

**FRAB NORBERTO BÓSCOLO**

**Cirurgião Dentista**

**CONTRIBUIÇÃO AO ESTUDO DA VARIAÇÃO DE ENZIMAS  
DO GLOBO OCULAR DE CÃES - Emprego de Baixas Doses  
de Radiação e Dosimetria Termoluminescente**

Tese apresentada à Faculdade de  
Odontologia de Piracicaba, da  
Universidade Estadual de Campi-  
nas, para a obtenção do Título de  
Livre-Docente (Radiologia).

PIRACICABA - S. P.  
1984

**UNICAMP  
BIBLIOTECA CENTRAL**

À Marilene, minha esposa

Às minhas filhas, Daniela,  
Isabela e  
Gabriela.

Ao Professor Dr. NIVALDO GONÇALVES, a quem devemos o ingresso na carreira universitária, e a quem creditamos boa parte daquilo que já conseguimos nesta carreira, externamos os nossos sinceros agradecimentos.

## AGRADECIMENTOS

Gostaríamos de agradecer também a todos que direta ou indiretamente participaram durante a elaboração desta pesquisa, e em especial:

Ao Prof. Dr. LUIZ VALDRIGHI, Diretor desta Faculdade, pelo apoio material que tornou possível o desenvolvimento deste trabalho.

Ao Prof. Dr. SIMONIDES CONSANI, Diretor Associado desta Faculdade, pelo apoio material o qual tornou possível o desenvolvimento deste trabalho.

Ao Prof. Dr. JAIME CURY, Professor da área de Bioquímica, do Departamento de Ciências Fisiológicas, pelo auxílio e orientação em toda a parte de bioquímica empregada neste trabalho.

Ao Estatístico RONALDO SEICHI WADA, pelo relatório estatístico e orientação no seu desenvolvimento.

Ao Prof. Dr. SAMIR TUFIC ARBEX, responsável pela área de Farmacologia Anestesiologia e Terapêutica, pela cessão do laboratório; o que nos possibilitou o desenvolvimento deste trabalho.

Aos Professores JOSÉ RANALI e THALES ROCHA DE  
MATTOS FILHO, da área de Farmacologia, Anestesiologia e  
Terapêutica, pela orientação e uso de drogas nos ani-  
mais.

\*

\*

\*

# I N D I C E

## Capítulo I

INTRODUÇÃO . . . . .	8
----------------------	---

## Capítulo II

REVISTA DA BIBLIOGRAFIA . . . . .	13
-----------------------------------	----

## Capítulo III

PROPOSIÇÃO . . . . .	28
----------------------	----

## Capítulo IV

MATERIAIS E MÉTODOS . . . . .	30
-------------------------------	----

## Capítulo V

DADOS OBTIDOS . . . . .	43
-------------------------	----

## Capítulo VI

ANÁLISE DOS DADOS . . . . .	51
-----------------------------	----

## Capítulo VII

DISCUSSÃO . . . . .	59
---------------------	----

## Capítulo VIII

CONCLUSÕES . . . . .	73
----------------------	----

## Capítulo IX

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS . . . . .	76
--------------------------------------	----

Capitulo I  
INTRODUÇÃO

Em 1895, WILHELM CONRAD ROENTGEN descobria em seu laboratório de pesquisas um tipo de radiação ionizante, que deu a conhecer ao mundo dos pesquisadores da época, como "radiação X".

Essa radiação, com suas insólitas propriedades de atravessar corpos opacos e impressionar chapas fotográficas, passou a ser largamente estudada e utilizada. Contudo, apareceram também os efeitos deletéricos das radiações ionizantes nos organismos vivos, apresentando consequências indesejáveis naqueles que trabalhavam com a radiação recém descoberta, como EMIL H. GRUBBE, fabricante de tubos a vácuo, em janeiro de 1896, e citado por STONE (37). GRUBBE apresentou-se no Hahnemann Medical College de Chicago para exame de uma dermatite localizada na mão, cuja etiologia foi considerada como exposição em excesso aos raios X.

Outros autores sofreram esses efeitos, mas também alertaram os estudiosos para este lado indesejável dessas radiações, como é o caso de KELLS (26), que foi considerado pesquisador, inventor e o primeiro mártir a sofrer as consequências maléficas das radiações X.

A partir de então, pesquisas foram realizadas com o intuito de fornecer subsídios, para que pesquisadores e auxiliares, pacientes e profissionais viessem a se proteger de tais efeitos maléficos.

Os estudos logo mostraram a necessidade da proteção dos órgãos críticos e, com isto, todo e qualquer



tipo de radiação ionizante ou eletromagnética, que viesse a incidir nesses órgãos, passou a ser objeto de investigação.

Aliás, já em meados do século XIX, HEISTER (22) e PLENK (33) noticiaram o aparecimento de catarata, em alguns casos, quando as pessoas olhavam para o sol por um longo tempo. Mas no campo das indústrias, no final do século, WENZEL (40) menciona vidreiros e ferreiros como suscetíveis de desenvolver a catarata, por olharem constantemente para dentro dos fornos; ao passo que BERR (04), no final do século XVIII, atribuía a causa das cataratas mais aos efeitos do calor do que da luz.

Contudo, somente no início da segunda década do século XX é que CROOKES (12) investiga, dentro dos princípios científicos, a correlação existente entre as afecções visuais dos vidreiros e os fenômenos físico-químicos que ocorrem durante a preparação dos vidros.

Dessa forma, foi sugerido que havia uma conexão entre a catarata desses operários e o intenso calor ao qual os trabalhadores eram submetidos, e que havia uma pequena quantidade de radiação ultra-violeta, mas também havia uma alta quantidade de radiação infra-vermelha devida à alta temperatura do forno.

Desde então, e até os nossos dias, as injúrias em órgãos críticos, e em particular os olhos, têm despertado a atenção dos profissionais da área da saúde.

Autores como MERRIAN & FOCHT (30), PARKER e colaboradores (32), KOPT e colaboradores (27), preocuparam-se em fazer um levantamento do índice de catarata, estudando seu aparecimento em Clínicas Terapêuticas Radiológicas, em casos de radioterapia de câncer da cabeça e do pescoço.

Ainda outros autores, como BIRENBAUM e colaboradores (07), preocuparam-se com o problema do aparecimento da catarata, e estudaram os efeitos das microondas sobre os olhos, enquanto ISMAIL e colaboradores (24), pesquisando em animais os efeitos de injeções de elementos marcados, procuraram relacionar esse tratamento com modificações na síntese de D.N.A.

Dentro do nosso campo de Odontologia, achamos de interesse realizar uma pesquisa que tentasse relacionar os efeitos das baixas doses de radiação que incidem no olho do paciente, durante o exame radiográfico de rotina, com as possíveis alterações da cadeia enzimática diretamente relacionada com a visão.

Para tal trabalho, que procuramos realizar por meio de experimentos com animais, preocupamo-nos em usar doses de radiação que se aproximem das doses comumente encontradas ao nível do globo ocular do paciente submetido a exames radiodontológico. E para a determinação dos níveis de radiação nos valem da termoluminescência, utilizando, como dosímetros, os cristais de fluoreto de lítio (LiF)-700, método já bem conhecido entre

nões desde os estudos de CAMERON ( ) e de KOPT e colaboradores (27 ), relatados na literatura, e principalmente pelos trabalhos mais recentes e específicos, realizados por FREITAS (17 ), BŪSCOLO e colaboradores (08 ) e DI HIPOLITO e colaboradores (13 ), onde os dosímetros de LiF-700 se mostraram de uso prático e preciso.

Capítulo II  
REVISTA DA BIBLIOGRAFIA

## 2 - REVISTA DA BIBLIOGRAFIA

Realizando a revisão da literatura a respeito do assunto proposto para este estudo, constatamos que MERRIAM & FOCHT, em 1957 (30 ), fizeram um levantamento do Índice de catarata da radiação, no centro de tratamento da cabeça e do pescoço da cidade de Nova York. Dos 173 casos examinados e que foram tratados nesse centro, 73 casos, em bora irradiados, não desenvolveram opacidade do cristalino; os demais casos, todos apresentaram a catarata da radiação.

De posse desse levantamento, os autores realizaram uma pesquisa com a utilização de um "phantom" especial.

Constataram que, quando o tratamento se deu em uma única dose cujo mínimo de radiação foi de 200 R, não houve. Quando o tratamento foi efetuado durante um período de três semanas a três meses e com um mínimo de radiação de 400 R, o efeito mostrou uma significância discutível; sendo que ao atingir o nível de 750 R a 950 R havia 60% de probabilidade de desenvolvimento de catarata, e, desse montante, 50% seriam de alterações progressivas com perda correspondente de visão. Sempre que o tratamento teve um período de duração acima de três meses, e com um mínimo de 550 R, ao atingir a dose de 1.150 R todos os olhos irradiados desenvolveram catarata.

Quatro anos após, em 1960, EVANS e colaboradores (16) fizeram estudos histológicos de cristalinos de ratos cujos olhos haviam recebido doses de radiação de neu

trons e de raios X. Constataram que a catarata da radiação se desenvolve em dois estágios. Com baixas doses cerca de 200 rads, ocorre um comprometimento de células do epitélio do cristalino, com desarranjo do padrão deste, anormalidade dos elementos fibrosos no cortex, migração de células não diferenciadas para o polo posterior e um acúmulo de células anormais e frágeis nos polos do cristalino. Com o emprego de altas doses, cerca de 1000 rads, o processo continua, com o comprometimento de todas as estruturas envolvidas pela cápsula. Neste estágio, o cristalino acaba por se tornar opaco. Então o processo envolve degeneração de fibras e de células contidas no núcleo do cristalino.

Constataram ainda que, qualitativamente, o efeito da radiação de neutrons não se diferencia daquela produzida pelos raios X. Contudo, do ponto de vista quantitativo, verificaram que 1 rad de radiação de neutrons equivale a dose de 4 a 6 rads de radiação X.

Em 1964, PARKER e colaboradores (32) fizeram um estudo do aparecimento da catarata, na Clínica Terapêutica Radiológica da Escola de Medicina da Universidade de Washington. Foram estudados oitenta e cinco olhos de pacientes que previamente tinham sido submetidos à terapia da radiação em tumores da pituitária, fossas nasais, naso-faringe e seios maxilares. Desses oitenta e cinco olhos estudados, dois apenas apresentaram uma diminuição grande de acuidade visual, decorridos, para um, dois anos, e para o outro três anos e meio após a irra

dição, e em ambos os casos os olhos foram irradiados com uma dose de 3.570 rads e 3.900 rads. Concluíram os autores que a radiação ionizante é um agente etiológico complexo e que há um inter-relacionamento entre a dose total absorvida, o padrão de administração, a quantidade de radiação, a idade do paciente, o intervalo pós tratamento e muitas modificações de respostas sistêmicas desconhecidas.

