

Efeito de baixas doses de radiação X em feridas suturadas e não suturadas – estudo experimental em ratos

Effect of low doses of X-irradiation in sutured and nonsutured wounds – experimental study in rats

Frab Norberto BÓSCOLO*

Solange Maria de ALMEIDA*

Mário Roberto VIZIOLI*

Roberto Martins LOURENÇO**

Solange Aparecida Caldeira MONTEIRO***

BÓSCOLO, F. N.; ALMEIDA, S. M. de; VIZIOLI, M. R.; LOURENÇO, R. M.; MONTEIRO, S. A. C. Efeito de baixas doses de radiação X em feridas suturadas e não suturadas – estudo experimental em ratos. *Pesqui Odontol Bras*, v. 14, n. 4, p. 386-391 out./dez. 2000.

O presente trabalho avaliou o efeito de baixas doses de radiação X no processo de reparação tecidual em feridas suturadas e não suturadas em ratos. Para tanto, foi produzida nos animais uma ferida medindo 20 x 5 mm, sendo suturada ou não, dividindo-se os animais em 4 grupos: controle sem sutura, irradiado sem sutura, controle com sutura e irradiado com sutura. Os animais irradiados foram, no momento da irradiação, protegidos com um avental de chumbo de 2 mm de espessura com uma abertura, a qual permitia que fosse exposta somente a ferida cirúrgica. Cada animal sofreu 18 segundos de irradiação, totalizando 7,4 rad. O processo de reparação tecidual foi avaliado pela coloração por hematoxilina-eosina, verificando-se a morfologia do tecido de granulação e a impregnação argêntica para observação da síntese de colágeno, através da microscopia de polarização. Os resultados mostraram que a radiação, apesar de ter causado atraso, não impediu a reparação tecidual, sendo que o grupo que sofreu irradiação e não foi suturado mostrou maior retardo, quando comparado aos outros grupos.

UNITERMOS: Sutures; Radiação ionizante; Cicatrização de feridas.

INTRODUÇÃO

Descoberta há cerca de 100 anos, a radiação X continua a trazer grandes benefícios aos seus usuários. Entretanto, sabe-se da ação lesiva da radiação X sobre o tecido vivo, sendo conhecido também que baixas doses de radiação levam a um retardo no processo de reparação tecidual^{1,2,14,18,19}.

O retardo produzido pela radiação na cicatrização de feridas, segundo BRYANT *et al.*⁵ (1968), pode ser decorrente do efeito direto da radiação na atividade fibroblástica. Isso também foi observado por RUDOLPH *et al.*¹⁸ pois em seu estudo, fibroblastos oriundos de pele irradiada mostraram um retardo no crescimento. No entanto, autores como DOTTO *et al.*⁷ e GUIDUGLI NETO⁸, citam que a radiação altera de alguma forma a neoformação capilar, havendo diminuição na quantidade de va-

sos. Outro autor, REINHOLD¹⁵, relata que tecidos submetidos a doses terapêuticas de radiação ionizante mostram danos nos vasos sanguíneos decorrentes de mudanças morfológicas no fluxo sanguíneo e na permeabilidade vascular.

VIZIOLI²¹, em 1971, mostrou que a associação macromolecular entre as moléculas de colágeno e glicosaminoglicanas inicia-se por volta do sétimo dia pós-ferimento, havendo a organização final do tecido em cerca de duas semanas.

Segundo JOVANOVIĆ⁹, os mucopolissacarídeos ácidos são despolimerizados pela radiação ionizante, sendo esse efeito instantâneo.

MOORE¹², em 1984, observou que durante a cicatrização de feridas expostas à radiação na fase inicial do processo de reparação, ocorrem poucas mudanças, diminuindo o número de células infla-

* Disciplina de Radiologia da Faculdade de Odontologia de Piracicaba da UNICAMP.

** Faculdade de Odontologia de Alfenas.

*** Faculdade de Odontologia Herminio Ometto de Araras.

matórias. Com a formação do tecido de granulação, diminui a proliferação de capilares e fibroblastos, afetando a formação de colágeno e retardando a sua maturação.

BERNSTEIN *et al.*⁴, em 1994, apresentaram estudo mostrando que seqüelas da radiação ionizante são decorrentes da pobre reparação da ferida.

