

PAULO SÉRGIO LOIÁCONO BETTES

**INFLUÊNCIA DA RADIAÇÃO BETA SOBRE A
CICATRIZAÇÃO DE FERIDAS CUTÂNEAS DE RATOS**

Dissertação apresentada ao Programa
de Pós-graduação em Clínica Cirúrgica
da Universidade Federal do Paraná,
como requisito parcial para a obtenção
do título de Mestre em Clínica Cirúrgica.

CURITIBA

1999

Um homem não é mais do que o outro,
apenas um faz mais do que o outro.

Miguel de Cervantes

Curso de Pós-graduação em Clínica Cirúrgica da Universidade Federal do Paraná
Coordenador: Professor. Doutor. OSVALDO MALAFAIA

Orientadora: Professora Dra. MARIA DE LOURDES PESSOLE BIONDO-SIMÕES

À memória de meus avós **Vicente e Maria**, exemplos de bondade, caráter e conduta ética, pessoas de extrema importância em minha formação como ser humano.

À minha avó **Júlia** e minha mãe **Carmen**, mulheres que tanto fizeram para tornar-me a pessoa que sou hoje.

Ao meu avô **Henrique** pelo exemplo de que somente com o estudo podemos evoluir.

Ao meu pai **Paulo Henrique** e meus irmãos **Marcos e Daniéle**.

À **Gisele**, pelas inúmeras horas privadas de nosso convívio.

AGRADECIMENTOS

Ao Professor Doutor Osvaldo Malafaia, Coordenador deste Curso, pessoa de extrema competência e liderança, pela oportunidade oferecida de apresentar este trabalho.

À Professora Doutora Maria de Lourdes Pessole Biondo-Simões, minha orientadora, excelente professora, pesquisadora e profissional, pelas incansáveis horas de dedicação em minha orientação.

Ao Doutor Raul Fernando Pizzatto, radioterapeuta do Hospital Erasto Gaetner, pela possibilidade de utilização de seu Serviço para a realização do experimento.

À Doutora Ieda Fernanda Horst, física responsável pela quantificação da dosagem de irradiação emitida pela placa durante o experimento.

Ao Professor Luiz Martins Collaço das disciplinas de Histologia e Anatomia Patológica da Faculdade Evangélica de Medicina do Paraná, pela paciente avaliação descritiva da microscopia e colaboração para a realização das microfotografias.

Ao Professor Doutor Paulo Hilário Nascimento Saldiva, do Laboratório de Poluição Atmosférica Experimental da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo pela permissão do uso de seu Laboratório para avaliação quantitativa do colágeno.

À Professora Suely Ruiz Giudo do Departamento de Estatística do Setor de Ciências Exatas da Universidade Federal do Paraná e ao acadêmico Joel de Oliveira pelo minucioso tratamento estatístico dado a este estudo.

Às técnicas Mirian Lemos e Ana Júlia Lichtenfels, funcionárias do Laboratório de Poluição Atmosférica da Universidade de São Paulo, pela colaboração na leitura quantitativa do colágeno.

Aos médicos Ulisses Roman, Regina Célia Adur, Melissa Corbellini e Michele Agostini Buquera pelo auxílio prestado nas várias etapas deste estudo.

À Professora Doutora Ailema Lori L. Frank pelo auxílio na verificação da ortografia e gramática.

À Faculdade Evangélica de Medicina do Paraná pelo uso do laboratório de Experimentação em Clínica e Cirurgia.

À Copiare pelo valioso auxílio na editoração das fotografias.

A todos que direta ou indiretamente colaboraram para a realização deste experimento.

SUMÁRIO

LISTA DE QUADROS.....	ix
LISTA DE FIGURAS.....	xi
RESUMO.....	xvii
ABSTRACT.....	xix
1. INTRODUÇÃO.....	1
1.1. OBJETIVO.....	3
2. LITERATURA.....	4
3. MATERIAL E MÉTODO.....	9
3.1. ANIMAL DE EXPERIMENTAÇÃO.....	10
3.2. DELINEAMENTO EXPERIMENTAL.....	11
3.3. ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	16
4. RESULTADOS.....	20
5. DISCUSSÃO.....	65
6. CONCLUSÕES.....	75
ANEXOS.....	77
REFERÊNCIAS.....	99
NORMAS ADOTADAS.....	105

