

HUGO TADASHI OSHIRO TÁVORA

**ESTUDO COMPARATIVO ENTRE O NÚMERO DE MITOSES
DO EPITÉLIO DAS CÓRNEAS DE RATOS ALBINOS
WISTAR MANTIDOS EM ILUMINAÇÃO NATURAL E
SUBMETIDOS À EXPOSIÇÃO CONTÍNUA DE LUZ
FLUORESCENTE POR 48 HORAS**

Trabalho apresentado à Universidade
Federal de Santa Catarina, como requisito
para a conclusão do Curso de Graduação
em Medicina.

Florianópolis
Universidade Federal de Santa Catarina

2007

HUGO TADASHI OSHIRO TÁVORA

**ESTUDO COMPARATIVO ENTRE O NÚMERO DE MITOSES
DO EPITÉLIO DAS CÓRNEAS DE RATOS ALBINOS
WISTAR MANTIDOS EM ILUMINAÇÃO NATURAL E
SUBMETIDOS À EXPOSIÇÃO CONTÍNUA DE LUZ
FLUORESCENTE POR 48 HORAS**

Trabalho apresentado à Universidade
Federal de Santa Catarina, como requisito
para a conclusão do Curso de Graduação
em Medicina.

Presidente do Colegiado: Prof. Dr. Maurício José Lopes Pereira

Orientador: Prof. Dr. Augusto Adam Netto

Co-Orientador: Prof. Dr. Ricardo Tramonte

Florianópolis

Universidade Federal de Santa Catarina

2007

Dedicatória

Aos meus avós Hanshin Oshiro,
Rosária Oshiro, Clemente Távora
(*in memorian*) e Maria Távora.

AGRADECIMENTOS

Aos meus pais, Francisco José Trindade Távora e Celis Hideco Oshiro Távora, que, durante todo o tempo, ensinaram-me os valores e virtudes da vida e me apoiaram em todas as minhas realizações, principalmente o curso de Medicina. Amo vocês.

Aos meus irmãos, Renata Kazumi, Nelson Yasuo e Carolina Akemi, por me suportarem durante todos esses anos e sempre estarem prontos a me ajudar. Meu muito obrigado. Saudades de vocês.

Aos meus cunhados, Marcello Pacheco, Vanessa Cardoso e Vagner Pereira, por trazerem muitas alegrias e risadas à minha vida.

Ao meu afilhado, Antônio Yoshi, simplesmente por ser muito especial. Adoro-te, baixinho.

A Osni Silva Júnior, Maria Conceição, Renata Elisa e Felipe Camargo, por me incentivarem quando mais precisei.

Ao meu orientador, Augusto Adam Netto, por acreditar no meu potencial e pelos inúmeros ensinamentos na área de Oftalmologia – minha paixão na Medicina.

Aos meus professores na disciplina de Histologia, Ricardo Tramonte e Viviane Mara Woehl, por ensinarem a minha segunda paixão na Medicina e instigarem o meu interesse pela área de pesquisa.

Aos meus amigos de internato Christie Marie Schweitzer, Darlan Barboza e Diego Leonardo Bet, pelo apoio, ensino e ajuda constantes durante o curso. Vocês têm lugar especial no meu coração.

Por fim, e não menos importante, a Ana Beatriz Schmitt Silva. Não tenho palavras para descrever o quão importante foste para mim nestes anos. Sempre estiveste ao meu lado e nunca me deixaste desanimar, motivando-me sempre a alcançar os objetivos traçados. Agradeço pelos momentos alegres que passamos e pelos que iremos passar. Eu te amo.

RESUMO

Introdução: O epitélio da córnea é vulnerável a injúrias, o qual é passível de reparação por meio da migração de células que sofreram mitoses no centro e, principalmente, na região periférica. A luz fluorescente, amplamente utilizada em residências, escritórios e fábricas, está relacionada com várias queixas oculares e lesões nas córneas.

Objetivo: Avaliar o número de figuras de mitose no epitélio das córneas de ratos albinos Wistar, mantidos no ciclo dia-noite natural e expostos à luz fluorescente contínua durante 48 horas.

Material e métodos: Vinte ratos albinos Wistar foram divididos em um grupo controle (n=5) e um grupo exposto à luz fluorescente (n=15). O grupo controle foi submetido a uma iluminação natural com ciclo dia-noite por 48 horas, enquanto o grupo exposto foi sujeito à iluminação contínua com 6 lâmpadas fluorescentes de 20W por 48 horas. As córneas foram removidas cirurgicamente, prensadas em lâminas e coradas pela reação de Feulgen-Rossenbeck. Utilizou-se microscópio óptico para a análise das lâminas, aferindo-se o número de figuras de mitose em 5 áreas (1 central e 4 periféricas).

Resultados: Houve redução de 8,52% na média de figuras de mitose na região central das córneas dos ratos expostos à luz fluorescente em relação ao grupo controle. O grupo exposto apresentou, ainda, na região periférica, um aumento de 24,67% na média de figuras de mitose, comparadas ao grupo controle.

Conclusão: Ocorreu diminuição no número de figuras de mitose na área central e aumento na área periférica das córneas dos ratos albinos Wistar expostos à luz fluorescente durante 48 horas contínuas.

ABSTRACT

Background: Corneal epithelium is vulnerable to injuries, and it can be repaired through migration of cells provided by mitosis both in its central and its peripheral sites, especially in the latter. Fluorescent light, widely used at homes, offices and factories, is related to many ocular complaints and lesions in cornea.

Objective: Evaluate the number of mitosis figures on epithelium of corneas from albino Wistar rats kept in day-night cycle and exposed to continuous fluorescent light for 48 hours.

Material and methods: Twenty albino Wistar rats were divided in two groups: a control group (n=5) and another group (n=15) exposed to fluorescent light. The former was submitted to natural illumination with day-night cycle for 48 hours, and the latter was submitted to a continuous exposure to six 20W fluorescent lamps for 48 hours. The corneas were surgically removed, pressed in microscope slides and stained by Feulgen-Rossenbeck reaction for evaluation with the light microscope. The amount of mitosis figures was evaluated in 5 sites (1 central and 4 peripheral).

Results: There was an average reduction of 8,52% on mitosis figures in central site of corneas from rats exposed to fluorescent light compared to control group. Peripheral sites of exposed group presented with an average increase of 24,67% on mitosis figures compared to control group.

