

Desnutrição materna durante a lactação em ratos Wistar: efeitos sobre as fibras elásticas da matriz extracelular na traqueia dos filhotes*

Maternal malnutrition during lactation in Wistar rats: effects on elastic fibers of the extracellular matrix in the trachea of offspring

Filipe Moreira de Andrade, Luiz Felipe Judice, Gilberto Perez Cardoso, Rafael Cisne, Cristiane da Fonte Ramos, Marcio Antonio Babinski

Resumo

Objetivo: Investigar os efeitos da desnutrição proteica materna durante a lactação sobre as fibras elásticas da traqueia de filhotes de ratos Wistar. **Métodos:** Ao nascimento, 12 filhotes machos de duas ratas Wistar foram igualmente divididos em dois grupos: grupo controle, cuja mãe recebeu água e dieta padrão de laboratório ad libitum durante a lactação, e grupo restrição proteica (RP), cuja mãe recebeu água ad libitum e dieta isoenergética com RP (8% de proteína). Aos 21 dias de vida, os filhotes foram sacrificados, e suas traqueias foram ressecadas. As fibras elásticas foram coradas pelo método de resorcina-fucsina de Weigert (precedido de oxidação) e avaliadas sob microscopia óptica. As determinações morfométricas foram feitas por estereologia, utilizando o método de contagem de pontos, e expressas em densidade volumétrica. **Resultados:** As fibras elásticas foram identificadas abaixo da mucosa traqueal, sendo a maioria em distribuição longitudinal. Além disso, camadas circulares bem definidas de fibras elásticas envolviam as superfícies interna e externa do anel cartilaginoso.

Não houve diferenças entre os grupos quanto à organização e distribuição das fibras elásticas. A densidade volumétrica das fibras elásticas dos filhotes nos grupos controle e RP foi de, respectivamente, $2,46 \pm 0,99\%$ e $3,25 \pm 1,13\%$ ($p < 0,01$). **Conclusões:** Nossos resultados sugerem que a densidade volumétrica de fibras elásticas é maior em filhotes de ratos alimentados por fêmeas submetidas a dieta com RP do que naqueles de mães recebendo dieta normal.

Descritores: Traqueia/crescimento e desenvolvimento; Traqueia/anatomia e histologia; Matriz extracelular; Remodelação das vias aéreas; Desnutrição.

Abstract

Objective: To investigate the effects of maternal protein malnutrition during lactation on the elastic fibers in the tracheas of Wistar rat pups. **Methods:** At delivery, 12 male pups of two Wistar rat dams were equally divided into two groups: control, in which the dam received water and standard rat chow ad libitum during lactation; and protein-restricted (PR), in which the dam received water ad libitum and an isoenergetic PR diet (8% protein). At 21 days of age, the pups were killed and their tracheas were excised. The elastic fibers were stained with Weigert's resorcin-fuchsin (after oxidation) and evaluated under light microscopy. Morphometric determinations were performed by stereology, with the point-counting method, and expressed as volumetric densities. **Results:** Elastic fibers, most having a longitudinal distribution, were identified beneath the tracheal mucosa. In addition, well-defined circular layers of elastic fibers were found around the inner and outer surfaces of the cartilaginous ring.

There were no differences between the groups regarding the organization and distribution of the elastic fibers. The volumetric density of the elastic fibers of the pups in the control and PR groups was $2.46 \pm 0.99\%$ and $3.25 \pm 1.13\%$, respectively ($p < 0.01$). **Conclusions:** The volumetric density of elastic fibers appears to be greater in rat pups breastfed by dams receiving a PR diet than in those breastfed by dams receiving a normal diet.

Keywords: Trachea/growth and development; Trachea/anatomy and histology; Extracellular matrix; Airway remodeling; Malnutrition.

* Trabalho realizado no Departamento de Cirurgia, Divisão de Cirurgia Torácica, Hospital Universitário Antonio Pedro, Universidade Federal Fluminense, Niterói (RJ) Brasil.

Endereço para correspondência: Filipe Moreira de Andrade. Rua Visconde do Rio Branco, 755/812, Centro, CEP 24020-006, Niterói, RJ, Brasil.

Tel. 55 21 9500-1503. Fax: 55 21 3628-5795. E-mail: filipeandrade_torax@hotmail.com

Apoio financeiro: Nenhum.

Recebido para publicação em 7/3/2012. Aprovado, após revisão, em 3/7/2012.