LISTA DE QUADROS

QUADRO 1 – COMPOSIÇÃO DOS GRUPOS E TEMPOS DE AFERIÇÃO.....	14
QUADRO 2 – DISTRIBUIÇÃO DOS GRUPOS CONFORME O LADO E O TIPO DE TRATAMENTO A QUE FOI SUBMETIDA A FERIDA.....	18
QUADRO 3 – ASPECTOS HISTOLÓGICOS ESTUDADOS.....	19
QUADRO 4 – NÍVEL DE SIGNIFICÂNCIA DO ESTADO DE EPITELIZAÇÃO NO 3º e 7º DIAS, NOS GRUPOS A e B COMPARADOS COM SEUS CONTROLES.....	32
QUADRO 5 - NÍVEL DE SIGNIFICÂNCIA DA PRESENÇA DE ANGIOGÊNESE NO 7º e 14º DIAS, NOS GRUPOS A e B COMPARADOS COM SEUS CONTROLES.....	34
QUADRO 6 - NÍVEL DE SIGNIFICÂNCIA DA PRESENÇA DE CONGESTÃO VASCULAR NO 3º DIA, NOS GRUPOS A e B.....	35
QUADRO 7 - NÍVEL DE SIGNIFICÂNCIA DO TIPO DE REAÇÃO INFLAMATÓRIA NO 3º, 7º, 14º e 21º DIAS, NOS GRUPOS A e B.....	37

QUADRO 8 - NÍVEL DE SIGNIFICÂNCIA PARA ORGANIZAÇÃO DA CICATRIZ NO 3^o,7^o,14^o e 21^o DIAS, NOS GRUPOS A e B	39
QUADRO 9.- NÍVEL DE SIGNIFICÂNCIA DA DIFERENÇA DE DENSIDADE DO COLÁGENO TOTAL NAS ÁREAS CICATRICIAL E PARA-CICATRICIAL, NOS GRUPOS A e B, NO 3^o DIA.....	46
QUADRO 10 - NÍVEL DE SIGNIFICÂNCIA DA DIFERENÇA DE DENSIDADE DO COLÁGENO TOTAL NAS ÁREAS CICATRICIAL E PARA-CICATRICIAL, NOS GRUPOS A e B, NO 7^o DIA	48
QUADRO 11 - NÍVEL DE SIGNIFICÂNCIA DA DIFERENÇA DE DENSIDADE DO COLÁGENO TOTAL NAS ÁREAS CICATRICIAL E PARA-CICATRICIAL, NOS GRUPOS A e B, NO 14^o DIA.....	51
QUADRO 12 - NÍVEL DE SIGNIFICÂNCIA DA DIFERENÇA DE DENSIDADE DO COLÁGENO TOTAL NAS ÁREAS CICATRICIAL E PARA-CICATRICIAL, NOS GRUPOS A e B, NO 21^o DIA.....	54

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Características da localização e dimensões das feridas na região dorsal dos ratos.....	12
Figura 2 – Aspecto final da síntese das feridas	12
Figura 3 – Detalhes da forma da placa de Estrôncio-90 utilizada para aplicação da radiação Beta.....	14
Figura 4 – Aspectos macroscópicos das feridas irradiada e não irradiada, no grupo A, no 3^o dia de pós-operatório.....	22
Figura 5 – Detalhes das feridas irradiada e não irradiada, no grupo B, no 3^o dia de pós-operatório.....	22
Figura 6 – Aspectos macroscópicos das feridas irradiada e não irradiada, no grupo A, no 7^o dia de pós-operatório.....	23
Figura 7 – Detalhes das feridas irradiada e não irradiada, no grupo B, no 7^o dia de pós-operatório.....	23
Figura 8 – Aspectos macroscópicos das feridas irradiada e não irradiada, no grupo A, no 14^o dia de pós-operatório.....	24

Figura 9 – Detalhes das feridas irradiada e não irradiada, no grupo B, no 14^o dia de pós-operatório.....	24
Figura 10 – Aspectos macroscópicos das feridas irradiada e não irradiada, no grupo A, no 21^o dia de pós-operatório.....	25
Figura 11 – Detalhes das feridas irradiada e não irradiada, no grupo B, no 21^o dia de pós-operatório.....	25
Figura 12 – Fotomicrografia de feridas dos animais dos 2 grupos, no 3^o dia de pós-operatório (H.E., 100X).....	28
Figura 13 – Fotomicrografia de feridas dos animais dos 2 grupos, no 7^o dia de pós-operatório (H.E., 100X).....	29
Figura 14 – Fotomicrografia de feridas dos animais dos 2 grupos, no 14^o dia de pós-operatório (H.E., 100X).....	30
Figura 15 – Fotomicrografia de feridas dos animais dos 2 grupos, no 21^o dia de pós-operatório (H.E., 100X).....	31
Figura 16 – Estado da epitelização no 3^o e 7^o dias, nos grupos A e B.....	33
Figura 17 – Presença de angiogênese no 7^o e 14^o dias, nos grupos A e B.....	34
Figura 18 – Presença de congestão vascular no 3^o dia, nos grupos A e B.....	36