Três anos após, em 1967, KOPT e colaboradores (27) fizeram um estudo com a finalidade de aprimorar o método de proteção dos tecidos oculares, durante o tratamento radioterápico de cânceres de tecidos periorbitais, "visto que a radiação X é um agente etiológico cataratogênico", Para tal, construíram uma máscara composta por uma lâmina de 0,92 mm de chumbo, uma lâmina de 0,25 mm de cobre e uma lâmina de 0,50 mm de alumínio e todo esse conjunto foi mergulhado e revestido por uma camada de parafina. Essa máscara protetora continha em seu centro uma abertura de 3 cm por 6 cm permitindo assim a passagem apenas do feixe de radiação primária. Neste estudo, os autores utilizaram os cristais termoluminescentes de LiF para medir a eficácia da nova proteção das estruturas oculares.

Estes pesquisadores salientaram que o LiF é uma substância bem adequada para a dosimetria da radiação X em pesquisas médicas e biológicas, por apresentar as seguintes propriedades:

1. A absorção da radiação por grama de LiF é quase equivalente à dos tecidos, e o mesmo acontece em relação a outros tipos de energias radiante diferentes da

radiação X, empregadas na terapêutica.

2. A energia armazenada no LiF é estável por longo período.

3. A luminescência ocorre dentro do espectro visível, e assim é facilmente medida com fotomultiplicadoras.

4. o LiF é quimicamente inerte e não tóxico, e seus cristais são encontrados em tamanho diminuto, sendo portanto de fácil utilização.

CASARETT ( 10 ), em seu livro editado em 1968, diz que o período latente entre a irradiação do cristalino e a opacidade pode ser de meses ou anos, sendo que a intensidade da opacificação apresenta grandes variações. Refere ainda o autor que doses além de aproximadamente 15 rads , de raios X, aumentam a ocorrência de opacidade do cristalino em camundongos. No homem, a dose crítica para a formação de catarata tem sido estimada, por alguns autores, entre 20 e 45 rads; o fracionamento dessa dose retarda o aparecimento inicial dessas afecções e faz decrescer a incidência da opacidade severa.

Diz também o autor que, em baixas doses de radiação, a principal alteração do cristalino parece ser devido à injúria das células do epitélio e a um decréscimo da atividade mitótica das células germinativas, além de tentativas abortivas de elaboração de fibras normais, e acúmulo de células anormais, frágeis, nos polos do cristalino. Com altas doses de radiação, toda estrutura dentro da



cápsula pode sofrer danos e o cristalino tornar-se opaco.

Também em 1968, BARTLEY e colaboradores (03), em seu livro, no tópico referente a catarata causa da por radiação, ressaltaram que a capacidade de uma dada dose de radiação ionizante induzir a formação de uma cata rata é maior em animais jovens, porque a soma dos danos parece ser proporcional ao número de mitoses. Confirmam que existe um período latente antes de as mudanças pode rem ser observadas, sendo que este período é inversamente proporcional à intensidade da dose recebida.

Bioquimicamente, a primeira mudança observa da no cristalino é uma queda da quantidade de glutathion reduzido (GSH); isso ocorre antes de haver qualquer sinal de opacidade do cristalino, e prossegue enquanto a cata ra se desenvolve, como indicam aqueles autores.

Em 1969, BIRENBAUM e colaboradores (07) fi zeram um estudo dos efeitos das microondas no olho de coe lhos, e determinaram que com três minutos de exposição, e uma potência de 1 watt, houve o aparecimento de catarata após quatro dias. Ao diminuírem para 0,5 watt a potên cia da microonda, não observaram nenhum efeito agudo nos olhos, mesmo com horas de exposição. Concluíram os auto res ser este um método útil nas pesquisas oftalmológicas, pois outros métodos para a produção da catarata envolvem o uso de agentes tóxicos.

ISMAIL e colaboradores (24), dois anos após, em 1971, realizaram um experimento onde demonstraram o efeito das radiações ionizantes no cristalino. Os autores

trabalharam com cobaias, divididas em sete grupos, totalizando duzentos e quarenta e cinco animais. Nessas cobaias foi injetado intraperitonealmente fósforo radioativo

$^{32}\text{P}$ . Após a injeção, os animais foram submetidos a radiação X, em doses que variavam de 400 R a 1000 R. Os animais foram sacrificados entre duas e oito semanas após a irradiação, tendo os autores constatado que:

1. A intensidade das doses de radiação e a duração do período pós-irradiação apresentavam um importante papel no desenvolvimento da catarata.

2. As doses de radiação X ou Y não foram suficientes para produzir catarata, num período de duas semanas pós irradiação.

3. A prolongação do período de duas para oito semanas, com a aplicação das mesmas doses, resultou no desenvolvimento da catarata.

4. Os resultados revelaram a existência de uma relação entre o desenvolvimento da catarata e a atividade funcional específica do cristalino. O desenvolvimento da catarata foi associado também com a maior captação de  $^{32}\text{P}$  no cristalino irradiado, em relação ao ocorrido nos controles. Isto pode ser atribuído à estimulação da síntese do DNA, com o aumento da atividade mitótica da célula após irradiação, levando à incorporação de grandes quantidade de radiofósforo.

O aumento da captação de  $^{32}\text{P}$  pode ser também devido a um aumento na permeabilidade da membrana celular

após a irradiação.

5. Os mais altos níveis de  $^{32}\text{P}$  foram encontrados 96 horas após a injeção de radiofósforo, tanto em cristalinos irradiado como nos não irradiados. Conclui o autor que o intervalo de tempo entre a injeção de  $^{32}\text{P}$  e a enucleação do olho afeta a concentração de  $^{32}\text{P}$  no cristalino.

Ainda em 1971, RICHARDS & MICHAELIS (34) fizeram um estudo em cristalino de coelhos albinos, onde utilizaram uma dose cataratogênica de radiação X de 4.000 rads. O cristalino de ambos os olhos foram irradiados; contudo, em cada animal promoveu-se a proteção da metade do cristalino de um dos olhos, por meio de adequada proteção de chumbo com 3 milímetros de espessura. Constataram, ao exame microscópico, que houve menos injúria e morte de células do olho protegido pela metade do que quando se expunha todo o cristalino. Além disso, constataram os autores que após alguns meses houve uma recuperação da metade exposta, suficiente para produzir novamente fibras normais do cristalino.

Nesse mesmo ano de 1971, HAYE (21), reporta-se ao trabalho desenvolvido por MACHEMER e colaboradores (29), que estudaram as modificações precoces ocorridas no epitélio de córneas de ratos submetidos a irradiação. Segundo tais autores, foram encontradas modificações a partir de 6 horas após a irradiação, sendo que ao cabo de 12 horas a síntese de DNA decresce de 50 por cento, aparentemente como uma decorrência da diminuição da quanti

idade de enzimas necessárias à síntese do DNA. Os autores ressaltam que o índice mitótico cai muito rapidamente, e seu retorno ao normal depende da dose de radiação inicial.

Em 1972, BROWN e colaboradores (09 ) realizaram um trabalho onde procuraram observar clinicamente os olhos de bovinos, suínos e muares, sobreviventes à exposição de radiação gama e mistura de neutrons e gama.

No trabalho, concluíram os autores que não foram detectados efeitos significantes da irradiação, com doses que variavam até 850 rads, em olhos de porcos e burros; contudo, 6,7% dos olhos de bois irradiados foram afetados, com aparecimento da opacidade característica das lesões induzidas pela irradiação.

Em 1973, SYMONYAN & NALBANDYAN (38 ), estudando os efeitos dos raios X sobre a superóxido desmutase, no Instituto de Bioquímica da Academia de Ciências na Armênia, citam HARTS e colaboradores (19 ), que dizem que a superóxido desmutase, por ser potente eliminador de radicais superóxidos, possui um evidente efeito radioprotetor.

Lembram ainda que os tecidos animais possuem de altos níveis de SOD, tais como o fígado, o cérebro e os rins, apresentam maiores resistência à radiação ionizante do que a medula óssea e o baço.

Em 1975, ISHERWOOD e colaboradores (23 ) lembram que a dose de radiação incidente nos olhos, durante os procedimentos de radiodiagnóstico, tem recebido

pequena atenção na literatura, e citam CHIN e colaboradores (11) e KROHMER (28), que executaram mensurações em pacientes "phantom", durante a tomografia do osso temporal, e recomendam uma proteção de 2 mm de chumbo para os olhos. Também BERGSTROM e colaboradores (06) chamaram a atenção para as altas doses durante a angiografia de ca r õ t i d a.

Assim sendo, ISHERWOOD e colaboradores (23) desenvolveram um trabalho onde provaram a eficiência de õ c u l o s de chumbo, na proteção do cristalino contra a i r r a d i a ç ã o. Lembram ainda que a dose de radiação medida s u g e r e que o paciente pode suportar na c õ r n e a e cristalino uma radiação máxima de 60 rads, durante um período relativamente curto, num exame neuroradiográfico. Nesses n í v e i s, segundo os autores, não é evidenciado, diretamente, prejuízo do cristalino, porém é importante que as altas doses de radiação sejam reduzidas.

Um ano depois, em 1976, ROTH e colaboradores (35) fizeram um estudo onde determinaram o efeito de neutrons rápidos no olho. Obtiveram, como resultado, a l t e r a ç õ e s i g n i f i c a n t e s nas palpebras, conjuntiva e c õ r n e a. Foram detectadas disfunções temporárias nas palpebras devido a injúria dos vasos, resultante de eritema e edema. Também foram detectados injúrias nas estruturas e p i t e l i a i s, causando a epilação e obliteração das glândulas serosas, sendo que em alguns casos houve recuperação clínica, porém, em outros, ocorreu disfunção permanente.

Os autores citam ainda a presença de e s t e n o

se dos ductos lacrimais, tendo como resultante olho seco, e com isso uma irritação da córnea. Também se fez presente uma queratocunjuntivite e uma alteração na constituição da lágrima.

Ainda nesse mesmo ano de 1976, NEMEC & ROTH (31) preocuparam-se com a quantidade de radiação que incide sobre o cristalino de pacientes submetidos ao exame tomográfico, por computação, na região de cabeça. Para a determinação do "quantum" de radiação, os autores deste estudo utilizaram dosímetros termoluminescentes e também filmes dosimétricos. Na pesquisa encontraram, para a região de toda a cabeça, a dose máxima de 4 R, e para o cristalino, a dose máxima de 0,6 R.

Em 1976, FREITAS (17) desenvolveu uma pesquisa, onde determinou, por meio da dosimetria termoluminescente, as doses de radiação incidentes em órgãos críticos de pacientes edêntulos e crianças com dentição mista, durante um exame radiográfico intra-bucal (oclusal e periapical) de rotina, em consultório odontológico.

Mostrou o autor que a média de radiação incidente sobre os cristalinos, quando era empregada a técnica oclusal superior para adultos edêntulos, foi de 0,175 rad. Quando se empregava a técnica intra-bucal periapical, a média de radiação incidente sobre o cristalino foi de 0,444 rad.

Com o aumento dos pedidos de exames tomográficos dos ossos petrosos em clínicas radiológicas, nos anos de 1974 e 1975, criaram-se alguns conceitos acerca

dos perigos da radiação para os olhos de pacientes submetidos a tais investigações radiográficas. Em vista disso, ASHLEY (01), em 1977, desenvolveu uma pesquisa comparativa das doses de radiação nos olhos de pacientes durante a tomografia do osso petroso.