Introdução

A desnutrição é a forma mais prevalente de distúrbio nutricional em crianças em países em desenvolvimento. Relatou-se que, em pacientes hospitalizados, a prevalência de desnutrição chega a 75%.^(1,2) Além disso, a hospitalização piora ainda mais o estado nutricional. A desnutrição está associada a um aumento do risco de morbidade/mortalidade hospitalar, do tempo de hospitalização, dos custos e do uso de recursos destinados à saúde.⁽³⁾ Portanto, é relevante e oportuno estudá-la.

Alguns investigadores demonstraram que o estado nutricional da mãe durante a gestação e a lactação é essencial ao crescimento e desenvolvimento normal em seres humanos e animais de laboratório.^(4,5) Estudos prévios demonstraram que a desnutrição materna durante a lactação pode alterar a composição do leite, os níveis séricos de hormônios em filhotes no desmame e o sistema reprodutivo feminino. É interessante notar que algumas dessas alterações podem permanecer na vida adulta.⁽⁶⁾

Há muito se usa o rato como modelo em estudos do trato respiratório humano e de doenças das grandes vias aéreas. A composição das fibras elásticas da traqueia do rato é semelhante à das fibras elásticas da traqueia humana.⁽⁷⁾ Além disso, o rato é considerado um bom modelo para pesquisa nutricional.⁽⁵⁾

Há poucos estudos sobre a morfologia da traqueia e, em particular, a matriz extracelular e as fibras elásticas do órgão.^(7,8) Embora considerável atenção tenha sido dada às propriedades elásticas do pulmão e da parede torácica, não há estudos sobre a rede de fibras elásticas das grandes vias aéreas.⁽⁹⁾ Consideramos que a escassez de estudos sobre o assunto seja relevante, já que procedimentos envolvendo a traqueia e as vias aéreas estão surgindo e se tornando cada vez mais complexos. A reseção traqueal com anastomose, o uso de uma ampla gama de *stents* nas vias aéreas e, recentemente, as tentativas de transplante traqueal e de substituição da traqueia por aloenxertos⁽¹⁰⁻¹²⁾ tornam essencial que se aumente a compreensão da matriz extracelular. Além disso, vale a pena estudar os efeitos da desnutrição proteica na histologia traqueal, dada a prevalência dessa condição em pacientes hospitalizados, especialmente naqueles em países em desenvolvimento.^(1,3,6)

A compreensão dos efeitos da desnutrição proteica sobre as fibras elásticas na traqueia de

ratos pode aumentar a base de conhecimento científico sobre a composição e a organização da matriz extracelular da traqueia. Estudos sobre transplante traqueal e substituição da traqueia por aloenxertos aórticos demonstraram que o desenvolvimento de epitélio respiratório maduro e cartilagem recém-formada ocorre na matriz extracelular, particularmente em meio às fibras elásticas.^(10,11) Esse achado corrobora o papel crucial da matriz extracelular e das fibras elásticas no processo de cicatrização. O objetivo do presente estudo foi investigar os efeitos da desnutrição proteica materna durante a lactação sobre as fibras elásticas na traqueia de filhotes de rato Wistar. Em nossa análise, caracterizamos e quantificamos as fibras elásticas da traqueia. Nossa análise quantitativa concentrou-se em determinar a densidade volumétrica por meio de métodos estereológicos.⁽¹³⁾

Métodos

O desenho do estudo e os protocolos experimentais foram aprovados pelo Comitê de Tratamento e Uso de Animais da Universidade Federal Fluminense, em Niterói (RJ), e obedeceram às diretrizes da *American Physiological Society*.⁽¹⁴⁾ Os experimentos descritos aqui foram realizados de acordo com as diretrizes do Colégio Brasileiro de Experimentação Animal.⁽¹⁵⁾

Ratos Wistar obtidos junto ao Laboratório de Morfologia Experimental da Universidade Federal Fluminense permaneceram alojados a $25 \pm 1^\circ\text{C}$ em ciclo claro-escuro de 12 h (luzes acesas das 7h00 às 19h00) ao longo de todo o experimento. Duas ratas virgens de três meses de idade foram alojadas em gaiolas individuais com dois ratos machos, em uma proporção de 1:1. Após o acasalamento, cada fêmea foi colocada em uma gaiola individual. As duas fêmeas tiveram gestação normal e receberam água e comida ad libitum até o nascimento da ninhada. Todos os filhotes nasceram com boa saúde.