Figura 19 – Tipo de reação inflamatória no 3^o dia, nos grupos A e B.....	38
Figura 20 – Tipo de reação inflamatória no 7^o, 14^o e 21^o dias, nos grupos A e B.....	38
Figura 21 – Organização da cicatriz no 3^o e 7^o dias, nos grupos A e B.....	40
Figura 22 – Organização da cicatriz no 14^o e 21^o dias, nos grupos A e B.....	40
Figura 23 – Fotomicrografias de cortes histológicos de feridas de animais dos 2 grupos, no 3^o dia de pós-operatório (Mallory, 100X).....	41
Figura 24 – Fotomicrografias de cortes histológicos de feridas de animais dos 2 grupos, no 7^o dia de pós-operatório (Mallory, 100X).....	42
Figura 25 – Fotomicrografias de cortes histológicos de feridas de animais dos 2 grupos, no 14^o dia de pós-operatório (Mallory, 100X).....	43
Figura 26 – Fotomicrografias de cortes histológicos de feridas de animais dos 2 grupos, no 21^o dia de pós-operatório (Mallory, 100X).....	44
Figura 27 – Proporção média de colágeno na área cicatricial, no 3^o dia de pós-operatório.....	47
Figura 28 – Proporção média de colágeno na área para-cicatricial, no 3^o dia de pós-operatório.....	47

Figura 29 – Proporção média de colágeno na área cicatricial, no 7^o dia de pós-operatório.....	49
Figura 30 – Proporção média de colágeno na área paracicatricial, no 7^o dia de pós-operatório.....	50
Figura 31 – Proporção média de colágeno na área cicatricial, no 14^o dia de pós-operatório.....	52
Figura 32 – Proporção média de colágeno na área paracicatricial, no 14^o dia.....	53
Figura 33 – Proporção média de colágeno na área cicatricial, no 21^o dia:.....	55
Figura 34 – Proporção média de colágeno na área paracicatricial, no 21^o dia:.....	56
Figura 35 – Fotomicrografia de cortes histológicos das feridas dos animais dos 2 grupos, no 3^o dia de pós-operatório onde se pode ver as áreas de cicatrizes escolhidas para leitura do colágeno, ao microscópio (Picro-sirius, 63X).....	57
Figura 36 – Fotomicrografia de cortes histológicos das feridas dos animais dos 2 grupos, no 7^o dia de pós-operatório onde se pode ver as áreas de cicatrizes escolhidas para leitura do colágeno, ao microscópio (Picro-sirius, 63X).....	58

Figura 37 – Fotomicrografia de cortes histológicos das feridas dos animais dos 2 grupos, no 14^o dia de pós-operatório onde se pode ver as áreas de cicatrizes escolhidas para leitura do colágeno, ao microscópio (Picro-sirius, 63X).....	59
Figura 38 – Fotomicrografia de cortes histológicos das feridas dos animais dos 2 grupos, no 21^o dia de pós-operatório onde se pode ver as áreas de cicatrizes escolhidas para leitura do colágeno, ao microscópio (Picro-sirius, 63X).....	60
Figura 39 – Fotomicrografia de cortes histológicos das feridas dos animais dos 2 grupos, no 3^o dia de pós-operatório onde se pode ver as áreas de colágeno tipo I em tons de amarelo a laranja e colágeno tipo III em tons de verde (Picro-sirius com luz polarizada, 63X).....	61
Figura 40 – Fotomicrografia de cortes histológicos das feridas dos animais dos 2 grupos, no 7^o dia de pós-operatório onde se pode ver as áreas de colágeno tipo I em tons de amarelo a laranja e colágeno tipo III em tons de verde (Picro-sirius com luz polarizada, 63X).....	62