As técnicas radiográficas empregadas nesse exame foram: ântero-posterior (AP), pôsterio-anterior (PA), ínfero-superior e lateral, para o osso petroso. As doses de radiação foram medidas por meio de discos termoluminescentes de LiF embalados em teflon.

Concluiu o autor que a dose de radiação incidente no olho sem proteção, durante a tomografia do osso petroso, na posição ântero-posterior, "é alta".

Concluiu também que houve uma grande variação da dose de radiação no olho, produzida pelos diferentes aparelhos de raios X utilizados. A menor dose encontrada ocorreu quando utilizaram o aparelho Plurigraph, e a maior dose foi ao utilizar o aparelho Maxitome.

Finalmente, o autor afirma que quando se empregam pequenos campos de radiação e placas intensificadoras especiais, ou se utilizam filtros adicionais e dispositivos de chumbo para a proteção dos olhos, conseguem-se tomografias satisfatórias para o diagnóstico, sem contudo aumentar o tempo de exposição, reduzindo assim a dose incidente no olho.

Um ano após, em 1978, HAYASAKA & LAY, HINLOK (20) realizaram um trabalho onde mediram a atividade da enzima lisossomal na retina de ratos albinos, ex-

postos continuamente a luz de baixa intensidade. Determinaram os autores que a atividade da fosfatase ácida e da glucoromidase, na retina, foram maiores nos animais expostos à luz, e que as maiores taxas encontradas ocorreram em ratos cujas retinas ficaram expostas durante nove dias. Esses achados sugerem, segundo os autores, uma nova síntese de enzimas lisossomais, uma migração de células carregadas de lisossomas e/ou fragilidade da membrana lisossomal, nas retinas expostas.

Constatarem também os autores que as retinas expostas por vinte e três dias mostravam uma atividade decrescente, em comparação com as retinas expostas por nove dias, o que para eles não ficou muito claro.

Em 1980, FUKAMI (18) desenvolveu um trabalho com ratos albinos, onde fez um estudo das causas da catarata da radiação. Neste trabalho, o autor considera os efeitos diretos e indiretos como dois mecanismos de indução da radiação. Concluiu que as evidências experimentais desse estudo permitem estabelecer a hipótese de que a catarata da radiação pode ser causada pela insuficiência circulatória, devido aos efeitos da radiação sobre os capilares que fornecem nutrição para a íris e corpo ciliar. Entretanto, não pôde afirmar neste estudo, que a catarata possa ser causada pela injúria direta da radiação.

Um ano após, em 1981, KELLER e colaboradores (25) desenvolveram uma pesquisa com o objetivo de investigar a influência da radiação X incidente no corpo



todo, sobre a atividade da aldose redutase (E.G.111.21) do cristalino de ratos jovens.

Para os resultados foi tomada como parâmetro a relação entre o peso líquido do cristalino e o peso corporal dos animais em crescimento. Nos animais não irradiados, verificou-se um aumento constante tanto do peso corporal como do peso líquido do cristalino, ao passo que nos animais irradiados o peso corporal permaneceu estável, e o peso líquido do cristalino aumentou, porém em menor quantidade do que no animal não irradiado.

Demonstraram também os autores que a atividade da aldose redutase mostrou claramente o efeito da radiação, pois nos cristalinos dos animais irradiados essa atividade enzimática foi menor. Assim, aos seis dias após a irradiação, essa atividade da enzima foi significativamente menor do que a atividade enzimática dos animais controle, e aos dez dias após a irradiação houve cerca de 30% a mais de atividade da enzima aldose redutase nos animais do grupo controle, do que nos animais do grupo irradiado.

Em 1982, BÖSCOLO e colaboradores (08) demonstraram em sua pesquisa que quando se faz um exame radiográfico intra-bucal, de boca toda, o paciente recebe na região de íris e cristalino 1,354 R. Nessa pesquisa, os autores trabalharam com pacientes que procuravam o Departamento de Diagnóstico Oral da Faculdade de Odontologia de Piracicaba para exames radiográficos ,

portanto "in vivo". E para medir essa radiação, foram utilizados dosímetros termoluminescentes de Fluoreto de Lítio 700, embalados em saquinhos plásticos e colocados, presos por fita adesiva, sobre as regiões dos órgãos críticos.

Em 1983, DI HIPOLITO e colaboradores (13), também preocupados com os efeitos maléficos da radiação X, determinaram, pelo método da dosimetria termoluminescente, as doses de radiação X incidentes em órgãos críticos, durante a obtenção de radiografias cefalométricas.

Os resultados dessa pesquisa indicaram que os pacientes submetidos a exames radiográficos cefalométricos, para fins de diagnóstico ortodôntico ou para outros fins, recebem na região de íris e cristalino do lado direito, 7,73 mR na condição de 70 kVp, 15 mA e 1/2 segundo, enquanto que na região de íris e cristalino do lado esquerdo, para as mesmas condições, foram encontradas 1,63 mR.

Para a região de íris e cristalino do lado direito, nas condições de 85 kVp, 15 mA e 4/10 de segundo, a dose foi de 6,33 mR e na região de íris e cristalino do lado esquerdo, para as mesmas condições, foi de 2,19 mR.

Pela revisão da bibliografia apresentada podemos notar que desde o século XVIII, pesquisadores em diferentes campos e clínicos da área de saúde vem se preocupando com os efeitos danosos das radiações eletromagnéticas, e são unânimes em sugerir a necessidade de proteção dos olhos, e ainda um estudo mais aprofundado a respeito do assunto.

Capítulo III

PROPOSIÇÃO

### 3 - PROPOSIÇÃO

Considerando a relação, já bem comprovada, entre incidência de radiação sobre os olhos e desenvolvimento de opacidade de cristalino, propomo-nos a:

I - Pesquisar as variações, em olhos de cães submetidos a baixas doses de radiações, das atividades das enzimas:

- a) glutathion redutase (GR),
- b) glucose-6-fosfato-desidrogenase (G6PD),
- c)  $\beta$ -n-acetil hexosaminidase (H), e
- d) fosfatase ácida (FA),

bem como, complementarmente,

II - aquilatar o desempenho dos dosímetros termoluminescentes de fluoreto de lítio-700, nesse tipo de pesquisa, e

III - ponderar a conveniência do uso de meios de proteção aos olhos do paciente, em casos de exame radiodentológico.

Capítulo IV  
MATERIAIS E MÉTODOS

#### 4 - MATERIAIS E MÉTODOS

Para o desenvolvimento do presente estudo, utilizamos cães, os quais foram previamente selecionados. Procuramos formar um lote de vinte e sete animais jovens, que apresentassem uma aparência saudável, e com pesos não muito discrepantes entre si, variando entre 6 a 9 quilogramas. Esses animais foram confinados no canil da Faculdade de Odontologia de Piracicaba-UNICAMP, e passaram a ter uma alimentação convencional para cães, não recebendo portanto nenhuma dieta especial.

Decorrido um prazo de quinze dias, para a adaptação dos animais, separamos, ao acaso, um grupo do conjunto de cães, a fim de desenvolvermos um plano piloto para a pesquisa. Nesse plano piloto, expusemos à radiação X os olhos dos cães, com diferentes tempos, em condições previamente estabelecidas. Em seguida esses animais retornaram ao canil, onde permaneceram por um tempo máximo de 96 horas.

Tanto no plano piloto como em toda a pesquisa utilizamos para a determinação dos níveis de radiação, dosímetros de fluoreto de lítio-700, os quais tem se mostrado de grande precisão.

Dessa forma, realizamos uma série de experiências prévias, jogando com o binômio dose de radiação — tempo de espera, visando determinar as condições com que obteríamos uma gama de alterações enzimáticas possíveis de serem determinadas pelos métodos bioquímicos usuais. Iniciamos o trabalho com doses baixas de radiação, que não resul-

itaram em alterações enzimáticas perceptíveis. Em outros espécimens, fomos aumentando gradativamente a exposição até encontrarmos níveis perceptíveis de alterações enzimáticas.

Por meio deste trabalho pudemos fixar a dose de radiação em 7,34 R, correspondente a três exposições de três segundos cada, que passamos a usar na pesquisa. Analogamente, para a verificação das alterações enzimáticas, o tempo de espera para o sacrifício dos animais foi fixado em 6, 12, 24, 48, 72 e 96 horas após a irradiação.

Ainda durante a execução desse plano, procuramos estabelecer e dominar uma técnica para a tomada da pressão intra-ocular (PIO), bem como estabelecer o método bioquímico para a determinação da atividade das enzimas estudadas, e as condições apropriadas para a execução do método.

Com o esquema de pesquisa já delineado, dividimos o conjunto de cães restantes em grupos de três animais, todos recebendo as mesmas doses de radiação, num total de 7,34 R por animal de cada grupo. Foi tomada como variável o tempo decorrido entre a irradiação e o sacrifício dos animais de cada grupo, o que permitiu o estabelecimento de médias dentro de cada um desses grupos.

Durante a fase de exposição, optamos pela irradiação de apenas um olho, sempre o olho direito, enquanto que o olho esquerdo passou a ser o olho controle. Desta forma procuramos evitar possíveis variações decorrentes de condições biológicas inerentes a cada animal, que porventu

ra viessem a influir nos resultados.

Os animais foram imobilizados em uma pequena bancada de laboratório, e sua cabeça posicionada sobre um bloco de isopor, de maneira que pudéssemos proteger totalmente o olho esquerdo com uma lâmina de chumbo de 5 milímetros de espessura.

O aparelho de raios X utilizado foi o GE-1000 eletrônico, modelo 46-158840 GI, operando com 65 kVp e 10 mA, com uma filtração de 1,5 milímetros de alumínio e colimação especial. Foram dados 3 disparos de 3 segundos cada, para perfazer um total de 7,34 R de exposição.

No aparelho de raios X foi colocado um colimador de metal, especialmente idealizado na Disciplina de Radiologia e confeccionado na própria Faculdade de Odontologia de Piracicaba. Tal colimador media 120 milímetros de comprimento por 20 milímetros de diâmetro.

O aparelho de raios X foi direcionado no sentido sūpero-inferior, de modo que o colimador ficasse a 10 milímetros do olho a ser irradiado, e com um ângulo que variou de 15 a 20 graus, dependendo do animal (peso e tamanho), seguindo o sentido de esquerda para direita, em relação ao cão. Nesta posição, o feixe de radiação de 20 milímetros de diâmetro incidia somente sobre o olho irradiado, ficando pois o outro olho (esquerdo) protegido da melhor maneira possível.

A dosimetria foi feita utilizando-se dosímetros termoluminescente de fluoreto de lítio-700 (LiF-700), em forma de cristais medindo 3 por 3 milímetros de base



por 2 milímetros de espessura, adquiridos da firma " The Harschaw Chemical Company".