O efeito da radiação ionizante no sistema vascular foi avaliado por TOMEI *et al.*²⁰, em 1996, que verificaram as alterações capilares em indivíduos expostos ocupacionalmente, portanto a baixas doses de radiação. Os autores observaram alterações morfológicas e funcionais na microcirculação dérmica.

ALMEIDA², em 1997, estudou o efeito de baixas doses de radiação de elétrons, administrada imediatamente e 3 dias após o ferimento, no processo de reparação tecidual. A autora observou um retardo no processo de reparação, principalmente nos animais irradiados 3 dias após o ferimento.

Também avaliando o efeito de baixas dose de radiação ionizante no sistema microvascular, ROTH *et al.*¹⁷, em 1999, observaram menor velocidade nas células vermelhas, diminuição na superfície capilar e menor fluxo sangüíneo nos animais irradiados.

O uso de fios de sutura para coaptação das bordas é um fator importante em feridas cirúrgicas. Vários trabalhos destacam que a sutura constitui um dos fatores essenciais para uma rápida e perfeita cicatrização de feridas^{3,6,10,12,13}. Entretanto, não existe nenhum relato que descreva o papel da sutura em feridas irradiadas. Sendo assim, o objetivo deste estudo foi avaliar o efeito de baixas doses de radiação X em feridas suturadas e não suturadas.

MATERIAIS E MÉTODOS

Oitenta e quatro ratos (*Rattus norvegicus*, *Albinus*, Wistar), machos com idade média de 80 dias e peso médio de 250 gramas, sofreram um procedimento cirúrgico sendo produzida uma ferida de 20 x 5 mm, com 2 mm de profundidade na região dorsal dos animais, após anestesiados intraperitonealmente com Pentobarbital Sódico (Fontover - Divisão Cristália). Os animais foram divididos de forma aleatória em 4 grupos, contendo cada grupo 21 animais, os quais constituíram 7 subgrupos de 3 animais, sendo avaliados em 7 tempos diferentes, de acordo com o tempo de reparação tecidual:

- grupo controle sem sutura – feridas não suturadas, nem irradiadas;
- grupo irradiado sem sutura – feridas não suturadas e irradiadas;

- grupo controle com sutura – feridas suturadas e não irradiadas;
- grupo irradiado com sutura – feridas suturadas e irradiadas.

Nos animais que foram submetidos à sutura, a união das bordas da ferida foi realizada com fio de sutura de seda trançada multifilamentar 4-0, sendo feitos dois nós simples.

Para a irradiação, foi utilizado um aparelho de raios X modelo G.E. 1000, da General Electric operando com os seguintes fatores: 65 kVp e 10 mA, com tempo total de exposição de 18 segundos, totalizando uma dose de 7,4 rad, com distância foco-ferida de 20 cm. Um colimador de metal delimitou o feixe de raios X a um foco real de 20 mm de diâmetro. Durante a exposição a periferia da ferida e todo o restante do corpo do animal foram protegidos com um avental de chumbo de 2 mm de espessura. No momento da irradiação, os animais encontravam-se anestesiados.

O processo de reparação tecidual, sob as diferentes condições citadas, foi avaliado aos 2, 4, 7, 11, 14, 17 e 21 dias após o procedimento cirúrgico, sendo os animais sacrificados e removidas as peças que foram fixadas no fixador de Lillie por 3 dias e, em seguida, foram feitas lâminas histológicas pelas seguintes técnicas:

- hematoxilina-eosina, para a avaliação morfológica do tecido;
- impregnação pela prata, de acordo com a técnica de Del Rio - Ortega, como indicado por LILLIE¹¹, para observação das fibras colágenas, através do exame sob luz polarizada, permitindo avaliar a birrefringência de forma dos feixes de colágeno, o qual, segundo o estágio de evolução em que se encontra o tecido, brilha numa tonalidade que vai do laranja ao rosa.

Para a leitura das lâminas, foi utilizado um microscópio óptico modelo Zeiss Pol 01.

RESULTADOS

Descrição morfológica: coloração por hematoxilina-eosina

Grupo controle sem sutura

Nos dias iniciais, havia a presença de fibrina e infiltrado de células inflamatórias que se encontrava diminuído já aos 4 dias. Aos 11 dias, havia a presença do epitélio protegendo um tecido rico em fibroblastos e vasos neoformados (Figura 1). Aos 14 dias, era observada a presença de fibras colágenas (Figura 2), com um tecido totalmente maduro aos 21 dias.

