastomoses são praticadas em fumantes e pelo potencial de fístulas e deiscências que podem eventualmente ocorrer nesses casos.

Os dados coletados no presente trabalho permitem concluir que a administração de nicotina por via subcutânea, em ratos, contribuiu para retardar a cicatrização de anastomoses intestinais.

ABSTRACT

It is great the number of patients that inhale nicotine daily through the habit of smoking and eventually they have to be submitted to operations in the digestive tract. Being the nicotine an agent that has been implied in the retard of wound healing, an experimental study was accomplished in rats in order to test its effect in the histological evolution of the healing of intestinal anastomosis. Seventeen Wistar rats weighting 275 ± 14 g were used. They were randomly divided in group I (n=9) and group II (n=8), anesthetized with sulfuric ether and operated with aseptic technique. The nicotine was administered subcutaneously in the dose of 5mg/kg in alternate days, during 17 days in the group I rats, and placebo was used in the group II. After seven days of nicotine and placebo use, the jejunum was sectioned and an anastomosis was done with polipropilene 6-0. In the 10th day the rats were killed with overdose of sulfuric ether and a biopsy of the anastomosis was made. The seccions were processed and colored with hematoxiline-eosine and the histological data were quantified through scores. The histological analysis revealed that the group I reached the score 135 (average $15 \pm 4,41$) and the group II 218 (average $27,25 \pm 4,89$). In agreement with the t test, the difference was significant ($p < 0,05$). The data allow to conclude that the nicotine, when administered subcutaneously in rats, contributes to retard the healing of intestinal anastomoses.

Key Words: Nicotine; Wound healing; Intestinal anastomosis.

REFERÊNCIAS

- Mosely LH, Finseth F – Cigarette smoking impairment of digital blood flow and wound healing in the hand. *Hand* 1977;9:97-101.
- Siana JE, Rex S, Gottrup F – The effect of cigarette smoking on wound healing. *Scand J Plast Reconstr Surg* 1989;23:207-209.
- Ma L, Chow JYC, Yuen ST, et al – Reduction of EGF is associated with the delay of gastric ulcer healing by cigarette smoke in rats. *Gastroenterology* 1998;114:209-210.
- Chow JYC, Ma L, Zhu M, et al – The potentiating actions of cigarette smoking on ethanol-induced gastric mucosal damage in rats. *Gastroenterology* 1997; 113:1.188-1.197.
- Cook SD, Ryaby JP, McCabe J, et al – Acceleration of tibia and distal radius fracture healing in patients who smoke. *Clin Orthop Related Res* 1997;337:198-207.
- Ueng SWN, Lee MY, Li AFY, et al – Effect of intermittent cigarette smoke inhalation on tibial lengthening: Experimental study on rabbits. *J Trauma* 1997;42:231-238.
- Jonsson K, Jensen JA, Goodson WH, et al – Tissue oxigenation, anemia, and perfusion in relation to wound healing in surgical patients. *Ann Surg* 214:605-613.
- Sherwin MA, Gastwirth CM. Detrimental effects of cigarette smoking on lower extremity wound healing. *J Foot Surg* 1990;29:84-87.
- Medeiros AC, Ramos AMO, Dantas Filho AM, et al – Cicatrização e ocorrências de complicações em suturas do cólon sob efeito do ácido hialurônico. Estudo experimental. *Rev Col Bras Cir* 1997; 24:387-390.
- Nolan J, Jenkins RA, Kurihara K, et al – The acute effects of cigarette smoke exposure on experimental skin flaps. *Plast Reconstr Surg* 1985;75:544-549.
- Mosely LH, Finseth F, Goody M – Nicotine and its effects on wound healing. *Plast Reconstr Surg* 1978;61:570-575.
- Witte MB, Barbul A – General principles of wound healing. *Surg Clin N Am* 1997;77:509-527.
- Raulin LA, McPherson JC, McQuade MJ, et al – The effect of nicotine on the attachment of human fibroblasts to glass and human root surfaces in vitro. *J Periodontol* 1989;59:318-322.
- Mcguire JR, Mcquade M, Rossman J, et al – Cotidine in saliva and gengival fluid of smokers with periodontal disease. *J Periodontol* 1989;60:176-181.
- Piper DW, McIntosh HM, Hudson HM – Factors relevant to the prognosis of chronic duodenal ulcer. *Digestion* 1985;31:9-16.
- Reus WF, Colen LB, Straker DJ – Tobacco smoking and complications in elective microsurgery. *Plast Reconstr Surg* 1992; 89:490-494.
- Rees TD – The acute effects of cigarette smoke exposure on experimental skin flaps: a discussion. *Plast Reconstr Surg* 1985; 75:550-551.
- Rees TD, Liverett DM, Guy CL – The effect of cigarette smoking on skin-flap survival in the face lift patient. *Plast Reconstr Surg* 1984;73:911-915.

ENDEREÇO PARA CORRESPONDÊNCIA

Dr. Aldo da Cunha Medeiros
Av. Miguel Alcides Araújo, 1889
59078-270 – Natal – RN