Conclusion: A decrease on mitosis figures in central site and an increase in peripheral sites occurred when albino Wistar rats were exposed to fluorescent light for continuous 48 hours.

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

CEUA	Comitê de Ética para o Uso de Animais
DNA	Ácido desoxirribonucleico
UFSC	Universidade Federal de Santa Catarina
UV	Ultravioleta

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – A – Epitélio; B – Membrana de Bowman; C – Estroma; D – Membrana de Descemet; E – Endotélio.....	1
Figura 2 – Lâminas após a confecção, adquirindo a forma de uma cruz-de-malta.....	6
Figura 3 – Lâmina apresentando duas córneas coradas pela reação de Feulgen-Rossenbeck..	7
Figura 4 – Área central de córnea de rato do grupo controle apresentando figuras de mitose (setas).....	8
Figura 5 – Área central de córnea de rato do grupo controle apresentando figuras de mitose (setas).....	9
Figura 6 – Área periférica de córnea de rato do grupo controle apresentando figuras de mitose (setas).....	9
Figura 7 - Área central de córnea de rato do grupo exposto à luz fluorescente apresentando figuras de mitose (setas).....	10
Figura 8 – Área periférica de córnea de rato do grupo exposto à luz fluorescente apresentando figuras de mitose (setas).....	10

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Número de figuras de mitose nas córneas do grupo controle.....	11
Tabela 2 – Número de figuras de mitose nas córneas do grupo exposto à luz fluorescente.	12

LISTA DE ANEXOS

Anexo 1 - Técnica para a reação de Feulgen-Rossenbeck.....	21
Anexo 2 - Documento encaminhado ao CEUA.....	23

SUMÁRIO

FALSA FOLHA DE ROSTO.....	i
FOLHA DE ROSTO.....	ii
DEDICATÓRIA.....	iii
AGRADECIMENTOS.....	iv
RESUMO.....	v
ABSTRACT.....	vi
LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS.....	vii
LISTA DE FIGURAS.....	viii
LISTA DE TABELAS.....	ix
LISTA DE ANEXOS.....	x
SUMÁRIO.....	xi
1 INTRODUÇÃO.....	1
2 OBJETIVO.....	4
3 MATERIAL E MÉTODOS.....	5
3.1 Material.....	5
3.1.1 Animais.....	5
3.1.2 Grupos de animais.....	5
3.1.2.1 Grupo controle.....	5
3.1.2.2 Grupo exposto à luz fluorescente.....	5
3.2 Métodos.....	5
3.2.1 Animais.....	5
3.2.2 Confecção das lâminas.....	6
3.2.3 Análise das lâminas.....	7
4 RESULTADOS.....	11
5 DISCUSSÃO.....	13
6 CONCLUSÃO.....	16
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	17
NORMAS ADOTADAS.....	19

ANEXOS..... 20

1 INTRODUÇÃO

A córnea humana é uma estrutura transparente presente na porção anterior do bulbo ocular e apresenta-se como o principal meio de refração da luz no olho – manifesta um poder de refração de aproximadamente 43 dioptrias.¹ Ela possui uma espessura de 0,52mm no centro, a qual aumenta progressivamente em direção à periferia, onde atinge cerca de 0,65mm. A córnea é avascular e sensível ao toque, sendo inervada pelo nervo oftálmico. Por ser avascular, sua nutrição é realizada pelo humor aquoso, e a absorção de oxigênio é feita diretamente do ar.²

Histologicamente, a córnea é composta por cinco camadas (fig. 1), a saber: o epitélio, com tecido epitelial do tipo estratificado pavimentoso não queratinizado; a membrana de Bowman, constituída de fibras de colágeno do tipo 1 e por fibras nervosas sensitivas do nervo oftálmico; o estroma, formado por fibras colágenas do tipo 1, fibras elásticas e fibroblastos; a membrana de Descemet, que representa a camada basal do endotélio; e o endotélio, com tecido epitelial do tipo pavimentoso simples.^{3,4}



Figura 1 – A – Epitélio; B – Membrana de Bowman; C – Estroma; D – Membrana de Descemet; E – Endotélio. (500x)

Modificado de Internet Atlas of Histology, COM-UIUC.⁵

O epitélio é composto por cinco a seis camadas de células, as quais são substituídas em um período de cerca de sete dias, por meio de proliferação celular nas camadas basais,

principalmente na região periférica. Eventuais lesões são reparadas pela migração de células que sofreram mitoses na periferia para as regiões lesadas.⁴

Lesões na córnea são acontecimentos comuns em oftalmologia. Essas lesões são provocadas por diferentes fatores, tais como: uso de lentes de contato de forma irregular (uso por tempo prolongado ou durante o sono), presença de corpos estranhos (partículas de vidro, partículas de metal, etc.), iatrogenia, ou exposição elevada aos raios ultravioleta (presente na lâmpada fluorescente).^{6,7}

A lâmpada fluorescente começou a ser produzida em escala comercial no ano de 1938. Consiste em um tubo de vidro selado que contém uma pequena quantidade de mercúrio, um gás inerte – geralmente gás argônio – e dois eletrodos. Revestindo internamente o tubo, há uma camada de substância fosforescente. Quando a lâmpada é ligada, a corrente elétrica passa através dos eletrodos e, devido à diferença de potencial entre estes, os elétrons fluem de um eletrodo para o outro. Esses elétrons vaporizam o mercúrio e excitam os elétrons do átomo deste, que, quando retornam ao seu estado natural, liberam energia na forma de fótons, com comprimento de onda ultravioleta, a qual não é visível ao olho humano. Essa luz ultravioleta excita os átomos na camada de substância fosforescente no interior do tubo e gera a luz branca visível ao olho humano.^{8,9}

Por ter uma vida média maior e ser mais econômica, a lâmpada fluorescente passou a ser amplamente utilizada em fábricas, escritórios e residências. Estudos realizados por empresas produtoras de lâmpadas fluorescentes apresentaram dados indicativos de aumento na produtividade de trabalhadores em ambientes bem iluminados com lâmpadas fluorescentes.¹⁰ Entretanto, outros estudos relataram que trabalhadores e residentes destes ambientes passaram a ter freqüentes queixas de olhos vermelhos, cefaléia e fadiga ocular.^{11,12} Esses sintomas oculares acrescidos de sintomas respiratórios constituem a “Sick Building Syndrome”.^{13,14}

Diversos estudos foram realizados com o objetivo de explicar os sintomas apresentados por esses trabalhadores. Estudos que utilizaram a luz UV – presente na formação da luz fluorescente – como fonte de luz, demonstraram o aparecimento de lesões no bulbo ocular.