Após o nascimento da ninhada, uma das ratas, a rata controle, passou a receber água e dieta-padrão de laboratório ad libitum e a outra, a rata com restrição proteica (RP), passou a receber água ad libitum e dieta isoenergética com RP durante o período de lactação. A quantidade de dieta que a rata com RP recebeu a cada dia foi calculada com base no consumo médio da rata controle, a fim de evitar que a rata com RP “compensasse” o consumo reduzido de proteína

com a ingestão de uma quantidade maior da dieta.⁽⁵⁾

A dieta pobre em proteína foi preparada em nosso laboratório, e sua composição é apresentada na Tabela 1. Essa dieta foi utilizada em estudos prévios.⁽⁵⁾ Tanto a mistura vitamínica como a mineral foram formuladas de modo a atender às recomendações AIN-93G do *American Institute of Nutrition* a respeito da dieta de roedores.⁽¹⁶⁾ A fim de avaliar os estado nutricional, o peso corporal dos filhotes e das mães foi monitorado ao longo de todo o experimento. Vinte e quatro horas após o nascimento da ninhada, os filhotes excedentes foram removidos a fim de reduzir o tamanho de cada ninhada (grupo) a seis filhotes, o que maximiza a lactação.^(5,7) Após o nascimento da ninhada, a rata com RP passou a receber a dieta com RP, fato que marcou o dia 0 da lactação (D0). Aos 21 dias de idade (desmame), todos os filhotes foram sacrificados com uma overdose de pentobarbital sódico (0,15 mL/100 g de peso corporal), administrada de manhã, e perfundidos pelo ventrículo esquerdo com PBS, seguido de solução de formalina.

Após a perfusão, as traqueias foram dissecadas das estruturas adjacentes, ressecadas, fixadas em solução de formalina a 4% em 0,1 mol/L de PBS (pH 7,4) durante 24 h a temperatura ambiente,

Tabela 1 – Composição da dieta para a rata controle e para a rata com restrição proteica.

Variável	Controle ^a	Restrição proteica ^{b,c}
Total de proteína, g/kg ^c	230,0	80,0
Amido de milho, g/kg	676,0	826,0
Óleo de soja, g/kg	50,0	50,0
Mistura vitamínica, g/kg ^d	4,0	4,0
Mistura mineral, g/kg ^d	40,0	40,0
Composição de macronutrientes, %		
Proteína	23,0	8,0
Carboidrato	66,0	81,0
Gordura	11,0	11,0
Total de energia, kJ/kg	17.038,7	17.038,7

^aDieta-padrão para ratos (Nuvilab-Nuvital Ltd., Curitiba, Brasil). ^bA dieta com restrição proteica foi preparada em nosso laboratório por meio da substituição de parte do conteúdo proteico da dieta controle por amido de milho. A quantidade de amido foi calculada para fornecer o mesmo conteúdo energético que o fornecido pela dieta controle. ^cAs principais fontes de proteína foram soja, trigo, carne bovina, peixe e aminoácidos. ^dTanto a mistura vitamínica como a mineral foram formuladas para atender às recomendações AIN-93G do *American Institute of Nutrition* a respeito da dieta de roedores.⁽¹⁶⁾

processadas de acordo com métodos histológicos de rotina e incluídas em parafina. A partir das amostras incluídas em parafina, seções de 5 µm de espessura foram inicialmente coradas com H&E a fim de confirmar a adequação da amostra. A resorcina-fucsina de Weigert, precedida de oxidação com peroxissulfato de potássio (Oxone®), foi usada para a demonstração e avaliação das fibras elásticas, que se tornaram violeta, produzindo contraste acentuado.

De cada espécime, foram analisados cinco cortes histológicos, e, de cada corte, foram avaliados cinco campos aleatórios; portanto, analisamos 25 áreas de teste para cada indivíduo. Os campos analisados foram digitalizados com uma câmera de vídeo acoplada a um microscópio de luz, com aumento final de 400x. A quantificação foi realizada por meio de um sistema específico de teste com retículo (M42) sobre os campos digitalizados na tela de um monitor colorido. A densidade volumétrica dos componentes histológicos foi calculada por meio da seguinte fórmula:

$$V_v = Pp/Pt$$

na qual V_v é a densidade volumétrica, p é o componente tecidual a ser levado em consideração, Pp é o número de pontos de teste associados a p e Pt é o número de pontos do sistema de teste.