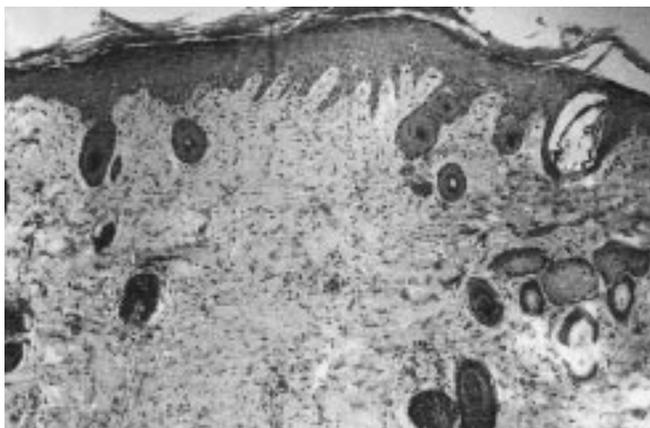


FIGURA 1 - Grupo controle sem sutura – 11 dias (H.E., 6,3 x 1,25 x 10).

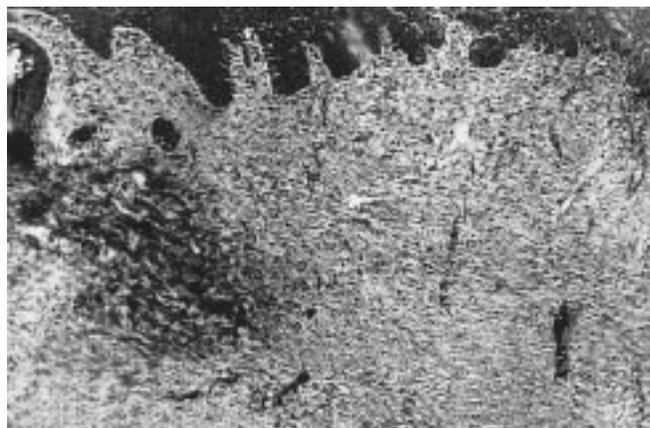


FIGURA 3 - Grupo irradiado sem sutura – 11 dias (H.E., 6,3 x 1,25 x 10).

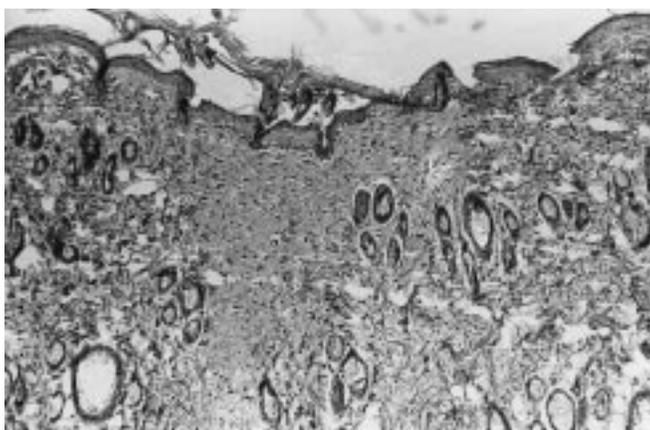


FIGURA 2 - Grupo controle sem sutura – 14 dias (H.E., 6,3 x 1,25 x 10).

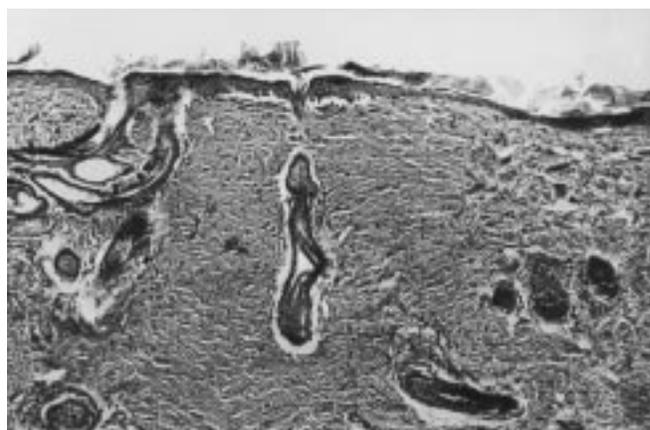


FIGURA 4 - Grupo irradiado sem sutura – 14 dias (H.E., 6,3 x 1,25 x 10).