As principais desordens que ocorrem na córnea, quando exposta à luz UV, são a fotoceratite, a pinguécua e o pterígio.¹⁵⁻¹⁸ Tais lesões se devem ao fato de que a luz UV é absorvida pelo DNA e pelas proteínas presentes nas células do epitélio da córnea^{15,18}, o que poderia promover danos na estrutura do material genético dessas células. Os mecanismos de regeneração da córnea impedem que a lesão seja permanente.¹⁸

Poucos trabalhos demonstram os efeitos da luz fluorescente sobre as diversas estruturas do globo ocular. Adam Netto¹⁹ relatou que ratos que foram expostos à luz fluorescente apresentaram degeneração da retina, das fibras musculares dos músculos extraoculares, e diminuição do número de fibras nervosas que inervam o músculo dilatador da pupila. Pitts *et al*²⁰ demonstraram ser a luz fluorescente causadora de danos na córnea, cristalino e retina.

Face ao escasso número de publicações sobre o tema, resolvemos investigar as alterações provocadas nas mitoses do epitélio das córneas de ratos albinos Wistar submetidos à exposição contínua de luz fluorescente durante 48 horas.

2 OBJETIVO

O presente trabalho tem como objetivo comparar o número de figuras de mitose no epitélio das córneas de ratos albinos Wistar, quando mantidos no ciclo dia-noite natural e quando expostos à luz fluorescente contínua durante 48 horas.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Material

3.1.1 Animais

Foram utilizados, no presente trabalho, 20 ratos albinos (*Rattus norvegicus albinus*) da variedade Wistar, de ambos os sexos, com pesos de aproximadamente 130g, obtidos do biotério central da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo.

3.1.2 Grupos de animais

3.1.2.1 Grupo controle

Constituído por 5 animais com pesos de aproximadamente 130g, de ambos os sexos, mantidos no laboratório em iluminação cíclica natural (ciclo dia-noite), durante as 48 horas posteriores à chegada do biotério central. Receberam, nesse período, alimentação e água à vontade.

3.1.2.2 Grupo exposto à luz fluorescente

Constituído por 15 animais de aproximadamente 130g de peso, de ambos os sexos, introduzidos em gaiola transparente de “plexiglass”, cujas dimensões eram 41cm de comprimento x 19,5cm de largura x 18cm de altura. Os animais foram mantidos em câmara escura e submetidos à iluminação contínua de 6 lâmpadas fluorescentes OSRAM, 20 watts, “rapid start”, luz do dia, KZT, durante 48 horas. As lâmpadas foram montadas em calhas e mantidas por um suporte, a uma distância de 30cm do fundo da gaiola. A temperatura média no interior da gaiola foi de aproximadamente 34,5°C, e a ventilação era normal. Durante todo o período de exposição à luz fluorescente, os animais receberam água e alimentação à vontade.

3.2 Métodos

3.2.1 Animais

Os animais foram submetidos a uma seleção prévia realizada por meio de avaliação clínico-macroscópica dos olhos de cada rato, sendo excluídos aqueles que apresentassem qualquer anormalidade ocular visível. Os animais que morreram durante o experimento não foram analisados.

A alimentação e a água de ambos os grupos de ratos eram renovadas diariamente, ocasião na qual se observava o comportamento, estado geral e inspecionavam-se as condições oculares de cada animal.

Os 20 animais foram sacrificados por inalação de éter etílico, sendo em seguida realizada a enucleação do bulbo ocular e remoção sob lupa binocular (40x) da córnea, através de incisão circular no limbo córneo-escleral. Após a retirada da córnea, foram realizadas quatro incisões radiais direcionadas da periferia ao centro da mesma.

3.2.2 Confeção das lâminas

As córneas foram conservadas em formalina (formol a 10%) por 24 horas e posteriormente fixadas em lâmina para análise sob microscopia óptica. As córneas foram prensadas entre a lâmina e lamínula, adquirindo, assim, a forma de uma cruz-de-malta (fig. 2).



Figura 2 – Lâminas após a confecção, adquirindo a forma de uma cruz-de-malta.

O método de coloração utilizado foi a reação de Feulgen-Rossenbeck (fig. 3), que utiliza corantes específicos para a cromatina. Essa reação foi desenvolvida por Feulgen e Rossenbeck no ano de 1924, e consiste em uma hidrólise ácida moderada com o DNA perdendo a união entre a molécula de glicídio e suas bases púricas. O reativo de Schiff reage com o tautômero de forma aldeídica deste glicídio separado, originando a coloração vermelho-arroxeadado observada.²¹



Figura 3 – Lâmina apresentando duas córneas coradas pela reação de Feulgen-Rossenbeck.

A técnica completa encontra-se descrita no Anexo 1.

3.2.3 Análise das lâminas

As lâminas foram analisadas no Laboratório de Histologia do Departamento de Ciências Morfológicas da UFSC, com o auxílio do fotomicroscópio Nikon-Labophot-2, no qual foi utilizada uma lente ocular de 10x em composição com uma lente objetiva de 40x.

Foram analisadas cinco áreas em cada córnea, sendo uma área central (Área 1) e quatro áreas periféricas (Áreas 2, 3, 4 e 5). Cada área possui forma retangular com medidas $333,7\mu\text{m} \times 234\mu\text{m}$, perfazendo uma área total de $78.085,8\mu\text{m}^2$.

O parâmetro utilizado para a avaliação morfométrica foi o número de figuras de mitose em cada área. Essa análise é possível quando há uma condensação da cromatina, pois a reação de Feulgen-Rossenbeck a cora intensamente, o que permite a visualização das figuras de mitose.

As fotos das lâminas foram obtidas no Laboratório de Neurobiologia e Hematologia Celular e Molecular do Departamento de Biologia Celular, Embriologia e Genética da UFSC, com o uso do fotomicroscópio Olympus IX71, permitindo a documentação das alterações observadas (figuras 4, 5, 6, 7, 8, 9 e 10).