Figura 41 – Fotomicrografia de cortes histológicos das feridas dos animais dos 2 grupos, no 14^o dia de pós-operatório onde se pode ver as áreas de colágeno tipo I em tons de amarelo a laranja e colágeno tipo III em tons de verde (Picro-sirius com luz polarizada, 63X).....63

Figura 42 – Fotomicrografia de cortes histológicos das feridas dos animais dos 2 grupos, no 21^o dia de pós-operatório onde se pode ver as áreas de colágeno tipo I em tons de amarelo a laranja e colágeno tipo III em tons de verde (Picro-sirius com luz polarizada, 63X).....64

RESUMO

As radiações ionizantes têm sido utilizadas na tentativa de controlar processos biológicos, entre eles a cicatrização. Essas radiações, como os raios Beta, ao atravessarem os tecidos promovem uma série de alterações como a modificação direta do núcleo celular e modificações indiretas sobre o protoplasma. As células são mais atingidas na fase pré-mitótica, motivo pelo qual há necessidade de várias aplicações de radiação, com intervalos de tempo, para que maior número de células possam ser irradiadas eficazmente. A melhor fonte de obtenção da radiação Beta é o Estrôncio-90 radioativo, cuja ação máxima é encontrada entre 3 e 4mm de profundidade, não ultrapassando 8mm. O objetivo deste trabalho foi estudar a influência da radiação Beta obtida do Estrôncio-90 sobre a cicatrização de feridas cutâneas irradiadas diariamente e em dias alternados e compará-las com as não irradiadas. Utilizaram-se 40 ratos *Wistar* nos quais praticou-se 2 incisões dorsais de 1,5 cm, paralelas à coluna vertebral e separadas entre si por 3,0 cm, atingindo a pele e a tela subcutânea. Após a síntese com o fio monofilamentar, as feridas localizadas à direita, em todos os animais, não receberam nenhum tratamento, tendo seu curso natural e servindo de controle ao experimento. As feridas localizadas à esquerda receberam irradiação diariamente em 20 animais, constituindo o grupo A e irradiação em dias alternados nos outros 20 animais, constituindo o grupo B. A dose de irradiação foi de 2500 rad dividida em 10 sessões de 250 rad. Sacrificaram-se 5 animais de cada grupo nos 3^o, 7^o, 14^o e 21^o dias após o início do

experimento, de modo que se pudesse avaliar o curso da cicatrização. A avaliação histopatológica foi feita através de cortes corados pela hematoxilina e eosina, tricrômico de Mallory e picrossírius. Após análise estatística dos resultados, concluiu-se que macroscopicamente não há alterações significantes entre as feridas irradiadas diariamente, em dias alternados e as feridas controle. Microscopicamente as feridas irradiadas apresentam maior edema na derme profunda e dilatação vascular. Não há alteração significativa quanto à organização da cicatriz e epitelização. Existe maior densidade de colágeno nas zonas superficiais da cicatriz nas feridas irradiadas diariamente. As alterações do colágeno mais significantes, promovidas pela irradiação beta, são encontradas nas áreas paracicatriciais, nas fases iniciais e nas áreas cicatriciais nas fases tardias.

ABSTRACT

Ionizing radiation has been used in an attempt to control biological processes, among them cicatrization. These types of radiation, such as Beta rays, when crossing tissue promote a series of changes such as direct modification of the cell nucleus and indirect modifications of protoplasm. The cells are more affected in the pre-mitotic phase and for this reason several applications of radiation are needed at timed intervals so that a larger number of cells will be effectively irradiated. The best source of Beta radiation is radioactive Strontium 90, whose action is maximal between 3 and 4mm of depth and does not exceed 8 mm. The objective of the present investigation was to study the influence of Beta radiation on the healing of skin wounds irradiated daily or on alternate days and to compare these wounds with non-irradiated ones. Forty Wistar rats were submitted to 2 dorsal incisions of 1,5cm parallel to the spine and placed 3,0cm apart, reaching the skin and the subcutaneous network. After synthesis with monofilament sutures, the wounds located on the right untreated in all animals and were allowed to course naturally, serving as control. The wounds located on the left were irradiated daily in 20 animals (group A) and on alternate days in 20 other animals (group B). The dose of irradiation was 2500rad divided on the 3rd, 7th, 14th and 21st day after the beginning of the experiment in order to evaluate the course of healing. Sections stained with hematoxylin and eosin, Mallory trichrome and picro-sirius were submitted to histopathological evaluation. After statistical analysis of the results concluded that

there were no significant macroscopic changes between the wounds irradiated daily or on alternate days and control wounds. Microscopically the irradiated wounds presented more intense edema in deep dermis and vascular dilatation. There was no significant change in the organization and epithelization of the scar. Greater collagen density was observed on the superficial zones of the scars in the wounds irradiated daily. The collagen changes caused by Beta irradiation, which were more significant, were found in para-cicatricial areas during the early phases and in cicatricial areas during the late phases.