Os métodos estereológicos empregados neste estudo já foram descritos minuciosamente.^(7,13) Os dados foram expressos em média ± dp, com os respectivos IC95%. O teste de Mann-Whitney foi usado para comparar os resultados entre os grupos. Usamos o programa GraphPad Prism, versão 4 (GraphPad Inc., San Diego, CA, EUA).

Resultados

A Figura 1 mostra o ganho de peso corporal dos filhotes ao longo do estudo. Ao final do estudo (D21), o peso corporal dos filhotes da rata com RP (grupo RP) foi aproximadamente 61% mais baixo que o dos filhotes da rata controle (grupo controle; $p < 0,01$). O peso corporal da rata com RP em D21 foi aproximadamente 37% mais baixo que o da rata controle ($p < 0,01$).

Fibras elásticas foram identificadas abaixo da mucosa traqueal em ambos os grupos, a maioria delas distribuída longitudinalmente. Feixes de fibras oblíquas foram encontrados nessa região, formando uma rede irregular de tecido elástico (Figura 2). Em contato próximo com a superfície interna do anel cartilaginoso, havia uma camada

circular bem definida e organizada, ao redor da cartilagem (Figura 3). Fora dos anéis cartilagosos, as fibras elásticas encontravam-se dispostas em uma camada circular, acompanhando os anéis cartilagosos (Figura 3). Nessa topografia, não havia disposição longitudinal ou oblíqua das fibras elásticas. Não houve diferenças entre os grupos quanto à organização e distribuição das fibras elásticas na traqueia.

No que tange à análise quantitativa estereológica, nosso estudo mostrou que a densidade volumétrica das fibras elásticas nos filhotes do grupo controle foi de $2,46 \pm 0,99\%$

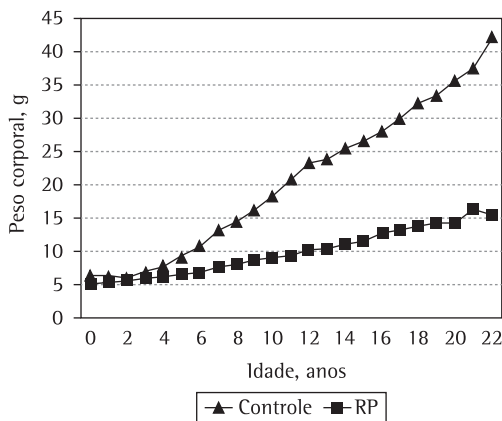


Figura 1 - Ganho de peso corporal dos filhotes de rato do grupo controle e do grupo restrição proteica (RP), sacrificados aos 21 dias de idade ($p < 0,01$).

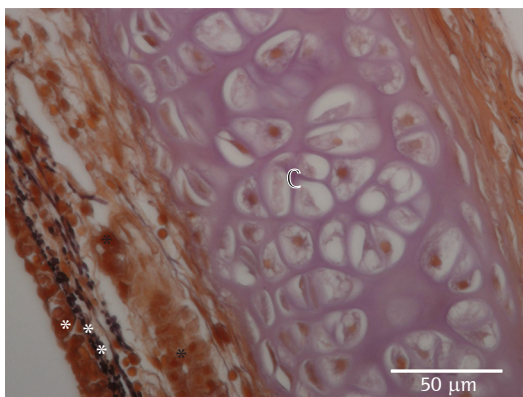


Figura 2 - Fotomicrografia de uma seção traqueal mostrando o epitélio (asterisco branco individual) e a camada basal (asteriscos brancos duplos). Notar a distribuição longitudinal das fibras elásticas abaixo da camada basal (asteriscos pretos), com alguns feixes oblíquos (resorcina-fucsina de Weigert; aumento, 600x). C: cartilagem.

(IC95%: 2,05-2,87; $p < 0,01$) e a das fibras elásticas nos filhotes do grupo RP foi de $3,25 \pm 1,13$ (IC95%: 2,78-3,71; $p < 0,01$). A Figura 4 mostra uma comparação entre os grupos no que tange à densidade volumétrica.