Grupo irradiado sem sutura

A ferida mostrava-se semelhante à citada anteriormente em relação ao início do processo. O epitélio, no entanto, recobriu a ferida somente aos 11 dias (Figura 3). Com 14 dias, o tecido ainda possuía um número razoável de fibroblastos (Figura 4). Aos 21 dias, embora não tão espessas quanto no grupo acima, eram observadas as fibras colágenas.

Grupo controle com sutura

Neste grupo, mesmo nos dias iniciais, o tecido apresentava-se organizado, não se observando mais a presença da crosta aos 4 dias. Aos 7 dias, o tecido de granulação mostrava-se rico em fibras colágenas e aos 11 dias possuía um aspecto de tecido maduro (Figura 5). Com 14 dias, já eram observados anexos da pele (Figura 6).

Grupo irradiado com sutura

Nos dias iniciais, o tecido era semelhante ao

grupo controle com sutura. Aos 7 dias, o epitélio cobria o tecido de granulação rico em fibroblastos e vasos neoformados. Com 11 dias, o tecido apresentava-se fibrosado (Figura 7). Completa cicatrização da ferida foi observada aos 14 dias, embora ainda houvesse um retardo em relação ao grupo citado anteriormente (Figura 8).

Aspectos qualitativos: impregnação argêntica

Cortes impregnados por prata foram examinados sob luz polarizada permitindo avaliar a gênese e evolução do tecido de granulação através da birrefringência dos feixes de colágeno, que brilham numa tonalidade alaranjada ou rosa, segundo o estágio de evolução.

Grupos controle sem sutura e com sutura

O tecido de granulação dos grupos controle no início do processo não apresentava diferença significativa no brilho dos feixes de colágeno. Aos

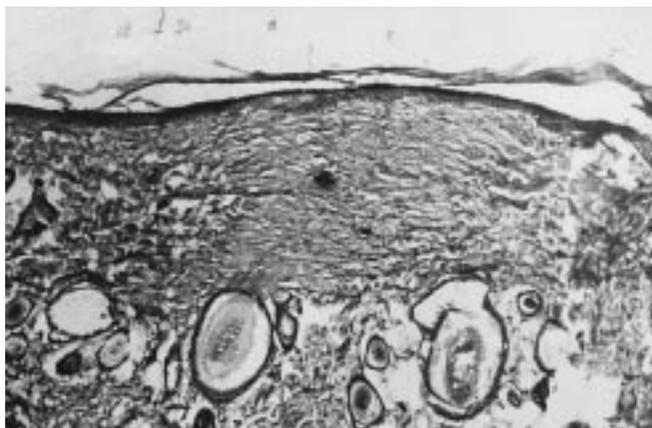


FIGURA 5 - Grupo controle com sutura – 11 dias (H.E., 6,3 x 1,25 x 10).



FIGURA 7 - Grupo irradiado com sutura – 11 dias (H.E., 6,3 x 1,25 x 10).

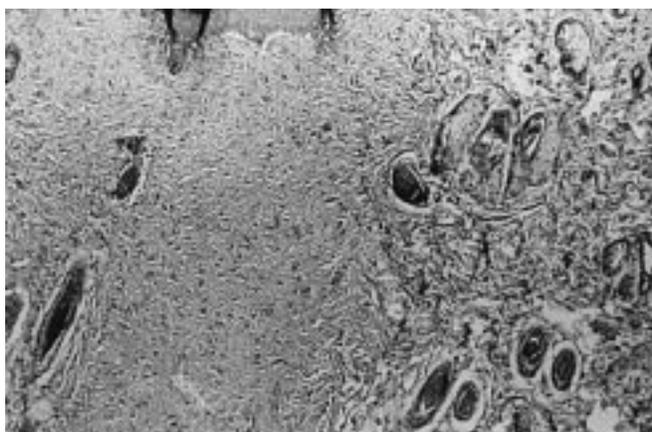


FIGURA 6 - Grupo controle com sutura – 14 dias (H.E., 6,3 x 1,25 x 10).