1 INTRODUÇÃO

As radiações ionizantes têm sido utilizadas na tentativa de controlar processos biológicos, entre eles a cicatrização.

Essas radiações, como os raios Beta, ao atravessarem os tecidos provocam uma série de alterações como a modificação direta do núcleo celular e modificações indiretas sobre o protoplasma. Essa radiação pode atuar diretamente sobre a molécula de DNA. As células são mais atingidas na fase pré-mitótica, motivo pelo qual há a necessidade de várias aplicações de radiação Beta, com determinados intervalos, para que maior número de células possa ser irradiado eficazmente (RAPER, ZIRKLE e BARNES, 1951).

SNIDER e RAPER (1951) estudaram os efeitos histopatológicos dos raios Beta, obtidos do Fósforo-32 (P^{32}), na pele de camundongos, com doses únicas de 2500 e 5000 Rep (= Roentgen Equivalent Physical, que é definido como a absorção de 93 ergs por grama de tecido). Ocorreu rompimento das células, edema do colágeno e oclusão dos vasos sanguíneos e linfáticos. Observaram que os tecidos atingidos pelos raios Beta alteraram-se de forma semelhante aos tecidos tratados com doses comparáveis de raio X.

Segundo FRIEDEL, THOMAS e KROHMER (1951) a melhor fonte de obtenção da radiação beta é o Estrôncio-90 (Sr^{90}) radioativo. Sua ação não vai além de 8mm de profundidade e o máximo de seu efeito está entre 3 e 4mm. Este tipo de radiação tem sido utilizada como tratamento complementar após a ressecção de cicatrizes hipertróficas ou queiloideanas.

FRIEDEL e col.(1951) e SETTI (1960 e 1961) utilizaram a radiação Beta obtida do Estrôncio-90 no pós-operatório de cirurgias oftalmológicas para ressecção de pterígeos, na tentativa de prevenir recidivas.

PRADO (1981) observou, em seu trabalho sobre a ação dos raios X no processo de reparação tecidual da pele de ratos, a existência de diferenças no número de fibroblastos e fibras colágenas, sendo sempre maior no grupo controle em relação ao grupo irradiado.

PEREIRA FILHO (1992), em seu estudo experimental em ratos com o Sr^{90} , notou não haver diferença macroscópica entre as feridas irradiadas em relação às feridas controle. Relatou ainda aumento do número de leucócitos, redução no número de fibroblastos, sem alteração do número de fibras colágenas. Realizou dois grupos de observação com radiação diária e em dias alternados, não encontrando diferenças.

1.1. OBJETIVO:

Estudar a influência da radiação Beta obtida do Estrôncio-90 sobre a cicatrização de feridas cutâneas irradiadas diariamente e em dias alternados e compará-las com as não irradiadas, em ratos.

2 LITERATURA

Revisaram-se os principais aspectos técnicos da aplicação da radiação Beta em feridas cutâneas e os resultados descritos:

SNIDER e RAPER (1951) estudaram os efeitos histopatológicos dos raios Beta obtidos do Fósforo-32 em doses únicas de 2500 e 5000 Rep na pele de camundongos, que tiveram toda sua superfície corporal irradiada. As alterações observadas restringiram-se à epiderme e derme, sendo mais acentuadas nas doses maiores. As modificações da epiderme sob a forma de acúmulo de cromatina em algumas células da camada basal foram encontradas quase que imediatamente após a irradiação. Sinais degenerativos tornaram-se mais evidentes em intervalos de 8 a 24 horas, quando o núcleo se mostrou edemaciado e vacuolizado. Entre 15 e 21 dias a camada basal rompeu-se em muitas regiões do corpo, com o aparecimento de úlceras na pele, algumas das quais não cicatrizaram completamente em três meses. No derma observaram rompimento das células, edema do colágeno e oclusão de vasos sanguíneos e linfáticos. Declararam que as alterações teciduais observadas foram similares às encontradas em tecidos tratados com doses comparáveis de raio X.