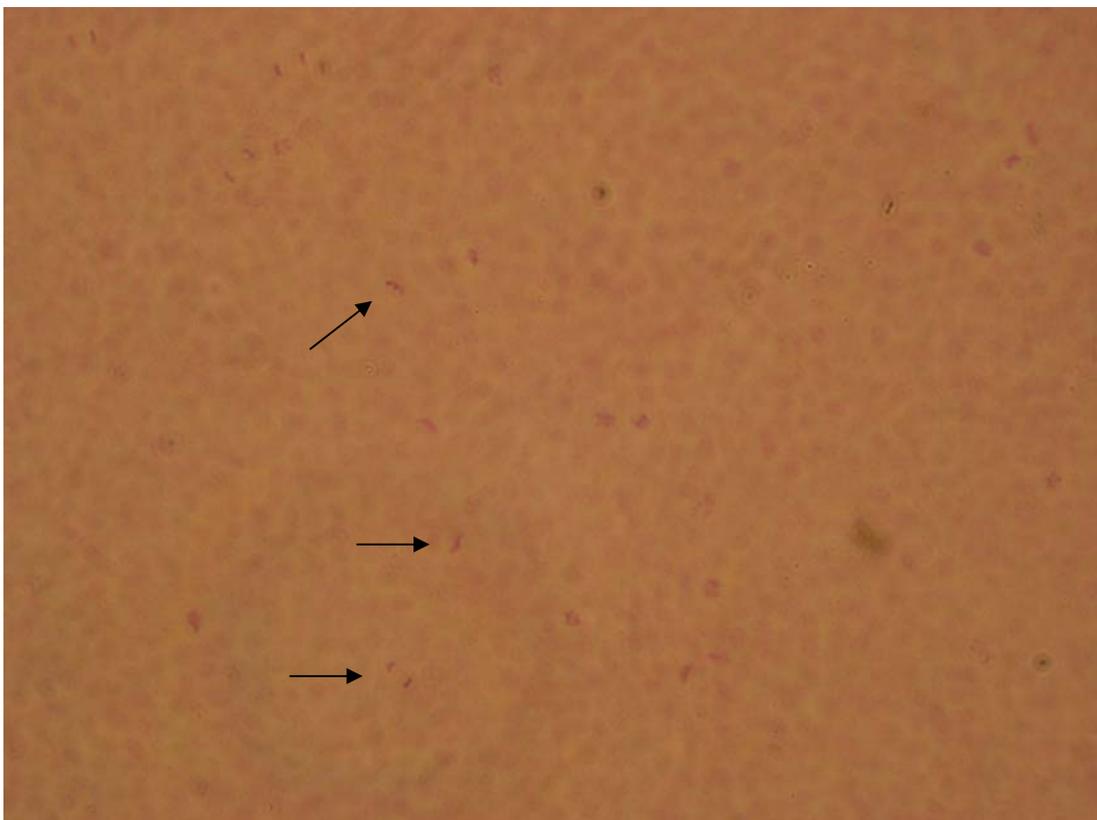


Figura 4 – Área central de córnea de rato do grupo controle apresentando figuras de mitose (setas). (400x)

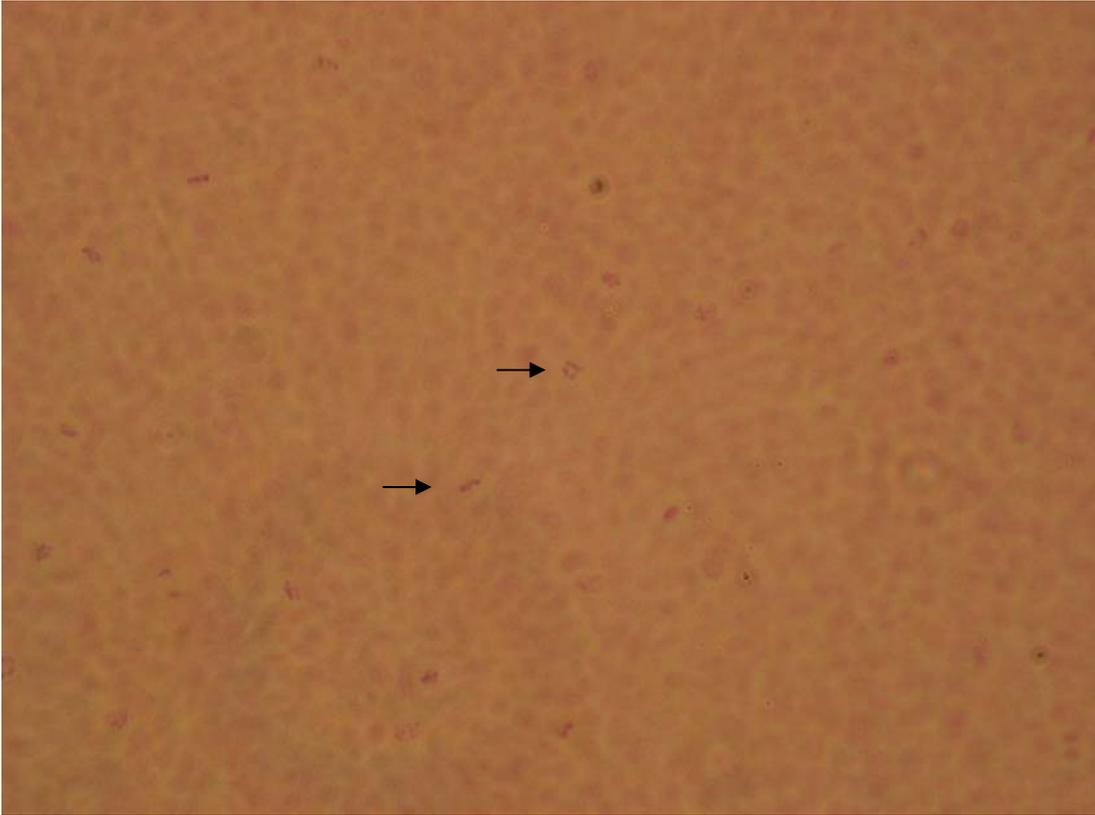


Figura 5 – Área central de córnea de rato do grupo controle apresentando figuras de mitose (setas). (400x)