Estes dosímetros foram previamente embalados em plástico, aos pares, da seguinte maneira: sobre uma prancha retangular de madeira, bem aparelhada e lixada, colocamos um retângulo de plástico de 0,003 milímetros de espessura, medidos em um micrômetro "Mitutoyo", e com um tamanho de 150 por 500 milímetros, e sobre esse retângulo foram distribuídos os cristais de LiF-700, como dissemos, aos pares. Sobre os cristais de LiF colocamos outro retângulo de plástico, igual ao primeiro, e sobre esse conjunto estendemos um retângulo um pouco maior, de papel celofane, cuja função era impedir que, durante a prensagem e auto-selagem da embalagem, as lâminas de plástico viessem a derreter-se e assim aderissem aos cristais de LiF, inutilizando-os.

Para conseguir a prensagem e auto-selagem das bordas dos discos de plástico (invólucro dos cristais), usamos um ferro elétrico de soldar, marca Fame, de 100 watts e 110 volts, convenientemente modificado, da seguinte maneira: substituímos a ponta original por uma ponta cilíndrica, de latão, medindo 18 milímetros de diâmetro, em cuja base torneamos, na parte central, uma cavidade de 16 milímetros de diâmetro por 8 milímetros de profundidade. A outra extremidade desse cilindro foi também torneada, de modo a ser encaixada no ferro de soldar.

Com esse aparelho previamente aquecido, pren

samos por alguns segundos as lâminas de plástico, formando anéis de selagem em torno de cada par de cristais, e ao mesmo tempo separando os discos, assim delimitados, do seu conjunto inicial. Desta maneira, tínhamos os cristais de LiF-700 hermeticamente embalados em saquinhos plásticos, discóides, ficando portanto protegidos de umidade e impurezas.

Os dosímetros, assim preparados, foram presos, com fita adesiva incolor, nas pálpebras dos animais, sendo que no olho controle os dosímetros foram colocados sob a lâmina protetora de chumbo. Desta forma pudemos ter a certeza de que este olho esquerdo, não recebia nenhuma radiação.

Uma vez sensibilizados os dosímetros, estes foram removidos da embalagem e levados, um de cada vez, para o aparelho de leitura da energia neles acumulada.

Tal leitura foi feita em um conjunto de aparelhos fabricado pela firma "The Harschaw Chemical Company", composto por um "Thermoluminescence Detector", modelo 2000 A, e um "Automatic Integrating Picoameter", modelo 2000 B.

Na câmara de liberação de energia do "Thermoluminescence Detector", os dosímetros foram submetidos a uma temperatura até  $240^{\circ}\text{C}$ . A energia neles acumulada foi então liberada em forma de energia luminosa e integrada no segundo aparelho, o "Automatic Integrating Picoameter", sendo quantificada em dígitos.

Tais resultados foram então levados a um gráfico, estabelecido previamente por nós, e convertidos em uni

idade de radiação (R=Roentgen).

O gráfico foi feito em função da energia efetiva e rendimento do aparelho de raios X utilizado na pesquisa, e de acordo com a dosimetria estabelecida pela firma: "Assessoria Técnica em Física Médica Ltda".

Os animais após serem irradiados, foram conservados no canil em condições normais, para serem então sacrificados, em grupos de três animais, nos tempos de 12, 24 e 48 horas respectivamente, tempos estes em que, durante a execução do plano piloto, apresentaram-se algumas alterações na atividade das enzimas.

Decorridos os tempos estabelecidos, os cães foram previamente anestesiados com Tiamilal Sódico (Surital), injetado intravenosamente, na concentração de 30 mg por quilograma de peso corporal. Assim anestesiados, foram os animais posicionados em um "berço cirúrgico" adequado e, nessa posição, fizemos as lavagens e antissepsia dos olhos.

Em seguida, executamos a tomada da pressão intra-ocular, em ambos os olhos de cada cão, o irradiado e o controle.

Para a tomada da pressão intra-ocular, utilizamos um eletrofisiógrafo da "Narco", modelo Physiograph Six-B de 7 canais, tendo a ele acoplado um regulador de pressão, Pressure Transducer modelo P-1000-A.

Após a medição dessa pressão, o cão foi sacrificado, por injeção intravenosa de éter etílico. Imediatamente após constatarmos a morte do animal, foram removidos am

pos os olhos, pela dissecação através das órbitas.

Sem demora, foram os olhos lavados em soro fisiológico e secados com papel de filtro. Em seguida, promoveu-se a secção equatorial de cada globo ocular, sendo removido todo o humor aquoso pela secagem em papel de filtro. Cada uma das partes de cada olho foi colocada em um "Beker" esterelizado, em cujo interior havia um papel de filtro embebido em uma solução de soro fisiológico (NaCl a 0,9%). O conjunto foi mantido a baixa temperatura, com o "Beker" parcialmente introduzido em um recipiente contendo gelo moído.

Logo em seguida, na porção anterior de cada par de olho, promovemos a separação do cristalino e epitélio interno, lavando-os separadamente em soro fisiológico e secando-os em papel de filtro.

Da mesma forma, nas secções posteriores removemos os epitélios internos, e os lavamos em soro fisiológico, secando-os com papel de filtro.

As estruturas de interesse para o trabalho, assim separadas, foram pesadas em uma balança analítica Microva CH 9428.

A seguir, tais porções de tecidos foram homogeneizados a 10% (P/V), em um homogeneizador tipo Potter-Elvehgen da B. Braun, numa solução contendo Tris-HCL 0,1 M, mercaptoetanol 1 mM e EDTA 1 mM, em um pH final de 7,4, segundo o método preconizado em 1982 por SASSAKI & NICOLAU (36). Os tecidos assim homogeneizados sofre-

ram centrifugação a 10.000 xg, durante 30 minutos, a 0° C. Para tal, utilizamos uma centrífuga refrigerada da International modelo P.R.2. Após a centrifugação, os precipitados foram desprezados e os sobrenadantes foram utilizados para as determinações das atividades enzimáticas.

Neste trabalho, procuramos estudar as atividades de enzimas desidrogenases e de enzimas hidrolíticas.

Enzimas desidrogenase - As enzimas desidrogenases estudadas foram a glucose-6-fosfato desidrogenase (G6PD) e a glutathion redutase (GR).

Para esse estudo, empregamos o método analítico baseado na oxidação do NADPH ou na redução do NADP<sup>+</sup>.

Para tanto, medimos as variações de absorbâncias a 340 nm, utilizando um espectrofotômetro Gilford Stasar III acoplado a um digitador Computer Printer 1000, sendo todas as análises efetuadas a uma temperatura de 25°C, durante um tempo de 3 minutos.

De posse desses resultados, calculamos as absorbâncias por minuto e obtivemos a atividade enzimática, por intermédio da fórmula, publicada no livro In Methods of Enzymatic Analysis, editado por Bergmeyer e colaboradores (05) em 1974 e que é:

$$\frac{\Delta A/\text{min} \times V}{E \times d \times v} = \text{unidades de atividade enzimática por ml de homogenado}$$

onde:

$\Delta A/\text{min}$  = variação de absorbância por minuto

V = volume total do sistema na cubeta em ml

E = Coeficiente de extinção molar das coenzimas reduzidas, NADH ou NADPH, a 340 mm, igual a  $6,22 \text{ cm}^2 / \text{rumo l/ml}$ .

d = passagem de luz, 1 cm

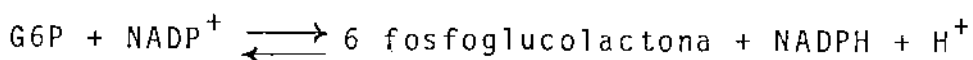
v = volume em ml do homogenado utilizado na pesquisa.

Foi tomada como unidade, a atividade da enzima capaz de catalisar a redução de um micromol de NADPH por minuto, nas condições especificadas pelo método.

A atividade específica pode ser expressa em unidade de enzima por grama de tecido, ou em miligrama de proteína, isto para ambas as enzimas desidrogenases adotadas.

a) Determinação da atividade da glucose-6-fosfato desidrogenase, ou seja, D glucose-6-fosfato: NADP oxidoreductase, E.C. 1.1.1.49- (G6PD).

Baseamo-nos na propriedade química que tal enzima possui, de catalisar a seguinte reação:



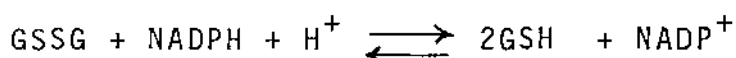
Nesta reação, atividade da enzima é determina

da pela velocidade de formação do NADP reduzido (NADPH + H<sup>+</sup>).

Para isso, mediu-se o aumento da absorbância a 340 nm, no seguinte meio de reação: tampão Tris-HCL 50 mM; pH 7,4; Mg Cl<sub>2</sub> 3,3 mM; G6P 1,33 mM e NADP<sup>+</sup> 0,09 mM. Para essas determinações foram utilizadas alíquotas de 20 ml dos homogenados.

b) Determinação da atividade da glutathion redutase - NADPH, ou seja, glutathion oxidado, oxidoreductase, EC 1.6.4.2. (GR).

Baseamo-nos na propriedade química que tal enzima possui, de catalisar a seguinte reação:



Nesta reação, a atividade da enzima é determinada pela velocidade de formação do NADP oxidado (NADP<sup>+</sup>).

Desta forma, mediu-se o decréscimo de absorbância a 340 nm no seguinte meio de reação: tampão Tris-HCl 87,7 mM; pH 8,0; EDTA 0,94 mM; GSSG 4,6 mM, NADPH 0,16 mM.

Para essas determinações, foram utilizadas a alíquotas de 20 ml do homogenado do epitélio e 50 ml do homogenado do cristalino.

Enzimas Hidrolíticas: As enzimas hidrolíticas estudadas foram a fosfatase ácida (F.A.) e a β-N-Acetil-hexosaminidase (H).

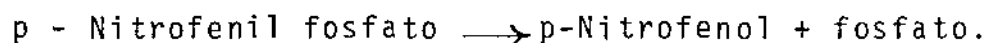
Para tal estudo, o método analítico baseou-se na hidrólise dos substratos artificiais, e subsequente determinação de p-Nitrofenol liberado.

Assim, utilizamos um espectrofotômetro Spectronic 20 da Baush & Lomb, onde medimos as absorbâncias a 400 nm, tomando como unidade de atividade enzimática a quantidade de enzima capaz de liberar 1 n mol de p-Nitrofenil por minuto, nas condições estabelecidas.

A atividade específica foi expressa em unidade de enzima por grama de tecido, para ambas as enzimas hidrolíticas adotadas.

a) Determinação da atividade da fosfatase ácida (EC 3.1.3.2.) (FA).

Baseamo-nos na propriedade química que tal enzima possui, de catalisar a seguinte reação:



Nesta reação, a atividade da enzima é determinada pela quantidade de p-Nitrofenol produzido.

Para essa determinação, mediu-se o aumento da absorbância a 400 nm, no seguinte meio de reação: tampão citrato 50 mM; pH 4,5 contendo 2,0 mg/ml de p-Nitrofenil fosfato.