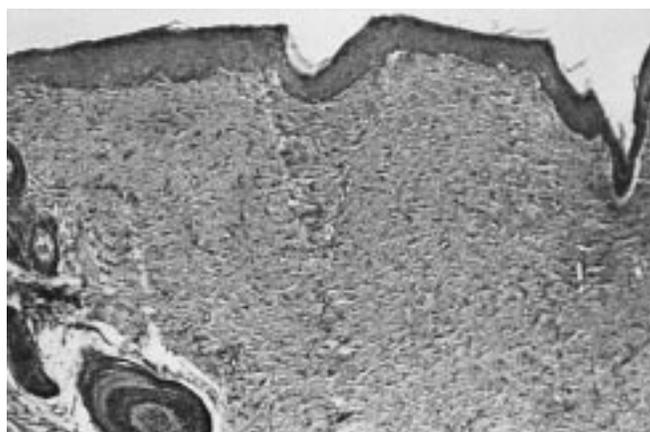


FIGURA 8 - Grupo irradiado com sutura – 14 dias (H.E., 6,3 x 1,25 x 10).

7 dias, o grupo controle com sutura mostrava os feixes de fibras colágenas num tom rosa, já o grupo sem sutura mostrava tonalidade alaranjada.

Grupos irradiados sem sutura e com sutura

A birrefringência dos feixes de colágeno mostrava discreta diferença aos 2 e 4 dias, sendo que o grupo irradiado com sutura aos 4 dias exibe maior brilho. No sétimo dia, observava-se discreta diferença entre os dois grupos. Aos 14 dias, o grupo irradiado com sutura mostrava uma coloração rosa mais homogênea, permanecendo até o 21º dia.

Grupos controle e irradiado sem sutura

Havia discreta diferença na birrefringência entre os grupos de 2 e 4 dias. Aos 7 dias, o grupo controle apresentava um brilho mais intenso. Aos 11 dias, esse grupo apresentava tonalidade avermelhada, enquanto o grupo irradiado mostrava tonalidade alaranjada que permaneceu até o 17º dia.

Aos 21 dias, ainda era observada diferença entre os dois grupos.

Grupos controle e irradiado com sutura

Aos 4 dias, o grupo controle com sutura apresentava um brilho mais intenso. Com 7 dias, tons rosas foram observados neste grupo, enquanto no grupo que sofreu irradiação, foram observados somente tons alaranjados. A maturação do tecido ocorreu mais rapidamente para o grupo controle com sutura, o qual exibiu tonalidade rosa bem mais brilhante aos 21 dias.

DISCUSSÃO

Segundo os estudos de VIZIOLI²¹, a síntese de colágeno e de moléculas de glicosaminoglicanas (GAGs) inicia-se aos primeiros dias após o ferimento, atingindo seu ponto máximo entre 15 e 20 dias, decaindo visivelmente após esse período. O autor cita que a associação entre o colágeno e GAGs ini-

cia-se por volta do sétimo dia de evolução do tecido de granulação. Os resultados obtidos nesta pesquisa mostraram que nas feridas suturadas e não suturadas, ambas não irradiadas, a evolução do tecido de granulação deu-se conforme observado por VIZIOLI²¹. No entanto, comparando-se os dois grupos citados, observou-se que as feridas suturadas apresentaram uma organização dos feixes de colágeno mais visível aos 7 dias.

Embora o processo de reparação tecidual tenha ocorrido mais lentamente nas feridas irradiadas, a radiação não impediu que este ocorresse. A sutura realizada nas feridas irradiadas e não irradiadas promoveu um processo de reparo mais rápido. Isso se deve ao fato de que a sutura aproximou as bordas das feridas, reduzindo a produção de exsudato e conseqüentemente do coágulo formado, que posteriormente é substituído pelo tecido de granulação. Portanto, se a radiação causou um dano, retardando o processo, isso foi observado em maior grau nas feridas não suturadas.