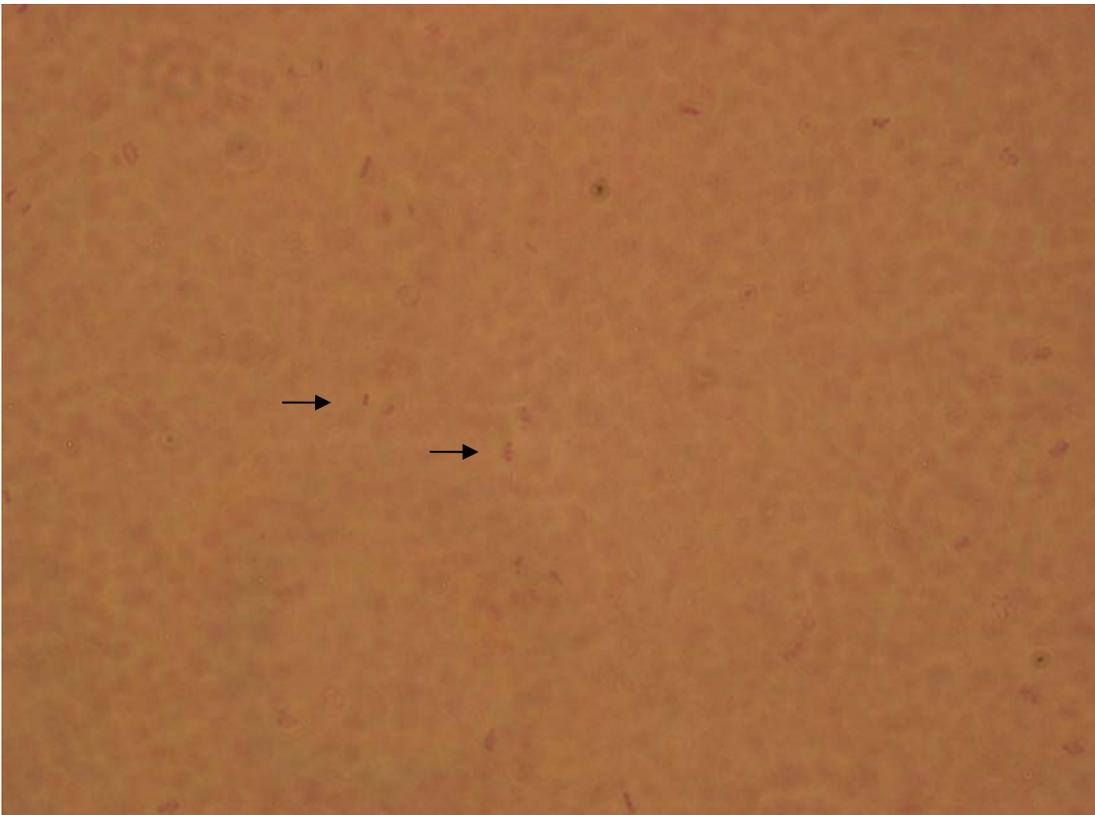


Figura 6 – Área periférica de córnea de rato do grupo controle apresentando figuras de mitose (setas). (400x)

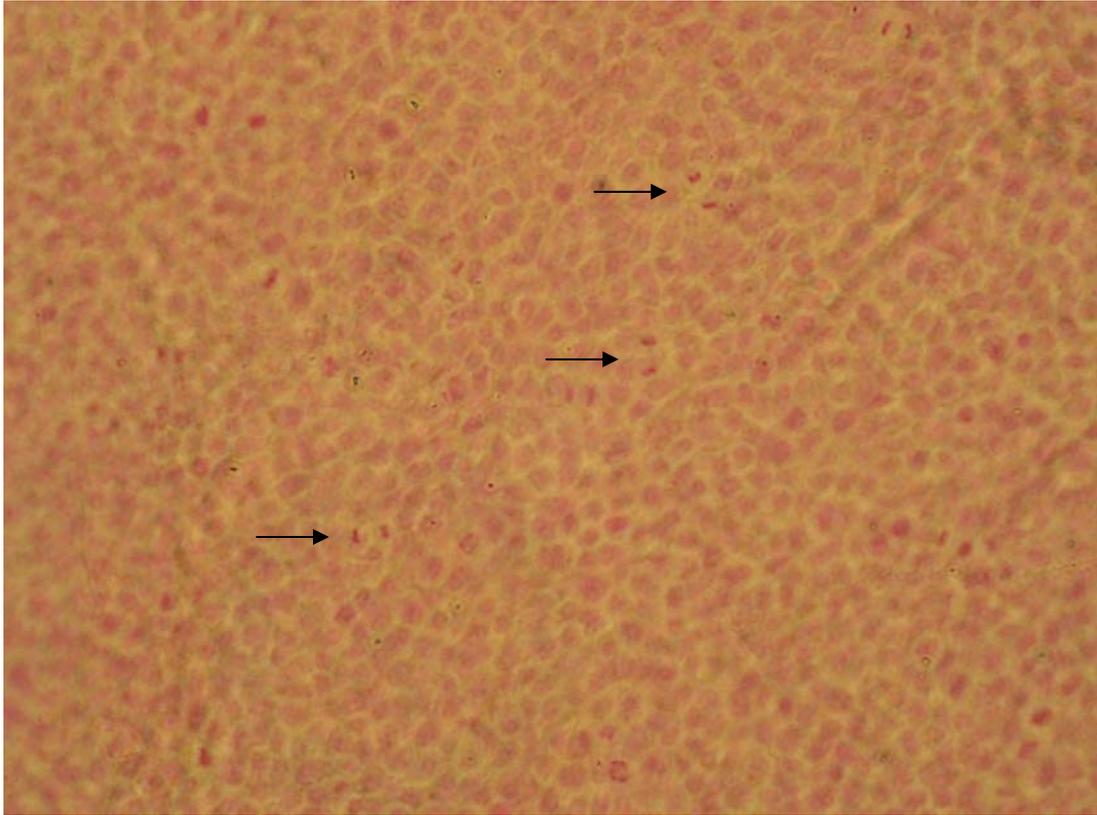


Figura 7 – Área central de córnea de rato do grupo exposto à luz fluorescente apresentando figuras de mitose (setas). (400x)