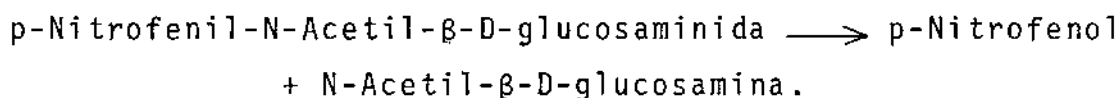
A 1,0 ml desse sistema foram adicionados 50 ml do homogenado, e, após um tempo de 30 minutos de incubação a 37 °C, paralisou-se a reação pela adição de 9,0 ml de NaOH 0,02 N, realizando-se em seguida a leitura no es



pectrofotômetro.

b) Determinação da atividade da  $\beta$ -N-Acetil Hexosaminidase (EC 3,2.1.52) (H).

Baseamo-nos na propriedade química que tal enzima possui, de catalisar a seguinte reação:



Nesta reação, a atividade dessa enzima é determinada pela quantidade de p-Nitrofenol produzido.

Para tal determinação, mediu-se o aumento da absorbância a 40 nm, no seguinte meio de reação: tampão citrato 50 mM; pH 4,5; contendo 1,5 mg/ml de p-Nitrofenil-N-Acetil- $\beta$ -D-glucosaminida.

A 1,0 ml desse sistema foram adicionados 50 ml do homogenado, e após um tempo de 30 minutos de incubação 37<sup>o</sup> C, paralisou-se a reação adicionando-se 9,0 ml de NaOH a 0,02 N, promovendo-se em seguida a leitura no espectrofotômetro, com o que obtivemos os dados numéricos a serem analisados.

Capítulo V  
DADOS OBTIDOS

Tabela 1

DADOS OBTIDOS NA DETERMINAÇÃO DA ATIVIDADE DA ENZIMA:

GLUTATION REDUTASE (EC 1. 6. 4. 2.) (GR)

24 Horas		Tecido Examinado	
		C.C.	C.I.
Animais	A	0,141	0,112
	B	0,128	0,131
	C	0,082	0,051
Média		0,117	0,098
Diferença da Média		-0,019	
ou %		-16,24	

48 Horas		Tecido Examinado	
		C.C.	C.I.
Animais	A	0,086	0,054
	B	0,059	0,037
	C	0,026	0,026
Média		0,057	0,039
Diferença da Média		-0,018	
ou %		-31,58	

C.C. = Cristalino Controle

C.I. = Cristalino Irrradiado

Tabela 2

DADOS OBTIDOS NA DETERMINAÇÃO DA ATIVIDADE DA ENZIMA:

GLUCOSE-6-FOSFATO DESIDROGENASE (EC 1.1.1.49) (G6PD)

24 Horas		Tecido Examinado	
		E.C.	E.I.
Animais	A	0,328	0,344
	B	0,360	0,536
	C	0,432	0,448
Média		0,373	0,443
Diferença da Média		0,069	
ou %		18,77	

48 Horas		Tecido Examinado	
		E.C.	E.I.
Animais	A	0,568	0,392
	B	0,363	0,379
	C	0,240	0,485
Média		0,390	0,418
Diferença da Média		0,028	
ou %		7,44	

E.C. = Epitélio Controle

E.I. = Epitélio Irradiado

Tabela 3

DADOS OBTIDOS NA DETERMINAÇÃO DA ATIVIDADE DA ENZIMA:  
GLUCOSE-6-FOSFATO DESIDROGENASE (EC 1.1.1.49) (G6PD)

24 Horas		Tecido	Examinado
		C.C.	C.I.
Animais	A	0,304	0,320
	B	0,152	0,624
	C	0,368	0,040
Média		0,275	0,328
Diferença da Média		0,053	
ou %		19,27	

48 Horas		Tecido	Examinado
		C.C.	C.I.
Animais	A	0,512	0,000
	B	0,320	0,024
	C	0,050	0,500
Média		0,294	0,175
Diferença da Média		-0,119	
ou %		-40,48	

C.C. = Cristalino Controle

C.I. = Cristalino Irradiado

Tabela 4

DADOS OBTIDOS NA DETERMINAÇÃO DA ATIVIDADE DA ENZIMA:

 $\beta$  - N-ACETIL-HEXOSAMINIDASE (EC 3.2.1.52) (H)

12 Horas		Tecido Examinado	
		EaC	EaI
Animais	A	0,750	0,527
	B	0,500	0,590
	C	0,490	0,530
Média		0,580	0,549
Diferença da Média		-0,031	
ou %		-5,34	

24 Horas		Tecido Examinado	
		EaC	EaI
Animais	A	0,322	0,289
	B	0,550	0,625
	C	0,592	0,496
Média		0,488	0,470
Diferença da Média		-0,018	
ou %		-3,69	

48 Horas		Tecido Examinado	
		EaC	EaI
Animais	A	0,610	0,525
	B	0,469	0,469
	C	0,615	0,573
Média		0,565	0,522
Diferença da Média		-0,043	
ou %		-7,61	

EaC. = Epitêlio Anterior Controle

EaI. = Epitêlio Anterior Irradiado

Tabela 5

DADOS OBTIDOS NA DETERMINAÇÃO DA ATIVIDADE DA ENZIMA  
 $\beta$ - N-ACETIL-HEXOSAMINIDASE (EC 3.2.1.52) (H)

12 Horas		Tecido Examinado	
		EpC	EpI
Animais	A	0,475	0,449
	B	0,575	0,479
	C	0,370	0,375
Média		0,473	0,434
Diferença da Média		-0,039	
ou %		-8,25	

24 Horas		Tecido Examinado	
		EpC	EpI
Animais	A	0,260	0,260
	B	0,725	0,680
	C	0,340	0,312
Média		0,441	0,417
Diferença da Média		-0,025	
ou %		-5,66	

48 Horas		Tecido Examinado	
		EpC	EpI
Animais	A	0,565	0,500
	B	0,375	0,360
	C	0,490	0,435
Média		0,477	0,432
Diferença da Média		-0,045	
ou %		-9,43	

EpC. = Epitêlio Posterior Controle

EpI. = Epitêlio Posterior Irraidado

Tabela 6

DADOS OBTIDOS NA DETERMINAÇÃO DA ATIVIDADE DA ENZIMA:

FOSFATASE ÁCIDA (EC 3.1.3.2) (FA)

12 Horas		Tecido Examinado	
		EaC.	EaI.
Animais	A	0,199	0,188
	B	0,198	0,229
	C	0,180	0,189
Média		0,192	0,202
Diferença da Média ou %		0,010 5,21	

24 Horas		Tecido Examinado	
		EaC.	EaI.
Animais	A	0,163	0,158
	B	0,152	0,187
	C	0,168	0,121
Média		0,161	0,155
Diferença da Média ou %		-0,006 -3,73	

48 Horas		Tecido Examinado	
		EaC.	EaI.
Animais	A	0,200	0,181
	B	0,209	0,211
	C	0,188	0,129
Média		0,199	0,174
Diferença da Média ou %		-0,025 -12,56	

EaC. = Epitêlio Anterior Controle

EaI. = Epitêlio Anterior Irradiado



Tabela 7

DADOS OBTIDOS NA DETERMINAÇÃO DA ATIVIDADE DA ENZIMA:

FOSFATASE ÁCIDA (EC 3.1.3.2.) (FA)

12 Horas		Tecido Examinado	
		EpC.	EpI.
Animais	A	0,121	0,143
	B	0,170	0,159
	C	0,131	0,189
Média		0,141	0,164
Diferença da Média ou %		0,023 16,31	

24 Horas		Tecido Examinado	
		EpC.	EpI.
Animais	A	0,081	0,094
	B	0,175	0,185
	C	0,105	0,088
Média		0,120	0,122
Diferença da Média ou %		0,002 1,67	

48 Horas		Tecido Examinado	
		EpC.	EpI.
Animais	A	0,138	0,148
	B	0,147	0,115
	C	0,169	0,193
Média		0,151	0,152
Diferença da Média ou %		0,001 0,66	

EpC. = Epitêlio Posterior Controle

EpI. = Epitêlio Posterior Irradiado

Capítulo VI  
ANÁLISE DOS DADOS

ANÁLISE DOS DADOS

Nesta pesquisa os dados foram analisados ao nível de significância de 5%, em parcelas subdivididas ("split-plot"), onde cada parcela é o animal e as subparcelas são os globos oculares controle e irradiado.

Assim sendo, desenvolvemos as seguintes análises:

I. Análise de variância dos dados obtidos da atividade da enzima glutathion redutase (EC 1.6.4.2) (GR) no cristalino do globo ocular de cães.

CV	GL	SC	QM	F
Tempo (T)	1	0,016621	0,010621	6,079782
Res. a	4	0,006988	0,001747	
Parcela	5	0,017609		
Tratamento (Tr)	1	0,001027	0,001027	6,500514
T X Tr	1	0,000003	0,000003	0,001899
Res. b	4	0,000632	0,000158	
Sub-Parcela	11	0,019268		

Pelos resultados desta análise de variância, observamos que não houve efeito significativo da atividade desta enzima nos tempos (T) de 24 e de 48 horas após a irradiação dos olhos dos animais.

Notamos também que não houve um efeito signifi

cativo, quando comparamos a atividade desta enzima no cristalino controle (C.C.) e no cristalino irradiado (C.I.) (Tratamento).

Do mesmo modo, notamos também que não houve um efeito significativo de interação entre a atividade desta enzima nos tempos (T) de 24 e de 48 horas após irradiação e a atividade da enzima nos cristalinos controle (C.C.) e irradiado (C.I.) (Tr).

II. Análise de variância dos dados obtidos da atividade da enzima glucose-6-fosfato desidrogenase (E.C. 1. 1. 1.49) (D6PD), no epitélio do globo ocular de cães.

CU	G.L.	SQ	QM	F
Tempo (T)	1	0,000037	0,000037	0,004514
Res. a	4	0,032789	0,008197	
Parcela	5	0,032826		
Tratamento (Tr)	1	0,007154	0,007154	0,540360
T. X Tr	1	0,001261	0,001261	0,095247
Res. B	4	0,052957	0,013239	
Sub-Parcela	11	0,094198		

Pelos resultados desta análise de variância, notamos que não houve efeito significativo da atividade desta enzima nos tempos (T) de 24 e de 48 horas após a irradiação dos olhos dos animais.

Também não houve um efeito significativo quando comparamos a atividade desta enzima no epitélio do globo ocular controle (E.C.) e no epitélio do globo ocular

irradiado (E.I.) (Tr).

Podemos observar ainda, que não houve um efeito significativo de interação entre a atividade da G6PD nos tempos (T) de 24 e de 48 horas após irradiação e a atividade desta enzima nos epitélios controle (E.C.) e irradiado (E.I.), (Tr).

III. Análise de variância dos dados obtidos da atividade da enzima Glucose-6-fosfato desidrogenase (E.C. 1.1. 1.49) (G6PD), no cristalino do globo ocular de cães.

CV	G.L.	SQ	QM	F
Tempo (T)	1	0,013467	0,013467	1,165604
Res. a	4	0,046215	0,011554	
Parcela	5	0,059682		
Tratamento (Tr)	1	0,003267	0,003267	0,031427
T X Tr	1	0,022360	0,022360	0,215096
Res. b	4	0,415815	0,103954	
Sub-Parcela	11	0,501124		

Observando os resultados desta análise de variância, notamos que não houve efeito significativo da atividade desta enzima entre tempos (T) de 24 e 48 horas após a irradiação dos olhos dos animais.