Discussão

Desde o advento dos programas de análise de imagens por computador, a maioria dos estudos nos quais se buscou quantificar estruturas lineares tem usado a densidade de área.⁽⁷⁾ Esses programas utilizam as propriedades de cor dos elementos (pixels) de uma imagem para determinar o limiar de inclusão. Entretanto, em estruturas lineares muito

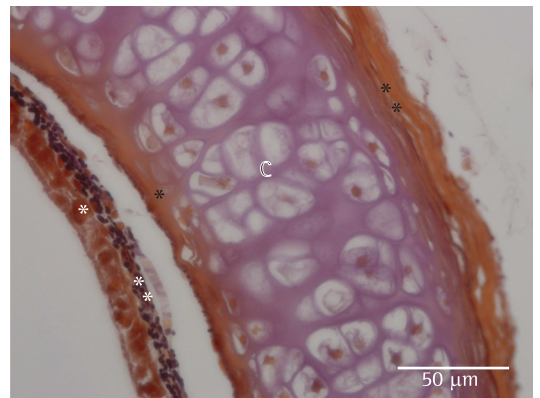


Figura 3 - Fotomicrografia de um segmento traqueal mostrando o epitélio (asterisco branco individual) e a camada basal (asteriscos brancos duplos). Uma camada circular de fibras elásticas está em contato próximo com a superfície interna do anel cartilaginoso (asterisco preto individual). Fora da cartilagem (C), há uma única camada circular (asteriscos pretos duplos) de fibras elásticas (resorcina-fucsina de Weigert; aumento, 600x).

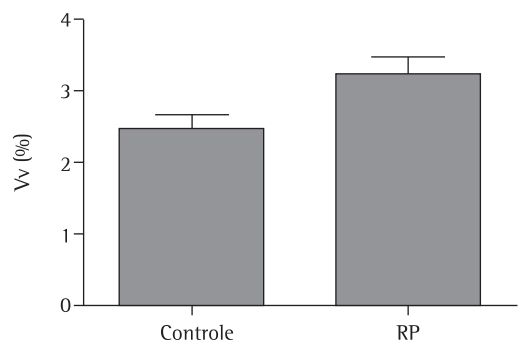


Figura 4 - Densidade volumétrica (Vv), expressa em porcentagem, das fibras elásticas na traqueia dos filhotes de rato do grupo controle e do grupo restrição proteica (RP), aos 21 dias de idade ($p < 0,01$).

finas, tais como as fibras elásticas, o contraste entre os elementos estruturais (fibras, por exemplo) e o pano de fundo é baixo; portanto, a taxa de erro é alta quando se usam tais programas.^(7,13)

O método de contagem de pontos (estereologia) usado em nosso estudo revelou-se bastante eficaz em evitar o viés que frequentemente ocorre quando se realizam análises de imagens por computador. Esse método tem sido amplamente utilizado para determinar a quantidade de fibras elásticas quando se analisa a composição morfológica de determinado tecido.^(7,13) Essa quantificação se expressa em porcentagem da densidade volumétrica do tecido ocupada por fibras elásticas.

As fibras elásticas caracterizam-se por sua grande extensibilidade e retração elástica. A localização e a disposição dessas fibras estão relacionadas a sua funcionalidade, que reflete as propriedades mecânicas do tecido local.^(17,18) Tanto a extensibilidade como a retração elástica da traqueia humana dependem sobremaneira da idade, diminuindo de um máximo de 50% em crianças para aproximadamente 20% aos 70 anos de idade.⁽¹⁸⁾ Embora a redução das propriedades elásticas dos pulmões e da parede torácica devido ao envelhecimento tenha sido amplamente estudada, estudos sobre o tecido elástico das grandes vias aéreas ainda são escassos.^(9,18)

A importância da morfologia traqueal normal é sublinhada por deformidades traqueais, tanto congênitas como adquiridas, tais como traqueobroncomegalia, traqueomalácia e estenose traqueal benigna. A matriz extracelular desempenha um papel fundamental nesses processos de remodelação, com contribuição especial das fibras elásticas.^(10,11)

O objetivo do presente estudo foi avaliar os efeitos de uma dieta com RP durante a lactação sobre as fibras elásticas na traqueia de ratos Wistar. O rato Wistar é sem dúvida o mais usado como modelo do trato respiratório humano e de doenças das grandes vias aéreas. Realizamos uma análise qualitativa da distribuição e organização das fibras elásticas (Figuras 2 e 3). Mais importante, fizemos uma avaliação quantitativa (Figura 4), fornecendo dados estereológicos sobre a concentração de fibras elásticas na traqueia dos ratos. Os achados no grupo RP foram comparados com os achados no grupo controle.