Os resultados obtidos nesta pesquisa, ainda que utilizando dose de 0,074 Gray (Gy), portanto extremamente baixa, coincidem com alguns trabalhos citados, embora vários autores tenham utilizado doses 100 vezes maior, exceção feita aos trabalhos de ABDALA *et al.*¹, WATANABE *et al.*²², e ALMEIDA²: os dois primeiros utilizaram doses iguais àquela usada nesta pesquisa, bem como o mesmo tipo de radiação ionizante, radiação X, enquanto ALMEIDA² utilizou 1 Gy de radiação de elétrons. Comparando-se os resultados aqui obtidos com aqueles dos autores acima citados, onde a irradiação ocorreu logo após a produção da ferida cirúrgica, o fato comum é um retardo na organização do tecido de granulação nas feridas irradiadas.

Os resultados obtidos neste trabalho corroboraram também com as citações de STEIN *et al.*¹⁹, quando citam que a radiação produz efeitos definidos sobre a reparação tecidual de feridas cirúrgicas.

Outros autores^{7,9,12,15,17,20} estudaram a ação da radiação nos tecidos e na vascularização, observando haver grande influência na angiogênese e também no processo de reparo, visto que a vascularização tem papel fundamental neste processo.

Pelas observações feitas neste estudo, bem como pelas observações dos autores citados, nota-se que a radiação X, embora em baixas doses, influencia no processo de reparação tecidual, retardando-o mas não o impedindo.

CONCLUSÕES

Os resultados obtidos neste estudo, dentro das condições experimentais utilizadas, permitem concluir que:

1. as feridas suturadas mostraram que o processo de reparação ocorreu mais rapidamente nestas, comparadas àquelas não suturadas;
2. nas feridas irradiadas, o processo de reparação tecidual ocorreu mais lentamente naquelas não suturadas.
3. comparando-se feridas irradiadas e não irradiadas, houve um retardo no processo de reparo nas feridas irradiadas, independentemente de terem sido suturadas ou não;
4. a radiação X causou um retardo, mas não impediu o processo de reparação tecidual, pois aos 21 dias, o tecido neoformado mostrava-se maduro em todos os grupos estudados.

BÓSCOLO, F. N.; ALMEIDA, S. M. de; VIZIOLI, M. R.; LOURENÇO, R. M.; MONTEIRO, S. A. C. Effect of low doses of X-irradiation in sutured and nonsutured wounds – experimental study in rats. **Pesqui Odontol Bras**, v. 14, n. 4, p. 386-391, out./dez. 2000.

The present work evaluated the effect of low doses of X-irradiation on the repairing process of sutured and nonsutured skin wounds in rats. For that, rats underwent a surgical procedure, in which a 20 x 5-millimeter rectangular wound approximately 2-millimeter-deep was made in the dorsal region of each animal, and were divided in four groups: nonirradiated nonsutured; irradiated nonsutured; nonirradiated sutured and irradiated sutured. The animals under irradiation were protected, during exposure, with a 2-millimeter-thick lead apron in such a way that only the incision was irradiated. Each animal was submitted to 18 seconds of exposure, undergoing a total of 7.4 rads. The evaluation of the effects of X-rays on the repairing process was carried out through microscopic observation by means of hematoxylin-eosin staining for morphological evaluation, and silver impregnation under polarized light for the observation of collagen synthesis. The results have shown that X-irradiation has caused delay in the repairing process, but it did not stop its development. The irradiated nonsutured group was considered to show the greater delay when compared with the other groups.