Também mostra esta análise que não houve um efeito significativo quando comparamos a atividade desta enzima no cristalino controle (C.C.) e no cristalino irradiado (C.I.) (Tr).

Da mesma forma, não houve um efeito significativo de interação entre a atividade desta enzima nos tempos (T) de 24 e de 48 horas após irradiação e a atividade da enzima nos cristalinos, controle (C.C.) e irradiado (C.I.) (Tr).

IV. Análise de variância dos dados obtidos da atividade da enzima  $\beta$ -N-Acetil-Hexosaminidase (EC 3.2.1.52) (4), na porção anterior do epitélio do globo ocular de cães.

.CU	.GL	SQ	QM	F
Tempo (T)	2	0,023823	0,011912	0,561841
Res. a	6	0,127205	0,021201	
Parcelas	8	0,151028		
Tratamento (Tr)	1	0,004171	0,004171	0,555275
T X Tr	2	0,000445	0,000222	0,029554
Res. b	5	0,037558	0,007512	
Sub-Parcelas	16	0,193202		

Esta análise de variância, mostra que não houve efeito significativo da atividade desta enzima entre os tempos (T) de 24 e de 48 horas após a irradiação dos olhos dos animais.

E que também não houve um efeito significativo quando comparamos a atividade desta enzima na porção anterior do epitélio do globo ocular controle (EaC.) e na porção anterior do epitélio do globo ocular irradiado (EaI.) (Tr).

Também não houve um efeito significativo de interação entre a atividade desta enzima nos tempos (T) de 12, 24 e de 48 horas, após irradiação e a atividade enzimática nas porções anteriores dos epitélios controle (Ea.C.) e irradiado (Ea.I.) (Tr).

V. Análise de variância dos dados obtidos da atividade da enzima  $\beta$ -N-Acetil-Hexosaminidase (Ec 3.2.1.52) (H), na porção posterior do epitélio do globo ocular de cães.

CV	GL	SQ	QM	F
Tempo (T)	2	0,002401	0,001201	0,025786
Res. a	6	0,279447	0,046575	
Parcela	8	0,281848		
Tratamento (Tr)	1	0,005868	0,005868	9,045087*
T X Tr	2	0,000340	0,000170	0,262042
Res. b	6	0,003893	0,000649	
Sub-Parcela	17	0,291949		

Os resultados desta análise de variância, mostra que não houve efeito significativo da atividade da N-Acetil-Hexosaminidase nos tempos (T) de 12, 24 e de 48 horas após irradiação dos olhos dos animais.

Contudo, verificamos que há um efeito significativo quando comparamos a atividade desta enzima na porção posterior do epitélio do globo ocular controle (EpC) e na porção posterior do globo ocular irradiado (EpI) (Tr). Realizando pois o teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade, obtivemos uma diferença mínima significativa ( $\Delta$ ) igual a 0,029.

Calculando-se as médias da atividade desta enzima na porção posterior do epitélio do globo ocular controle (EpC) e na porção posterior do epitélio do globo ocular irradiado (EpI.), temos que:

$$X_{EpC} = 0,4638 \quad e \quad X_{EpI} = 0,4272$$

A diferença entre elas, em valor absoluto, é maior que a diferença mínima significativa ( $\Delta$ ) que é 0,029.

Podemos então afirmar que em média existe uma diferença significativa da atividade desta enzima na porção posterior do epitélio do globo ocular controle (EpC) em relação à porção posterior do epitélio do globo ocular irradiado (EpI) (Tr).

Ainda esta análise nos mostra, que não houve um efeito significativo de interação entre a atividade desta enzima nos tempos (T) de 12, 24 e de 48 horas após irradiação e a atividade enzimática nas porções posteriores dos epitélios dos globos oculares controle (GpC) e irradiado (EpI.) (Tr).

VI. Análise de variância dos dados obtidos da atividade da enzima Fosfatase-Ácida (Ec 3.1.3.2.) (F.A.) no epitélio anterior do globo ocular de cães.



CV	GL	SQ	QM	F
Tempo (T)	2	0,004863	0,002432	3,4513
Res. a	6	0,004227	0,000705	
Parcela	8	0,009090		
Tratamento (Tr)	1	0,000228	0,000228	0,443580
T X Tr	2	0,000923	0,000462	0,897860
Res. b	6	0,003083	0,000514	
Sub-Parcela	17	0,013324		

Pelos resultados desta análise de variância, notamos que não houve efeito significativo da atividade desta enzima entre os tempos (T) de 12, 24 e de 48 horas após a irradiação dos olhos dos animais.

Também não houve um efeito significativo quando comparamos a atividade desta enzima na porção anterior do epitélio do globo ocular controle (Ea.C.) e na porção anterior do epitélio do globo ocular irradiado (Ea.I.) - (Tr).

Do mesmo modo, notamos que não houve um efeito significativo de interação, entre a atividade desta enzima nos tempos (T) de 12, 24 e de 48 horas após a irradiação e a atividade enzimática nas porções anteriores dos epitélios controle (EaC) e irradiado (EaI). (Tr).

VII - Análise de variância dos dados obtidos da atividade da enzima Fosfatase-Ácida (Ec 3.1.3.2) (F.A.), no epitélio posterior do globo ocular de cães.

CU	GL	SQ	QM	F
Tempo (T)	2	0,003742	0,001871	0,781096
Res. a	6	0,014372	0,002395	
Parcela	8	0,018114		
Tratamento (Tr)	1	0,000329	0,000329	0,853212
T X Tr	2	0,000471	0,000236	0,612030
Res. b	6	0,002314	0,000386	
Sub-Parcela	17	0,021228		

Os resultados desta análise de variância, mostra que não houve efeito significativo da atividade desta enzima entre os tempos (T) de 12, 24 e de 48 horas após a irradiação dos olhos dos animais.

Não houve também um efeito significativo quando comparamos a atividade desta enzima na porção posterior do epitélio do globo ocular controle (EpC) e na porção posterior do epitélio do globo ocular irradiado (EpI) (Tr).

Assim, observamos também que não houve um efeito significativo de interação entre a atividade desta enzima nos tempos (T) de 12, 24 e de 48 horas após a irradiação e a atividade enzimática nas porções posteriores dos epitélios controle (EpC) e irradiados (EpI) (Tr).

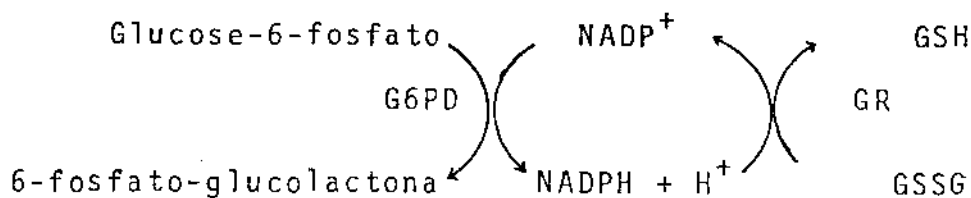
Capítulo VII  
DISCUSSÃO

7 - DISCUSSÃO

O cristalino do globo ocular contém aproximadamente 30% de proteínas que são fundamentais para o desempenho de sua função óptica. Tais proteínas, segundo BANKS e colaboradores (02), são divididas em proteínas  $\alpha$ ,  $\beta$  e  $\gamma$ , e denominadas de "cristalinas". Essas cristalinas apresentam uma alta porcentagem de cadeias laterais contendo radicais -SH, e, segundo os mesmos autores, estes radicais, identificadores do amino-ácido cisteína, precisam ser mantidos como tal para que essas proteínas continuem solúveis e a transparência do cristalino à luz seja assegurada.

A manutenção desses radicais -SH, nesta forma reduzida, é realizada pela glutathion reduzida (GSH), um tripeptídeo (glutamil-cisteinil-glicina) que é produzida na célula pela glutathion redutase (GR), enzima esta que reduz a glutathion oxidada (GSSG) utilizando como doador de eletrons a coenzima (NADP) nicotinamida adenina dinucleotídeo fosfato reduzido ( $\text{NADPH} + \text{H}^+$ ). O NADP reduzido é produzido na célula pela via das pentoses-fosfato, pela ação da glucose-6-fosfato desidrogenase (G6PD).

Estas reações são esquematizadas da seguinte maneira:



. Deste modo, a estrutura do cristalino depende da atividade enzimática da G6PD e da GR, para que se mantenha alta a concentração de glutathion reduzida (GSH), e assim impedir a oxidação de suas proteínas e a consequente perda da transparência do cristalino.

A catarata por radiação é um efeito que não surge de imediato, contudo os efeitos da radiação a nível celular são evidenciados a curto prazo.

De acordo com BARTLEY e colaboradores (03 ), uma diminuição na concentração da glutathion reduzida e na atividade da glutathion redutase são as alterações bioquímicas que acontecem no cristalino após a irradiação, e que precedem os sinais clínicos de opacidade. Infelizmente, estes autores não fazem referência à dosagem e nem ao tempo após irradiação, em que foram observadas essas modificações.

No presente trabalho, utilizamos um aparelho de raios X convencional para uso odontológico, e baixas doses de radiação, da ordem de 7,34 R, faixa em que pudemos detectar as primeiras alterações na cadeia enzimática. Tais níveis de radiação se aproximam daquelas recebidas por um paciente submetido a um exame radiográfico completo, em odontologia, conforme as determinações feitas por FREITAS (17 ) em 1976, por BÓSCOLO e colaboradores (08 ) em 1982 e DI HIPOLITO e colaboradores (13 ), onde tanto estes autores, como nós, nesta atual pesquisa, utilizamos os precisos e práticos dosímetros de LiF-700. Com tais níveis de radiação, não ob

servamos, em nenhum animal, qualquer alteração da pressão intra-ocular (PIO), tanto para mais como para menos.

Cabe salientar, que em toda a bibliografia a nosso alcance e relacionada nesta pesquisa, apenas os autores acima citados, e ainda NEMEC & ROTH (31) e ASHLEY (01), citam o tipo de dosímetro com que precisaram as doses de radiação empregadas em suas pesquisas, e que, coincidentemente, foram os dosímetros de LiF.

Aliás, pelo que notamos em todos os trabalhos consultados, relativos ao estudo de danos do globo ocular causados por radiação, os autores sempre utilizaram doses iguais ou acima de 200 rads, ao passo que em nossa pesquisa empregamos a baixa dose mencionada, de 7,34 R, mais condizente com a prática odontológica, como vimos frisando.

Lembramos, também, que essa dose de 7,34 R corresponde a um nível bem inferior à dose de 15 rads, a partir da qual se intensificam os casos de aparecimento de opacidade nos cristalinos de camundongos, e situa-se ainda mais distante da faixa de 20 a 45 rads, a partir da qual surge a opacidade no ser humano, segundo CASARETT (10).