O estado nutricional de uma relevante parcela de pacientes submetidos a procedimentos cirúrgicos está longe de ser ideal, e a desnutrição pode

afetar os desfechos de tais procedimentos.^(2,3) De acordo com estudos prévios, a primeira semana de vida é um período crítico no que tange ao estado nutricional, e o peso de um animal no início da vida pode influenciar seu consumo de alimentos e seu peso corporal pelo resto de sua vida. Portanto, o grau de desnutrição durante o período fetal ou neonatal pode determinar até que ponto haverá recuperação do estado nutricional durante os períodos de crescimento e desenvolvimento.^(6,19)

No que tange à relação entre fibras elásticas e procedimentos cirúrgicos nas vias aéreas, novos achados surgiram a partir de experimentos recentes envolvendo a substituição da traqueia em suínos.⁽¹¹⁾ No estudo em questão, os autores usaram aloenxertos aórticos para substituir um segmento traqueal e constataram que o tecido aórtico normal no aloenxerto foi substituído por uma estrutura morfológica que se assemelhava a uma “nova traqueia”, com epitélio respiratório ciliado maduro, glândulas respiratórias, ilhotas de cartilagem e até mesmo arcos cartilagosos bem formados. É interessante que essa nova traqueia tenha se desenvolvido em meio a ilhotas de fibras elásticas na matriz extracelular do aloenxerto aórtico.⁽¹¹⁾ A matriz extracelular e as fibras elásticas em particular parecem desempenhar um papel importante no processo de regeneração tecidual e crescimento celular interno de células progenitoras recipientes na traqueia.^(10,11) A substituição da traqueia pode ser uma opção no futuro, quando for necessária a cirurgia radical para tumores traqueais primários, com ressecção de mais da metade do comprimento da traqueia. Em um estudo sobre a substituição de uma das grandes vias aéreas por tecido artificial, os autores discutiram o papel ativo da matriz extracelular na regulação de vários aspectos da biologia celular essenciais à função tecidual normal.⁽¹⁰⁾ Portanto, estudos sobre a matriz extracelular da via aérea são necessários a fim de aumentar a compreensão das alterações morfológicas nessa matriz durante o processo de inflamação e cicatrização. Além disso, experimentos na área de bioengenharia têm enfatizado o papel das fibras elásticas no desenvolvimento de novos materiais prostéticos derivados da matriz extracelular, tais como substratos biorreativos.^(10,20)

No que tange às fibras elásticas das vias aéreas, estudos prévios demonstraram grandes alterações relacionadas ao processo de envelhecimento.

Alterações nas fibras elásticas devido à idade foram encontradas abaixo do epitélio da laringe humana.⁽¹⁸⁾ É interessante notar que há um aumento da concentração de elastina em pacientes geriátricos em comparação àquela em jovens adultos, embora se saiba muito bem que a traqueia perde suas propriedades elásticas com a idade.^(18,21) A elastina aumenta de forma contínua e progressiva à medida que os indivíduos envelhecem. Relatou-se que esse fenômeno também ocorre durante o envelhecimento das artérias e da laringe, bem como em relação à extensibilidade do pulmão.^(9,21,22) Alguns estudos sugeriram que a elasticidade diminui nos idosos porque a capacidade da elastina de se ligar ao cálcio aumenta com a idade, embora não seja possível detectar alterações histológicas nas fibras elásticas.^(21,22)

Cada vez mais pacientes estão sendo submetido a procedimentos interventivos nas vias aéreas.^(10,12,23) O estado nutricional de vários desses pacientes é anormal; portanto, uma compreensão maior e mais detalhada dos efeitos da desnutrição sobre a traqueia é necessária. Além disso, especialmente em países em desenvolvimento, o baixo nível socioeconômico pode levar à desnutrição durante diferentes períodos da vida, tais como gestação, amamentação e desmame (ou mesmo mais tarde), e os efeitos da desnutrição sobre os órgãos podem ser irreversíveis.^(2,5,6)