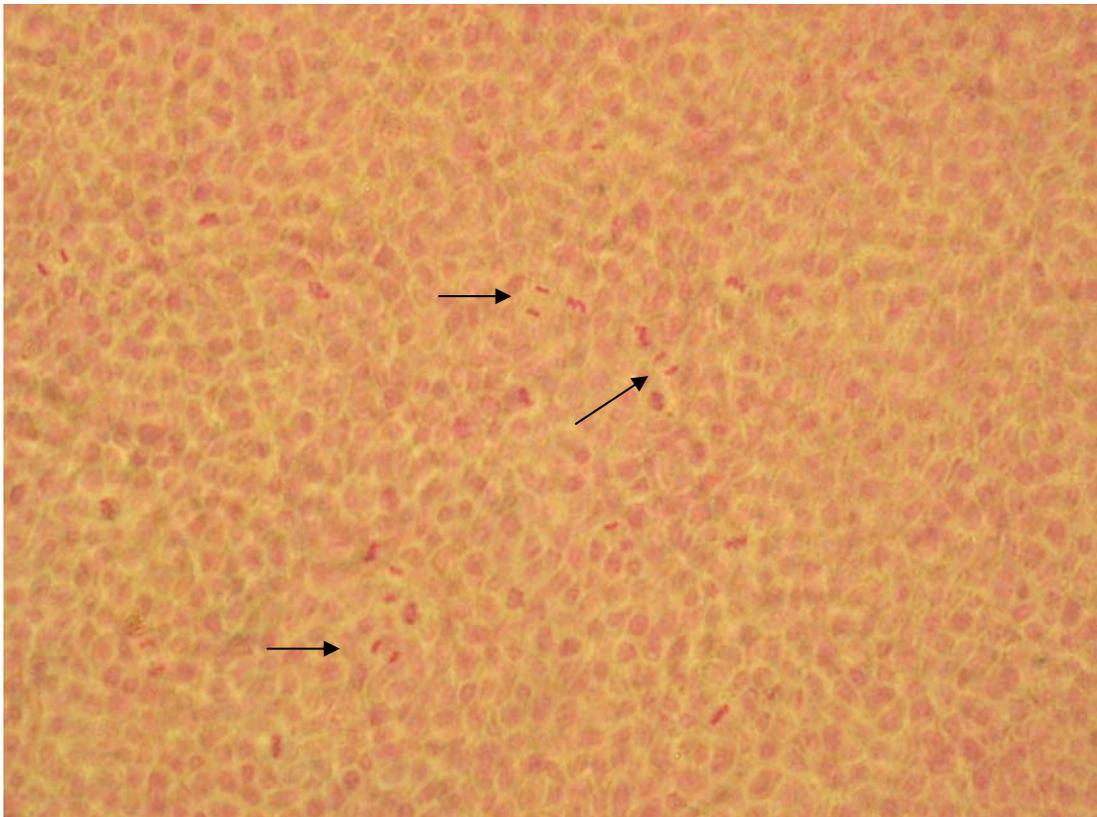


Figura 8 – Área periférica de córnea de rato do grupo exposto à luz fluorescente apresentando figuras de mitose (setas). (400x)

4 RESULTADOS

Foram analisadas 17 córneas, das quais 7 eram do grupo controle, e 10 do grupo exposto à luz fluorescente. Em cada córnea, 5 áreas foram examinadas, o que totalizou 85 áreas (35 controle e 50 expostas à luz).

Nove lâminas foram descartadas, pois apresentaram problemas durante o processo de coloração, não sendo possível realizar sua análise.

Os números de figuras de mitose nas córneas do grupo controle estão expostos na tabela 1.

Tabela 1 – Número de figuras de mitose nas córneas do grupo controle.

Lâmina	Área 1	Área 2	Área 3	Área 4	Área 5	Total
Lâmina 1	25	22	21	18	23	109
Lâmina 2	15	17	16	18	12	78
Lâmina 3	47	16	13	26	15	117
Lâmina 4	10	8	7	8	13	46
Lâmina 5	11	8	5	6	7	37
Lâmina 6	8	7	3	1	8	27
Lâmina 7	7	4	6	3	4	24
Média	17,6	11,7	10,1	11,4	11,7	62,6

Na tabela 2 estão expostos os números de figuras de mitose das córneas de ratos expostos à luz fluorescente contínua durante 48 horas.

Tabela 2 – Número de figuras de mitose nas córneas do grupo exposto à luz fluorescente.

Lâmina	Área 1	Área 2	Área 3	Área 4	Área 5	Total
Lâmina 1	23	20	19	19	6	87
Lâmina 2	11	13	19	8	8	59
Lâmina 3	12	24	12	16	20	84
Lâmina 4	20	19	16	18	4	77
Lâmina 5	12	20	17	12	11	72
Lâmina 6	16	9	8	12	14	59
Lâmina 7	20	11	19	11	4	65
Lâmina 8	7	6	9	5	8	35
Lâmina 9	10	8	7	8	13	46
Lâmina 10	30	20	28	21	39	138
Média	16,1	15	15,4	13	12,7	72,2

A área central das córneas, representada pela área 1, apresentou uma média de 17,6 figuras de mitose no grupo controle. A análise do grupo de ratos expostos à luz fluorescente externou uma média de 16,1 figuras de mitose na área central, ou seja, um decréscimo de aproximadamente 8,52% na média.

As áreas 2, 3, 4 e 5, representativas da região periférica das córneas, apresentaram um total de 315 figuras de mitose, com uma média de 11,2 figuras por área no grupo controle. O grupo que foi exposto à luz fluorescente apresentou um total de 516 figuras de mitose na região periférica, com uma média de 14,0 figuras por área analisada, o que demonstra um aumento de aproximadamente 24,67% na média.

5 DISCUSSÃO

A luz fluorescente é amplamente utilizada em residências, escritórios e fábricas por apresentar uma maior relação entre custo e benefício. Entretanto, pouco foi publicado sobre possíveis alterações oculares devidas à exposição a esse tipo de luz. Um dos componentes presentes na formação da luz fluorescente é a luz UV, e várias pesquisas já demonstraram os efeitos nocivos desse tipo de luz sobre as diversas estruturas do olho.¹⁵⁻¹⁸

Pitts *et al*¹⁵ demonstraram que as lesões no olho variam de acordo com o comprimento de onda da luz UV, sendo o epitélio e o estroma da córnea afetados por comprimentos de onda inferiores a 295nm. Quando o comprimento de onda encontrou-se entre 295 e 310nm, o endotélio também foi afetado; e, entre 295 e 320nm, o cristalino sofreu danos. Pelo fato de todos esses comprimentos de onda estarem presentes na luz fluorescente, várias injúrias podem ser justificadas nas estruturas do bulbo ocular.