Notamos em nossa pesquisa com essa baixa dose, uma diminuição da atividade da enzima glutathione reductase do cristalino foi observada 24 e 48 horas após a irradiação, em uma porcentagem a níveis de 16,24% e 31,58%, respectivamente (Tabela 1). Embora pelo método estatístico aqui adotado estas diferenças da atividade da enzima

GR, entre o cristalino controle e o irradiado, nos tempos estudados, não tenha alcançado o nível de significância, esta diminuição em percentual viria a confirmar os resultados de BARTLEY e colaboradores (03), e assim ratificariam a opinião, enunciada por esses pesquisadores, de que tal queda seria uma das causas da catarata.

Não constatamos alterações na atividade desta enzima no epitélio interno do globo ocular. Realmente, a atividade da enzima permaneceu constante, tanto no epitélio interno do olho controle como no epitélio do olho irradiado.

Quanto à glucose-6-fosfato, esta enzima apresentou, 24 horas após receber a baixa dose de radiação utilizada, um aumento de atividade da ordem de 18,77%, no epitélio que reveste internamente todo o globo ocular, índice este que 48 horas após a irradiação foi apenas 7,44% maior do que a atividade da enzima do epitélio controle (Tabela 2).

Pelos resultados e análise estatística, podemos notar que, embora as diferenças não sejam significantes ao nível de 5% de probabilidade, tanto com relação ao tempo como com relação à atividade enzimática, houve sim uma diminuição da atividade da enzima após 48 horas, em relação aos 18,77% notados nas 24 horas, aproximando-se desta forma do normal.

Entretanto, as atividades desta enzima (G6PD), no cristalino do globo ocular, apresentou nas 24 horas um aumento de atividade da ordem de 19,27% no globo

ocular irradiado, em relação ao controle; porém após 48 horas, obtivemos uma diminuição de 40,48% na atividade da enzima do olho irradiado em relação ao controle (Tabela 3), o que por si só poderia causar catarata. Contudo, ainda essas diferenças, tanto de atividade como de tempo, não foram estatisticamente significantes.

Os dados relatados acima evidenciam o aumento inicial da atividade da enzima e mostram que 24 horas depois desse aumento constatado, segue-se uma ponderável diminuição dessa atividade, o que vem corroborar a opinião de CASARETT (10), quando sugere que a radiação não age diretamente sobre as enzimas, o que está aliás de acordo com a baixa dose empregada.

Lembramos ainda que, segundo EVANS e colaboradores (16), com baixas doses ocorre inicialmente um comprometimento devido a desarranjo celular, anormalidade de seus elementos e nas migrações celulares e, deste modo, como consequência teremos uma ulterior diminuição de enzima, fenômeno este por nós observado na G6PD, pois inicialmente verificamos um aumento da atividade (24 horas), e posteriormente (48 horas) uma diminuição da atividade da enzima, da ordem de 40,48%.

Aliás, KELLER e colaboradores (25) em suas pesquisas também observaram a redução da atividade da enzima aldose redutase do cristalino, e que aparecia apenas 6 dias após a irradiação X, sendo que, após os 10 dias essa redução foi significamente menor, demonstrando dessa forma o efeito da radiação na cadeia enzi-



mática do globo ocular, fato este também observado por nós, nas enzimas desidrogenases e hidrolíticas, com baixa dose.

Lembramos também que, segundo HARTS e colaboradores (19), os tecidos animais são possuidores de altos níveis de superóxido desmutase, enzima que é um potente eliminador de radicais superóxidos, possuindo assim um evidente efeito radioprotetor; e o fato de não ser observado, por nós, o efeito da radiação sobre a atividade da glutathion redutase no epitélio interno do globo ocular, tanto em 24 como em 48 horas, poderia ter como explicação a presença daqueles níveis altos de superóxido redutase. Contudo, esta seria uma questão para maiores investigações.

Com relações às enzimas hidrolíticas estudadas, notamos que a atividade da enzima  $\beta$ -N-acetilhexosaminidase não apresentou uma diferença estatisticamente significativa quando medida no epitélio anterior do olho, nos tempos de 12, 24 e 48 horas após a irradiação, em relação ao olho controle. Contudo, observamos que houve uma pequena diminuição percentual da atividade dessa enzima, em relação ao epitélio anterior controle, da ordem de 5,34%, 12 horas após a irradiação.

Após 24 horas da irradiação, notamos que houve uma pequena diferença na atividade desta enzima em relação ao epitélio anterior controle da ordem de 3,69% a menos. Porém 48 horas após a irradiação, a ati

vidade enzimática do epitélio foi de 7,61% menor do que a do epitélio do olho controle (Tabela 4).

Também não obtivemos um efeito significativo da atividade desta enzima entre os tempo de 12, 24 e 48 horas após a irradiação, na porção posterior do epitélio interno do globo ocular. Porém obtivemos diferenças estatisticamente significantes entre a atividade da enzima no epitélio posterior interno do globo ocular controle, nos tempos de 12 e 48 horas. Essas diferenças foram da ordem de 8,25% e 9,43% menor no olho irradiado em relação ao controle, respectivamente (Tabela 5).

No tempo de 24 horas após a irradiação, a diferença da atividade desta mesma enzima,  $\beta$ -N-acetil-hexosaminidase, no epitélio posterior interno do globo ocular, em relação ao epitélio interno controle, não foi estatisticamente significativa; porém obtivemos uma diminuição da atividade enzimática, no epitélio irradiado, da ordem de 5,66%.

Como temos frisado, tais diferenças não se mostraram estatisticamente significante ao nível de 5% de probabilidade pelo método de análise de variância adotado. Não obstante, a repetição dos resultados, nos olhos irradiados, sempre um pouco menores do que os obtidos com os olhos controles, pode sugerir uma tendência reveladora de um fenômeno real, embora em escala diminuta.

A enzima hidrolítica fosfatase ácida também não apresentou uma diferença estatisticamente significan

te na sua atividade em relação aos tempos de 12, 24 e 48 horas após a irradiação, tanto no epitélio anterior interno como no epitélio posterior interno do globo ocular.

Assim também não obtivemos uma diferença significativa, quando comparamos o epitélio interno anterior e posterior, tanto irradiado como o controle.

Contudo, cabe-nos salientar que no tempo de 12 horas após a irradiação, observamos um pequeno aumento da atividade desta enzima tanto no epitélio interno anterior como no epitélio interno posterior do globo ocular, da ordem de 5,21% e 16,31% (Tabela 6 e 7) respectivamente. Embora, esses resultados não tenham se mostrado estatisticamente significantes, eles se apresentam de modo análogo aos resultados obtidos por HAYASAKA & HIN-LOK LAY (20), quando expuseram os animais à ação da luz contínua de baixa intensidade. É verdade que esses autores utilizaram radiação luminosa, uma onda eletromagnética de grande comprimento, enquanto que nós utilizamos a radiação X, de pequeno comprimento de onda; mas os resultados seguiram a mesma ordem de variação, ou seja, inicialmente um aumento da atividade enzimática, e nos tempos subsequentes, esse aumento decresce chegando, no nosso experimento, a diminuir no epitélio anterior, caindo para um valor negativo, de 12,56% (Tabela 6).

Contudo, deve ser salientado que a pequena variação em percentual por nós observada, nas enzimas

hidrolíticas, poderia ser esperada, pois, de acordo com CASARETT (10), alguns autores sugerem a hipótese da liberação enzimática, segundo a qual a radiação pode atuar pela quebra dos lisossomas ou de outras barreiras membranosas, permitindo portanto uma interação de enzimas e substrato, que normalmente são conservados separados em uma célula intacta.

Esses lisossomas têm sido chamados de "sacos suicidas", por sua capacidade de destruir, "lisar" a célula, quando em liberdade, promovendo a digestão dos constituintes celulares. É verdade que essa liberação lisossomal exige doses altas de radiação, o que não ocorre em nosso trabalho. CASARETT (10) cita pesquisas que sugerem que a radiação pode ocasionar transformações sutis, provenientes de mudanças na permeabilidade de membranas, com consequentes transferências de ions  $Ca^+$ ,  $K^+$  e  $Na^+$ , "importantes para as funções celulares", frisando entretanto que não há evidência experimental que demonstre conclusivamente que as mudanças da permeabilidade ou as liberações enzimáticas resultantes sejam responsáveis mais do que parcialmente (SiC) para as mudanças celulares que resultam de doses moderadas de radiação.

Devemos salientar, ainda, que em nossa pesquisa não encontramos alterações na atividade das enzimas estudadas, em tempos menores que 12 horas após a irradiação. Isto também ocorreu na pesquisa realizada por MACHEMER e colaboradores (29), citados por HAYE (21),

em que aqueles autores estudaram as modificações precoces no epitélio da córnea de ratos, submetidos a irradiação de 600 a 6.000 R. Observaram os autores que nas 6 horas subsequentes à radiação não houve nenhuma modificação na síntese de DNA, e que esta só se dá ao final de 12 horas, quando então uma diminuição na síntese de DNA pode ser observada.

Pelos dados objetivados na discussão, surge como imperativo a proteção para os olhos, durante a execução de exames radiográficos da cabeça.

Tal necessidade já fora reconhecida por alguns autores, como ISHERWOOD e colaboradores ( 23 ) e ROTH e colaboradores (35 ), mas estranhamente não tem surgido como uma preocupação constante nos vários trabalhos que analisamos em nossa pesquisa, embora os efeitos da radiação tenham ficado evidenciados.

Em 1975, ISHERWOOD e colaboradores (23 ) salientam essa necessidade, e citam CHIN e colaboradores ( 11 ) e KROHMER ( 28 ), que recomendam uma proteção para os olhos, por meio de lâmina de chumbo de 2 milímetros de espessura, em casos de radiografia da cabeça (tomografia do temporal)

A esse respeito, ISHERWOOD e colaboradores ( 23 ), provaram a eficiência dos óculos de chumbo, e lembram que a máxima radiação suportada, sem danos, pela córnea e cristalino é da ordem de 60 rads — que está aliás muito acima das doses médias utilizadas em Odontologia.

Devemos lembrar também que os efeitos danosos sobre os olhos não surgem apenas em relação às cadeias enzimáticas, mas também nos vasos sanguíneos, estruturas epiteliais e glândulas sebáceas, como lembra ROTH e colaboradores (35).

A atuação danosa da radiação sobre os vasos sanguíneos foi também objeto de estudo de FUKAMI (18), tendo esse autor apresentado mesmo a hipótese de que a catarata pode ser causada por insuficiência circulatória, a nível dos capilares que fornecem nutrição para a íris e corpo ciliar.

Por último, convém lembrar que, embora todas as experiências tenham sido feitas com mamíferos, gêneros diferentes apresentam também diferentes respostas aos efeitos da radiação. Assim é que BROWN e colaboradores (09), fizeram experiências com olhos de bovinos, suínos e muares, não encontrando, em geral, nesses animais, danos consequentes à irradiação até 850 rads, exceto nos bois, cujos olhos mostraram injúrias em 6,7% dos espécimes. Tal fato deve alertar os pesquisadores para a possibilidade de uma experiência feita com animais poder não ser totalmente conclusiva para o ser humano, sugerindo pois que, em relação a este, seja tomado um cuidado especial mesmo com dosagem aparentemente considerada inócua.