FRIEDEL, THOMAS e KROHMER (1951) verificaram que o Sr^{90} é a melhor fonte de radiação Beta e foram os primeiros a empregá-lo. Notaram que a meia-vida do elemento é longa (28 anos), com isso evitando o reabastecimento freqüente do equipamento utilizado. Observaram que sua ação não vai além de 8mm de profundidade e o

máximo de seu efeito terapêutico está ao redor dos 3 a 4mm, e relataram sua experiência clínica satisfatória com o uso da radiação beta em doenças oculares como o pterígio.

SETTI (1960 e 1961), experimentalmente, realizou aplicação de radiação Beta no antebraço esquerdo de dois pacientes, em doses únicas que variaram de 90 a 7200rad, com a finalidade de investigar as reações cutâneas. A partir de 450 rad, observou eritema nas primeiras 24 horas. Nas doses mais elevadas notou pápulas e vesículas. As reações regrediram num período de 40 dias sem deixar seqüelas. Referiu também bons resultados com o emprego da radiação na prevenção de recidivas de pterígio.

PRADO (1981) observou em seu trabalho, sobre a ação dos raios X no processo de reparação tecidual da pele de ratos, a existência de diferenças no número de fibroblastos e fibras colágenas, sendo sempre maior no grupo controle em relação ao grupo irradiado.

PEREIRA FILHO (1991) utilizou, experimentalmente em ratos, a radiação Beta sobre feridas cutâneas, observando os aspectos morfológicos e morfométricos das lesões. Concluiu que não houve diferença macroscópica entre as feridas irradiadas e não irradiadas, ocorreu aumento do número de leucócitos, redução do número de fibroblastos sem alteração do número de fibras colágenas.

OOTSUYAMA e TANOOKA (1991) empregaram a radiação Beta no dorso de ratas três vezes por semana durante toda sua vida, e observaram o aparecimento de tumores, entre eles o osteossarcoma e o carcinoma de células escamosas, referindo como limiar para o não aparecimento de lesões tumorais doses inferiores a 0,75 Gy por aplicação.

MacKENZIE, HIRST, KYNASTON e BAIN (1991) irradiaram 1102 pacientes no pós-operatório de remoção de pterígio, com doses de raios Beta em média de 22Gy e observaram taxa de recorrência de 12% e 13% dos pacientes demonstraram algum sinal de escleromalácia, o que incluiu 4,5% do grupo em estudo que apresentou severo afinamento da esclera.

FAW (1992) registrou, em seu estudo, que as partículas de radiação Beta dispersas na atmosfera durante uma aplicação apresentam valores desprezíveis e que os valores necessários para um programa de tratamento com irradiação devem ser convertidos, se a pele estiver com alguma proteção ou curativo.

OTSUYAMA, TANAKA e TANOOKA (1992) realizaram aplicação de 3Gy de radiação Beta, três vezes por semana, sobre a região dorsal de ratos, observando o aparecimento de tumores em 100% deles, em média 500 dias após o início das aplicações, entre os quais carcinoma de células escamosas, osteossarcomas do tipo A e carcinoma de células escamosas do tipo B. Demonstraram serem todos eles de origem monoclonal produzidos por irradiação repetida.

BEDDOE e KELLY (1994) estudaram a quantidade absorvida de irradiação em funcionários que trabalham em serviços de radiologia e concluíram que deve existir no mínimo 5mm de distância entre a placa e o dedo do aplicador.

WALTER (1994) observou ser benéfico o uso de radiação Beta associada à ressecção cirúrgica na prevenção de recorrências de pterígios. Avaliando mais de 200 casos tratados cirurgicamente associados à radiação, encontrou poucas complicações e não foi registrado nenhum caso de catarata.

A literatura é pobre em informações sobre o efeito deste tipo de irradiação na reparação de feridas. Poucos são os estudos clínicos ou experimentais sobre esse assunto apesar de ser o uso da radiação Beta amplamente difundido como tratamento complementar pós ressecção de cicatrizes hipertróficas e queloidianas, na tentativa de reduzir-se as recidivas.

3 MATERIAL E MÉTODO

3.1 ANIMAL DE EXPERIMENTAÇÃO:

3.1.1 Caracterização da amostra:

Utilizaram-se no experimento 40 ratos, machos, (*Rattus norvegicus albinus*, *Rodentia mammalia*), Wistar-TECPAR, com idade variando entre 107 e 118 dias, com média de 113 dias. O peso esteve entre 258 e 343 gramas, com média igual a 291 gramas, oriundos do Instituto Tecnológico do Paraná.