As Figuras 2 e 3 ilustram a avaliação qualitativa das fibras elásticas em ambos os grupos de filhotes, que foram idênticos. No que tange à avaliação quantitativa por meio de estereologia, constatamos que a densidade volumétrica das fibras elásticas foi significativamente maior no grupo RP que no grupo controle (Figura 4). Estudos prévios demonstraram um aumento da concentração de fibras elásticas e elastina durante o processo de envelhecimento. Embora sejam necessárias mais investigações a fim de estabelecer uma correlação direta entre o envelhecimento normal e a desnutrição como influência sobre o processo de remodelação tecidual ao longo da vida, os efeitos da desnutrição sobre ratos Wistar durante os períodos iniciais de vida podem se assemelhar aos efeitos do processo de envelhecimento. Além disso, avanços recentes na área de substituição da traqueia por aloenxertos, substituição de vias aéreas por tecido artificial e o desenvolvimento de novos materiais próstéticos derivados da matriz extracelular exigem maior compreensão

da morfologia das fibras elásticas da traqueia e das alterações que possam ocorrer em pacientes submetidos a procedimentos invasivos nas vias aéreas.^(10,11,20)

Em suma, nosso estudo mostrou que a desnutrição materna durante a lactação pode afetar o desenvolvimento das fibras elásticas na traqueia de filhotes de rato Wistar. Nossa análise morfométrica por meio de estereologia (avaliação quantitativa) demonstrou um aumento significativo da densidade volumétrica das fibras elásticas nos filhotes alimentados pela rata que recebeu dieta com RP em comparação com os do grupo controle. A organização e a distribuição (avaliação qualitativa) das fibras elásticas na traqueia dos filhotes de rato foram semelhantes nos dois grupos.

Referências

1. de Onis M, Monteiro C, Akre J, Glugston G. The worldwide magnitude of protein-energy malnutrition: an overview from the WHO Global Database on Child Growth. *Bull World Health Organ.* 1993;71(6):703-12. PMID:8313488 PMCID:2393544.
2. Correia MI, Campos AC; ELAN Cooperative Study. Prevalence of hospital malnutrition in Latin America: the multicenter ELAN study. *Nutrition.* 2003;19(10):823-5. [http://dx.doi.org/10.1016/S0899-9007\(03\)00168-0](http://dx.doi.org/10.1016/S0899-9007(03)00168-0)
3. Naber TH, Schermer T, de Bree A, Nusteling K, Eggink L, Kruijmel JW, et al. Prevalence of malnutrition in nonsurgical hospitalized patients and its association with disease complications. *Am J Clin Nutr.* 1997;66(5):1232-9. PMID:9356543.
4. Barker DJ. In utero programming of cardiovascular disease. *Theriogenology.* 2000;53(2):555-74. [http://dx.doi.org/10.1016/S0093-691X\(99\)00258-7](http://dx.doi.org/10.1016/S0093-691X(99)00258-7)
5. Passos MC, Ramos CF, Moura EG. Short and long term effects of malnutrition in rats during lactation on the body weight of offspring. *Nutr Res* 2000;20(11):1603-12. [http://dx.doi.org/10.1016/S0271-5317\(00\)00246-3](http://dx.doi.org/10.1016/S0271-5317(00)00246-3)
6. Lucas A. Programming by early nutrition: an experimental approach. *J Nutr.* 1998;128(2 Suppl):401S-406S. PMID:9478036.
7. Andrade FM, Judice LF, Cisne R, Félix B, Mourad OM, Cardoso PG, et al. Structure and concentration of elastic system fibers in the trachea of the rat. *Int J Morphol* 2011;29(1):17-22. <http://dx.doi.org/10.4067/S0717-95022011000100002>
8. Kamel KS, Beckert LE, Stringer MD. Novel insights into the elastic and muscular components of the human trachea. *Clin Anat.* 2009;22(6):689-97. PMID:19637300. <http://dx.doi.org/10.1002/ca.20841>
9. Palecek F, Jezová E. Elastic properties of the rat respiratory system related to age. *Physiol Bohemoslov.* 1988;37(1):39-48. PMID:2967507.
10. Macchiarini P, Jungebluth P, Go T, Asnaghi MA, Rees LE, Cogan TA, et al. Clinical transplantation of a tissue-engineered airway. *Lancet.* 2008;372(9655):2023-30. [http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736\(08\)61598-6](http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736(08)61598-6)