O assunto é tão grave — a perda da visão por opacificação do cristalino — que a adoção de um "coeficiente de segurança" não deve ser despreza

da. Faz-se radiação para diagnosticar ou curar. Que o método não venha, ele próprio, determinar outros danos não previstos.

Capítulo VIII

CONCLUSÕES



## 8 - CONCLUSÕES

1. A quantidade de radiação de 7,34 R — dose esta que não difere muito daquelas que atingiram os olhos de um paciente humano num exame radiodentológico completo — quando incidiu em olhos de cães, em comparação com olhos controle não irradiados, provocou os seguintes resultados.

- a) - uma redução da atividade da enzima GR do cristalino, da ordem de 16,24% no tempo de 24 horas, e 31,58% no tempo de 48 horas após a irradiação.
- b) - um aumento da atividade da enzima G6PD do epitélio da ordem de 18,77% no tempo de 24 horas, caindo este aumento para 7,44% no tempo de 48 horas após a irradiação.
- c) - um aumento da atividade da enzima G6PD do cristalino, da ordem de 19,27% no tempo de 24 horas, caindo para valores negativos de -40,48% no tempo de 48 horas após irradiação.
- d) - uma redução da atividade da enzima H do epitélio interno, tanto na porção anterior como na posterior, da ordem de 5,34% e 8,25%, respectivamente, nas primeiras 12 horas; 3,69% e 5,66%, respectivamente, após 24 horas, e 7,61% e 9,43%, respectivamente, no tempo 48 horas após a irradiação.

e) - um aumento inicial da atividade da enzima FA do epitélio interno, tanto na porção anterior como na posterior, da ordem de 5,21% e 16,31%, respectivamente, nas primeiras 12 horas após a irradiação; seguida de uma queda para valores negativos de -3,73% na porção anterior, e valor positivo de 1,67% na porção posterior, após 24 horas, e finalmente um valor negativo de -12,67% na porção anterior, e um valor positivo de 0,66% na porção posterior, no tempo de 48 horas após a irradiação.

2. Os dosímetros termoluminescentes de LiF-700 mostraram-se precisos na determinação de baixas doses de radiação, constituindo-se além disso num processo de fácil utilização.
3. As variações constatadas no nível de atividade das enzimas oculares, decorrentes da incidência de baixas doses de radiação, sugerem necessidade de proteção para os olhos dos pacientes submetidos a exames radiodontológicos, seja pela melhor utilização do feixe central da radiação, por meio de filtros, diafragmas e colimadores adicionais, seja pelo uso de anteparos adaptados à face do paciente.

Capítulo IX  
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 01 - ASHLEY, J. A. Radiation dose to the eyes of patients during petrons bone tomography. A comparative survey. Radiography, 43(514):211-6. Oct. 1977.
- 02 - BANKS, P.; BARTLEY, W.; BIRT, L.M. The biochemistry of the tissues. 2. ed. Chichester, John Wiley & Sons, 1979.
- 03 - BARTLEY, W.; BIRT, L.M.; BANKS, P. The biochemistry of the tissues. London, John Wiley & Sons, 1971.
- 04 - BEER. 1797. Repertorium aller bis 2. Ende d. Jahres Apud EDBROOKE, C.M. & EDWARDS, C., op. cit.ref.13.
- 05 - BERGMAYER, H.V.; GAWEHN, K.; GRASSAL, M. In Methods of Enzymatic analysis. 2. ed. New York, Verlag-Chemie, 1974. v.1., p. 425-522.
- 06 - BERGSTROM, K.; HOLMSTROM, L.; LODIN, H.; NYTEN, O. Transverse tomography with mimer III. Acta radiol., 27:641-9, 1971.
- 07 - BIRENBAUM, L.; GROSOFF, G.M.; ROSENTHAL, S.W.; ZARET, M.M. Effect of microwaves on the eye. Bio. Med. Engng, 16(1):7-14, Jan. 1969.
- 08 - BÓSCOLO, F.N.; GONÇALVES, N.; DI HIPOLITO JR.; O.; MONTEBELO FILHO, A. Contribuição ao estudo da quantidade de radiação que atinge os órgãos críticos do paciente, durante um exame radiográfico. Revta paul. Odont., 4(4):20-31, jul./ago. 1982.
- 09 - BROWN, D.G.; MAGRANE, W.G.; CROSS, F.N.; REYNOLDS, R. A. Clinical observations of eyes of cattle,

- swinw and burros surviving exposure to gama and mixed neutron-gamma radiation. Am. J. vet. Res., 33(2):309-15, Feb. 1972.
- 10 - CASARETT, A.P. Radiation biology. New Jersey, Prentice-Hall, 1968.
- 11 - CHIN, F.K.; ANDERSON, W.B.; GILBERTSON, J.D. Radiation dose to critical organs during petrons tomography. Radiology, 94:623-7, 1970.
- 12 - CROOKES, W. Preparation of eye preserving glass for spectacles. Phil. Trans. R. Soc., 214 A:1-25, 1914.
- 13 - DI HIPOLITO JR., O.; GONÇALVES, N.; BÓSCOLO, F. N.; MONTEBELO FILHO, A. Determinação pelo método da dosimetria termoluminescente, das doses de radiação incidentes em órgãos críticos, durante a obtenção de radiografias cefalométricas. Revt. Ass. paul. Cirurg. dent. (No prelo).
- 14 - EDBROOKE, C.M. & EDWARDS, C. Industrial radiation cazaract: the harzards and the protective measures. Ann. occup. Hyg., 10:293-304, 1967.
- 15 - EGGLESTON, L.V. & KREBS, H. A. Regulation of the pentose phosphatic cycle. Biochem. J., London, 138:426-35, 1974.
- 16 - EVANS, T. C.; RICHARDS, R.D; RILEY, E.F. Histologic studies of neutron-and X inradiated mouse lenses. Radiat. Res., 13:737-50, 1960.
- 17 - FREITAS, L. Determinação, por termoluminescência, de doses de radiação incidentes em órgãos críticos, em pacientes edêntulos e crianças com denti

- ção mista. Piracicaba, 1976 Tese (Doutoramento)-  
F.O.P. UNICAMP.
- 18 - FUKAMI, Y. Studies on the cause radiation cataract.  
Nippon Genka Gakkai Zasshi, 84(7):594-601, July,  
1980.
- 19 - HARTS, J.M.; DEUTSCH, H.F.; FUNAKOSI, S. Clin. Chem.  
Acta, 46:125-32, 1973. Apud SYMONYAN, M. A. &  
NALBANDYAN, R.M. The effect of X-rays on proper  
ties of superoxide de dismutase. Biochem. biophys.  
Res. Commun, 90(4):1207-13, Oct., 1979.
- 20 - HAYASAKA, S. & LAY, HIN-LOK. Effect of continous  
low intensity light on the lysosomal enzymes in  
the retina of albino rats. Expl. Eye Res., 29:123-  
9, 1979.
- 21 - HAYE, C. L'oeil et les radiations ionizantes. Archs  
Ophthalm., Paris, 31(11):831-3, Nov. 1971.
- 22 - HEISTER. De oculorum suffusione sive cataracta. Ams  
terdam, 1739. 598 p. Apud EDBROOKE, C. M. &  
EDWARDS, C. op. cit. ref. 13.
- 23 - ISHERWOOD, I.; YOUNG, I.M.; BOWKER, K.M.; BRAMALL, G.  
K. Radiation dose to the eyes the patient during  
neuro-radiological investigations. Neuroradiology,  
10(3):137-41, 1975.
- 24 - ISMAIL, S.; SOLIMAN, A.M.; HOSNY, F.; MAHFOUZ, M. ;  
HASHISH, S. Effect of ionizing radiations on the  
lens. Bull.Ophthalm. Soc. Egypte, 64:379-82, 1971.
- 25 - KELLER, H.W.; STINNESBECK, I.; HOCKWIN, O.M.; RINK,  
H. Investigations on the influence of whole body  
X-irradiatuib in the activity of rat lens aldose

- recuctase. Albrecht v. Graefes Arch. Klin. exp. Ophthal., 215:181-6, 1981.
- 26 - KELLS, C.E. The New Orleans States. New Orleans , May 8, 1928.
- 27 - KOPT, A.W.; GRISEWOOD, E.N.; BART, B.S.; PETRATOS , M.; WINGATE, C. X-irradiation of ocular tissues measured by thermoluminescent dosimetry. J. Invest. Derm., 49(4):512-8, Oct. 1967.
- 28 - KROHMER, J.S. Patient dose distributions during hypocycloidal tomography. Radiology, 103:447-50, 1972.
- 29 - MACHEMER, R.; SUECHTING, P.; SHUSTER, R.; WOLFERS, W. Early changes in the epithelium of rat cornea after irradiation. Albrecht v. Graefes Arch. Klin. exp. Ophthal., 170:311-22, 1966.
- 30 - MERRIAM, G.R. & FOCHT, E.F. A Clinical study of radiation cataracts and the relationship to dose . Am. J. Roentg., 77(5):759-85, May 1957.
- 31 - NEMEC, H.W. & ROTH, J. Über die strahlenbelastung des kopfes, insbesondere der augenlinsem, bei der axialen tomographie mit dem emi-scanner . Fortschr. Geb. RontgStrahl. NuklMed., 124(6):526-30, 1976.
- 32 - PARKER, R.G.; BURNETT, L.L.; WOOTTON, P.; MCINTYRE, D.J. Radiation cataract in clinical therapeutic radiology. Radiology, 82(4):794-8, Apr. 1964.
- 33 - PLENK. Lehre v. d. Augenkr., 266. Wien, 1778. Apud EDBROOKE, C.M. & EDWARDS, C., op. cit. ref. 13.

- 34 - RICHARDS, R.D. & MICHAELIS, M. X-Ray injury lens epithelium effect of half-shieldino on acid phosphatase in rabbits. Expl. Eye Res., 12(3):293-7, Nov., 1971.
- 35 - ROTH, J.; BROWN, N.; CATTERALL, M.; BEAL, A. Effects of fast neutrons on the eye. Br. J. Ophthalm., 60(4):236-44, Apr., 1976.
- 36 - SASSAKI, K. T. & NICOLAU, J. The effect of isoproterenol on some aspects of the anaerobic metabolism of carbohydrates in mouse submandibular gland. Gen. Pharmac., 13:353-6, 1982.
- 37 - STONE, R.S. The concept of maximum permissible exposure. Radiology, 58(5):639-60, May, 1952.
- 38 - SYMONYAN, M.A. & NALBANDYAN, R.M. The effect of X-rays on properties. Biochem. Biophys. Res. Commun., 90(4):1207-13, Oct. 1979.
- 39 - VOGT, A. 1912. Albrecht v. Graefes Arch. Klin. exp. Ophthalm., 83:99, 1930. Apud EDBROOKE, C.M & EDWARDS, C., op. cit. ref. 13.
- 40 - WENZEL. Traitē de la cataracte. 1786. Apud EDBROOKE, C.M. & EDWARDS, C., Op. cit. ref. 13.