UNITERMS: Sutures; Radiation, ionizing; Wound healing.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ABDALA, C. M.; VIZIOLI, M. R.; BÓSCOLO, F. N. *et al.* Estudo histológico da gênese e evolução do tecido de granulação sob efeito de baixas doses de radiação X. **Rev Fac Odont Univ São Paulo**, v. 5, n. 2, p. 90-95, jul./dez. 1991.
2. ALMEIDA, S. M. **Efeito da radiação de elétrons na reparação tecidual**. Piracicaba, 1997. 103 p. Tese (Doutorado) - Faculdade de Odontologia de Piracicaba, Universidade Estadual de Campinas.
3. ARCIERI, R. M.; SAAD NETO, M.; PINTO, M. C. S. Influência da distância entre os pontos de sutura interrompida simples sobre a cicatrização de pele. Estudo clínico e histológico. **Rev Odont Unesp São Paulo**, v. 20, p. 173-183. 1985.
4. BERNSTEIN, E. F.; MITCHEL, J. B.; GLATSTEIN, E. Healing impairment of open wounds by skin irradiation. **J Dermatol Surg Oncol**, v. 20, n. 11, p. 757-760, Nov. 1994.
5. BRYANT, W.; SLESH, M. Z.; WEEKS, P. M. Collagen and mucopolysaccharide synthesis in healing irradiated wounds. **Surg Forum**, v. 19, p. 503-505, 1968.
6. BUCKNALL, T. E.; TEARE, L.; ELLIS, H. The choice of a suture to close abdominal fascia. **Eur Surg Res**, v. 15, n. 59, 1983. *Apud* BUCKNALL, T. E. Wound healing in abdominal operations. **Surg Annu**, v. 17, p. 1-22, 1985.
7. DOTTO, C. A.; MAYO, J.; CABRINI, M. D. *et al.* Quantitative study of vascular response in irradiated wounds. **Surg Ginecol Obstet**, v. 130, n. 5, p. 875-878, May 1970.
8. GUIDUGLI NETO, J. The effect of roentgen radiation on the capillary sprouts and superficial loops of granulation tissue. I. Quantitative study of the vascular volume. **Rev Fac Odont Univ São Paulo**, v. 1, n. 4, p. 6-8, out./dez. 1987.
9. JOVANOVIĆ, D. The influence of radiation on blood vessels and circulation: V. noncellular factors. **Curr Top Radiat Res Q**, v. 10, p. 75-84, 1974.
10. KRUGER, G. O. **Cirurgia Bucal e Maxilo-Facial**. Rio de Janeiro : Guanabara Koogan, 1984. Cap. 2.
11. LILIE, R. D. **Histopathologic technic and practical histochemistry**. The Blakiston Division, New York/London, 1954, p. 407.
12. MOORE, M. J. The effect of radiation on connective tissue. **Otolaryngol Clin North Am**, v. 17, n. 2, p. 389-398, May 1984.
13. MOUSQUES, T.; LEVAVASSEUR, F. Les sutures chirurgicales: généralité et matériel. **Actualités Odontostomatologiques**, n. 166, p. 367-381, 1989.
14. RAVELI, D. B.; FERREIRA, B. A.; CORDEIRO, R. C. L. *et al.* Influência da radiação X na cronologia do processo de reparo em feridas de extração dental. Estudo histomorfológico em ratos. **Rev Fac Odont Univ São Paulo**, v. 4, n. 2, p. 119-125, abr./jun. 1990.
15. REINHOLD, H. S. The influence of radiation on blood vessels and circulation. **Curr Top Radiat Res Quartely**, v. 10, p. 3-8, 1974.
16. ROSS, R.; EVERETT, N. B.; TYLER, R. Wound healing and collagen formation. VI. The origin of the wound fibroblast studied in parabiosis. **J Cell Biol**, v. 44, n. 3, p. 645-654, Mar. 1970.
17. ROTH, N. M.; SONTAG, M. R.; KIANI, M. F. Early effects of ionizing radiation on the microvascular networks in normal tissue. **Radiat Res**, v. 151, p. 270-277, 1999.
18. RUDOLPH, R.; BERG, J. V.; SCHNEIDER, J. A. *et al.* Slowed growth of cultured fibroblasts from human radiation wounds. **Plast Reconstr Surg**, v. 82, n. 4, p. 669-675, Oct. 1988.
19. STEIN, M.; BRADY, L. W.; RAVENTOS, A. The effects of radiation on extraction-wound healing in the rat. **Cancer**, v. 10, n. 6, p. 1167-1181, Nov./Dec. 1957.
20. TOMEI, F.; PAPALETTO, B.; FANTINI, S. *et al.* Vascular effects of occupational exposure to low-dose ionizing radiation. **Am J Ind Med**, v. 30, p. 72-77, 1996.
21. VIZIOLI, M. R. Macromolecular organization of rat sponge-induced granulation tissue as revealed by dichroism. **Acta Anat**, v. 80, p. 73-81, 1971.
22. WATANABE, P. C. A.; VIZIOLI, M. R.; BÓSCOLO, F. N. *et al.* Efeitos de baixas doses de radiação sobre a gênese e evolução do tecido de granulação. **Rev Odontol Univ São Paulo**, v. 8, n. 2, p. 137-143, abr./jun. 1994.

Recebido para publicação em 04/12/99
Enviado para reformulação em 22/06/00
Aceito para publicação em 09/08/00