11. Makris D, Holder-Espinasse M, Wurtz A, Seguin A, Hubert T, Jaillard S, et al. Tracheal replacement with cryopreserved allogenic aorta. *Chest*. 2010;137(1):60-7. PMID:19801581. <http://dx.doi.org/10.1378/chest.09-1275>
12. Andrade FM, Abou-Mourad OM, Judice LF, Carvalho-Filho AB, Schau B, Carvalho AC. Endotracheal inflammatory pseudotumor: the role of interventional bronchoscopy. *Ann Thorac Surg*. 2010;90(3):e36-7. PMID:20732473. <http://dx.doi.org/10.1016/j.athoracsur.2010.06.013>
13. Mandarim-de-Lacerda CA. Stereological tools in biomedical research. *An Acad Bras Cienc*. 2003;75(4):469-86. Erratum in: *An Acad Bras Cienc*. 2007;79(1):51. <http://dx.doi.org/10.1590/S0001-37652003000400006>
14. Bayne K. Revised Guide for the Care and Use of Laboratory Animals available. American Physiological Society. *Physiologist*. 1996;39(4):199, 208-11. PMID:8854724.
15. Schnaider TB. Ética e Pesquisa. *Acta Cir Bras*. 2008;23(1):107-11. PMID:18278401. <http://dx.doi.org/10.1590/S0102-86502008000100017>
16. Reeves PG, Nielsen FH, Fahey GC Jr. AIN-93 purified diets for laboratory rodents: final report of the American Institute of Nutrition ad hoc writing committee on the reformulation of the AIN-76A rodent diet. *J Nutr*. 1993;123(11):1939-51. PMID:8229312.
17. Kielty CM, Sherratt MJ, Shuttleworth CA. Elastic fibres. *J Cell Sci*. 2002;115(Pt 14):2817-28. PMID:12082143.
18. Hammond TH, Gray SD, Butler J, Zhou R, Hammond E. Age- and gender-related elastin distribution changes in human vocal folds. *Otolaryngol Head Neck Surg*. 1998;119(4):314-22. [http://dx.doi.org/10.1016/S0194-5998\(98\)70071-3](http://dx.doi.org/10.1016/S0194-5998(98)70071-3)
19. Alippi RM, Meta MD, Olivera MI, Bozzini C, Schneider P, Meta IF, et al. Effect of protein-energy malnutrition in early life on the dimensions and bone quality of the adult rat mandible. *Arch Oral Biol*. 2002;47(1):47-53. [http://dx.doi.org/10.1016/S0003-9969\(01\)00089-9](http://dx.doi.org/10.1016/S0003-9969(01)00089-9)
20. Conconi MT, De Coppi P, Di Liddo R, Vigolo S, Zanon GF, Parnigotto PP, et al. Tracheal matrices, obtained by a detergent-enzymatic method, support in vitro the adhesion of chondrocytes and tracheal epithelial cells. *Transpl Int*. 2005;18(6):727-34. PMID:15910302. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1432-2277.2005.00082.x>
21. Arteaga-Solis E, Gayraud B, Ramirez F. Elastic and collagenous networks in vascular diseases. *Cell Struct Funct*. 2000;25(2):69-72. PMID:10885576 PMID:3053004. <http://dx.doi.org/10.1247/csf.25.69>
22. Kahane JC. Connective tissue changes in the larynx and their effects on voice. *J Voice*. 1987;1(1):27-30. [http://dx.doi.org/10.1016/S0892-1997\(87\)80020-6](http://dx.doi.org/10.1016/S0892-1997(87)80020-6)
23. Ferreira HP, Araújo CA, Cavalcante JF, Lima RP. Complex tracheal lesion: correction with an intercostal muscle pedicle flap. *J Bras Pneumol*. 2009;35(12):1250-3. PMID:20126929.

Sobre os autores

Filipe Moreira de Andrade

Professor Assistente de Cirurgia Torácica. Departamento de Cirurgia, Divisão de Cirurgia Torácica, Universidade Federal Fluminense, Niterói (RJ) Brasil. Professor Visitante de Cirurgia Torácica da *University of Alabama at Birmingham*, Birmingham, AL, EUA.

Luiz Felipe Judice

Professor Titular de Cirurgia Torácica. Departamento de Cirurgia, Divisão de Cirurgia Torácica, Universidade Federal Fluminense, Niterói (RJ) Brasil.

Gilberto Perez Cardoso

Professor Titular de Clínica Médica. Departamento de Clínica Médica, Universidade Federal Fluminense, Niterói (RJ) Brasil.

Rafael Cisne

Professor Substituto de Anatomia Humana. Departamento de Morfologia, Universidade Federal Fluminense, Niterói (RJ) Brasil.

Cristiane da Fonte Ramos

Professora Adjunta de Anatomia Humana. Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro (RJ) Brasil.

Marcio Antonio Babinski

Professor Adjunto de Anatomia Humana. Departamento de Morfologia, Universidade Federal Fluminense, Niterói (RJ) Brasil.