O efeito da luz fluorescente sobre a córnea de coelhos foi descrito por Pitts *et al*²⁰ através da análise por microscopia eletrônica. De acordo com esse estudo, os primeiros efeitos observados no epitélio ocorreram após 8 horas de exposição, com surgimento de espaços próximos aos núcleos das células. Houve o aumento desses espaços após tempos maiores de exposição, o que ocasionou lesão epitelial ou edema e perda de células. Apesar dessa alteração, não foi observada fragmentação nuclear nessas células epiteliais.

Em relação às figuras de mitose, não foram encontradas publicações que abordassem especificamente o tema. No presente trabalho foram contadas as figuras de mitose no epitélio das córneas de ratos albinos Wistar expostos à luz fluorescente, em comparação às do grupo controle.

O grupo controle apresentou uma média de 17,6 figuras de mitose em áreas centrais da córnea (tabela 1), enquanto que o grupo exposto à luz fluorescente apresentou uma redução de 8,52% na média, atingindo um valor igual a 16,1 figuras de mitose (tabela 2). Esse dado sugere uma diminuição na capacidade de regeneração da área central da córnea, talvez induzida pela radiação UV presente na luz fluorescente.

Em áreas periféricas, os ratos do grupo controle apresentaram uma média de 11,2 figuras de mitose (tabela 1). Já no grupo de ratos expostos à luz fluorescente houve um aumento de 24,67% na média de figuras de mitose por área, totalizando 14,0 figuras de mitose, em média, por região analisada (tabela 2). Esse dado sugere que houve um intenso

processo de multiplicação celular na periferia da córnea, provavelmente provocado pela radiação UV emitida pelas lâmpadas fluorescentes.

Com base nesses dados, acredita-se que a luz fluorescente seja um fator causador de injúria corneana, em razão do decréscimo do número de figuras de mitose em sua região central (tabelas 1 e 2). Sugere-se duas hipóteses para explicar a relação causal entre a diminuição das figuras de mitose e a injúria corneana. A primeira seria que a diminuição do número de figuras de mitose reduziria a capacidade de regeneração do epitélio corneano, predispondo ao surgimento de possíveis lesões. Outra hipótese reside no fato de a luz fluorescente poder produzir lesões diretamente sobre as células epiteliais da córnea, mas que não puderam ser constatadas à microscopia óptica nesse estudo. Pitts *et al*²⁰, apesar de descreverem o surgimento de lesões no epitélio de córneas com o uso da microscopia eletrônica, não analisaram as córneas sob a microscopia óptica.

O aumento do número de figuras de mitose observado nas áreas periféricas (tabelas 1 e 2) avança a possibilidade de ocorrência de um processo de regeneração da córnea, em decorrência de alguma lesão que eventualmente possa ter ocorrido. Esse processo tem início com o aumento da multiplicação celular na periferia da córnea. Em seguida, essas células tendem a migrar para as regiões lesadas, onde procuram preencher essas áreas.⁴

As possíveis lesões da córnea não puderam ser estudadas de forma adequada, pois utilizou-se apenas o microscópio óptico neste trabalho. Para pesquisar melhor o mecanismo de lesão, sugere-se a realização de novo estudo com a utilização da microscopia eletrônica, o que possibilitaria uma análise mais precisa sobre os eventuais efeitos deletérios da luz fluorescente.

Frente ao reduzido número de publicações específicas sobre o tema, este trabalho se mostra importante por fazer parte de uma área em que há nítida carência de estudos, podendo gerar uma nova linha de pesquisa. Para desenvolvê-la é necessária a atenção por parte dos pesquisadores e o adequado financiamento dos órgãos de fomento à pesquisa.

Dados importantes poderiam ser externados por essas linhas de pesquisa, como os possíveis impactos econômicos e ambientais que as lesões provocadas pela luz fluorescente poderiam trazer para a sociedade. Basta lembrar que a maior parte das empresas, residências e fábricas utilizam esse tipo de iluminação, por ser mais econômica e por possuir uma melhor relação entre custo e benefício. Outro aspecto importante seria o fato dessa luz poder ocasionar sinais e sintomas de desconforto visual em trabalhadores desses ambientes, fazendo parte da “Sick Building Syndrome”.^{13,14} Logo, dados que pudessem avaliar e comprovar a

existência de efeitos prejudiciais desse tipo de luz poderiam trazer grandes mudanças sobre a vida do trabalhador e o ambiente onde ele exerce sua profissão.

Portanto, para melhorar o conhecimento sobre os mecanismos de lesão nas córneas provocada pela exposição à luz fluorescente, e tentar estabelecer parâmetros para o real conhecimento do efeito da luz fluorescente sobre essa estrutura ocular, novos trabalhos sobre o tema devem ser realizados, utilizando para tal a microscopia eletrônica.

6 CONCLUSÃO

Os dados obtidos a partir da análise microscópica de ratos albinos Wistar submetidos à exposição contínua à luz fluorescente durante 48 horas provoca:

- 1) Redução em 8,52%, na média, do número de figuras de mitose na área central das córneas.
- 2) Aumento de 24,67%, na média, do número de figuras de mitose na periferia das córneas.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1) Willis Jr. WD. O sistema visual. In: Berne RM, Levy MN. Fisiologia. 3ª ed. Rio de Janeiro: Editora Guanabara Koogan; 1996. p. 132-155.
- 2) Cabeça. In: Moore KL, Dalley AF. Anatomia orientada para a clínica. 4ª ed. Rio de Janeiro: Editora Guanabara Koogan; 2001. p. 744-887.
- 3) Riordan-Eva P. Anatomia e embriologia do olho. In: Vaughan D, Asbury T, Riordan-Eva P. Oftalmologia geral. 4ª ed. São Paulo: Atheneu editora; 1998. p. 1-28.
- 4) Sentidos especiais. In: Gartner LP, Hiatt JL. Tratado de histologia em cores. 2ª ed. Rio de Janeiro: Editora Guanabara Koogan; 2003. p. 419-440.
- 5) Internet Atlas of Histology, College of Medicine, University of Illinois at Urbana-Champaign [homepage na Internet]. Urbana-Champaign: College of Medicine, University of Illinois [acesso em 2007 fev 12]. w83a: Eye [aproximadamente 3 telas]. Disponível em: <http://www.med.uiuc.edu/histo/medium/atlas/index.htm>
- 6) Sato HE. Ceratite ponteadada. In: Schor P, Chamon W, Belfort Jr. R. Guias de medicina ambulatorial e hospitalar UNIFESP/Escola Paulista de Medicina - Oftalmologia. 1ª ed. Barueri: Editora Manole LTDA; 2004. p. 155-165.
- 7) Merck Sharp & Dohme - Brasil [homepage na Internet]. [acesso em 2007 fev 24]. Manual Merck [aproximadamente 4 telas]. Disponível em: http://www.msd-brazil.com/msd43/manual/mm_sec20_218.htm
- 8) Fótons, elétrons e átomos. In: Young HD, Freedman RA. Sears e Zemansky física IV: ótica e física moderna. 1ª reimpressão. São Paulo: Pearson Addison Wesley; 2004. p. 178-216.
- 9) Enciclopédia Delta Universal. Rio de Janeiro: Editora Delta S.A.; 1980. Luz elétrica; vol 9. p. 4933-4935.
- 10) van Bommel WJM, van den Beld GJ, van Ooijen MHF. Industrial lighting and productivity. Edition: August 2002. (The Netherlands): 2002.
- 11) Veitch JA; McColl SL. Modulation of fluorescent light:Flicker rate and light source effects on visual performance and visual comfort. Lighting research and technology. 1995; 27 (4), 243-6.
- 12) van den Beld G, van Bommel W. Industrial lighting productivity health and well-being. Ingeria iluminatului. 2001; 3 (7), 5-28.
- 13) Ooi PL, Goh KT. Sick building syndrome: an emerging stress-related disorder? Int J Epidemiol. 1997 Dec; 26 (6): 1243-9.

- 14) Robertson AS, McInnes M, Glass D, Dalton G, Burge PS. Building sickness, are symptoms related to the office lighting? *Ann Occup Hyg.* 1989; 33 (1): 47-59.
- 15) Pitts DG, Cullen AP, Hacker PD. Ocular effects of ultraviolet radiation from 295 to 365 nm. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 1977 Oct; 16 (10), 932-9.
- 16) Young AR. Acute effects of UVR on human eyes and skin. *Prog Biophys Mol Biol.* 2006 Sep; 92 (1), 80-5.
- 17) Moran DJ; Hollows FC. Pterygium and ultraviolet light: a positive correlation. *Br J Ophthalmol.* 1984 May; 68 (5), 343-6.
- 18) Roberts JE. Ocular phototoxicity. *J Photochem Photobiol B.* 2001 Nov 15; 64 (2-3), 136-43.
- 19) Adam Netto A. Efeitos agudos da luz fluorescente sobre estruturas do bulbo ocular e anexos oculares do rato albino [dissertação de mestrado]. Ribeirão Preto (SP): Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo, 1981.
- 20) Pitts DG; Bergmanson JP; Chu LW. Rabbit eye exposure to broad-spectrum fluorescent light. *Acta Ophthalmol Suppl.* 1983; 159: 1-54.
- 21) Núcleo. In: Beçak W, Paulete J. Técnicas de citologia e histologia. Rio de Janeiro: Livros Técnicos e Científicos; 1976. p. 55-9.

NORMAS ADOTADAS

Este trabalho foi realizado seguindo a normatização para Trabalhos de Conclusão do Curso de Graduação em Medicina, resolução de 2005, aprovada em reunião do Colegiado do Curso de Graduação em Medicina da Universidade Federal de Santa Catarina.

ANEXOS

ANEXO 1

Técnica para a reação de Feulgen-Rossenbeck

TÉCNICA PARA A REAÇÃO DE FEULGEN-ROSSENBECK.

- 1) Levar as lâminas até a água destilada (em se tratando de cortes de parafina, desparafinar previamente);
- 2) Hidrolisar em ácido clorídrico 1N, a 60°C, durante 5 a 15 minutos (para esfregaços, camadas mononucleares ou cortes finos, o tempo ótimo é 5 minutos);
- 3) Deter a hidrólise, mergulhando a lâmina em água destilada fria ou em ácido clorídrico 1N frio;
- 4) Corar com o reativo de Schiff, de 1 a 3 horas (não há perigo de sobrecoloração);
- 5) Lavar em 3 banhos sucessivos, de 1 a 2 minutos cada, de água sulfurosa

Ácido clorídrico 1N	10ml
Metabissulfito de sódio, sol aquosa a 1%	10ml
Água destilada até	200ml
- 6) Lavar em água corrente;
- 7) Contracorar o citoplasma (optativo);
- 8) Desidratar, diafanizar e montar em Permount ou bálsamo do Canadá.

ANEXO 2

Documento encaminhado ao CEUA

Florianópolis, 18 de maio de 2007.

Ilmo. Sr. presidente do CEUA:

Venho através deste, solicitar urgência na emissão de parecer liberando pelo CEUA o Trabalho de Conclusão de Curso (TCC) do Curso de Graduação em Medicina do acadêmico Hugo Tadashi Oshiro Távora, matrícula 0125440-5.

O presente trabalho tem por finalidade estabelecer a relação entre lesão em córneas de ratos Wistar com o tempo de exposição à luz fluorescente, através da contagem, por microscopia óptica, de figuras de mitose em lâminas de córneas de ratos Wistar submetidos a este tipo de luz.

O material analisado neste trabalho é proveniente da tese de Doutorado do Dr. Augusto Adam Netto - professor titular da disciplina de Oftalmologia da UFSC -, datado de 1983. Naquele momento, foram confeccionadas diversas lâminas de diferentes estruturas do olho do animal, entre elas as lâminas de córnea, que não foram aproveitadas naquele trabalho e são os objetos em estudo no presente TCC.

Como as lâminas para microscopia óptica se preservam por mais de 20 anos, a análise das lâminas de córnea foi realizada de maneira satisfatória. Logo, não foi utilizado qualquer animal proveniente do Biotério Central da UFSC para o presente estudo, uma vez que todas as lâminas foram confeccionadas em 1983.

Por este motivo, solicito a emissão de parecer liberando pelo CEUA este trabalho, uma vez que, em momento algum novos animais foram utilizados e, desta forma, não foi violado o código de ética para o uso de animais.

Atenciosamente,

Hugo Tadashi Oshiro Távora
Acadêmico

Prof. Dr. Augusto Adam Netto
Professor Médico

Prof. Dr. Newton Macuco Capella
Coordenador do Curso de Medicina