3.1.2 Ambiente de experimentação:

Alojaram-se os animais, em grupos de 5 ratos, em gaiolas de polipropileno, de dimensões padronizadas e mantidos no Laboratório de Experimentação em Clínica e Cirúrgica da Faculdade Evangélica de Medicina do Paraná. O ciclo claro-escuro, temperatura e umidade eram os mesmos do ambiente geral, sem regulagem artificial. Os animais recebiam ração comercial e tinham livre acesso à água durante todo o experimento.

3.2 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL:

3.2.1 Anestesia:

Os ratos recebiam indução anestésica inalatória com éter sulfúrico, em campânula fechada, até a perda do reflexo corneano. Depois disso fazia-se a manutenção com o mesmo anestésico, em sistema aberto.

3.2.2 Preparo da pele e posicionamento na mesa:

Procedia-se a depilação da região dorsal dos ratos, entre as inserções dos membros superiores e inferiores, por arrancamento digital dos pêlos e fixação em pranchetas cirúrgicas na posição decúbito ventral fazendo-se, em seguida, a antissepsia da pele com tintura de polivinilpirrolidona-iodo.

3.2.3 Confeção das feridas:

Praticavam-se 2 feridas incisivas, paralelas à coluna vertebral e separadas entre si por 3,0 cm, medindo 1,5 cm de extensão. Essa ferida tinha a espessura da pele e da tela subcutânea, deixando à mostra a fáscia muscular lombar (Figura 1). Fazia-se a hemostasia com gaze cirúrgica por compressão digital por 2 minutos. Em seguida procedia-se a síntese com 2 pontos separados, distando um do outro 0,5 cm, utilizando-se para a sutura fio monofilamentar de nylon 5-0 (Figura 2). Fecharam-se os nós com 4 seminós. Não se confeccionaram curativos sobre as áreas operadas.

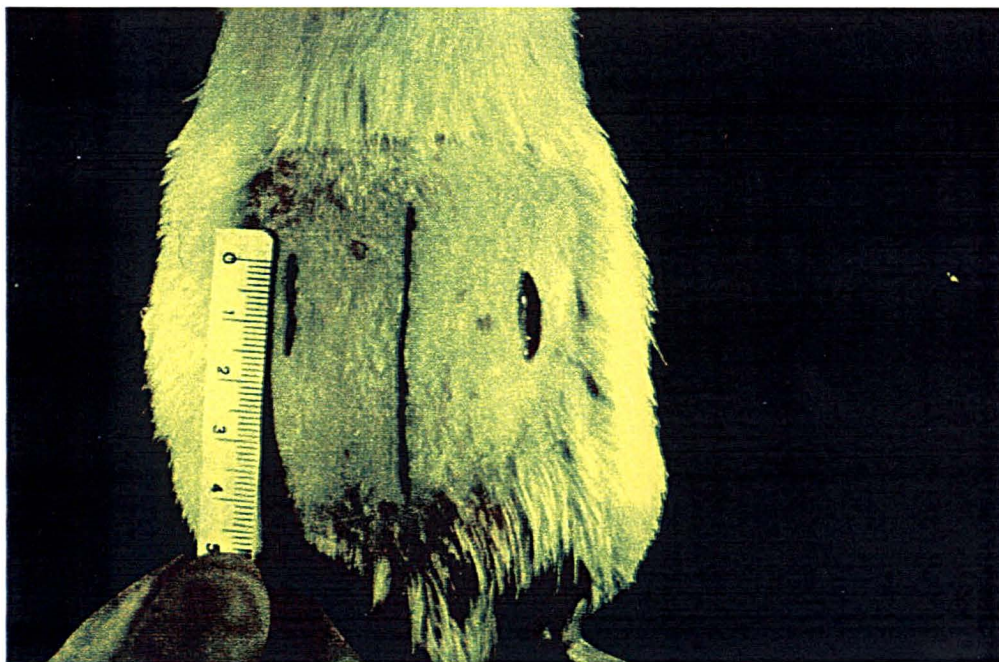


Figura 1 - Características da localização e dimensões das feridas na região dorsal dos ratos. Observa-se na ferida realizada à direita, exposição da facia muscular.

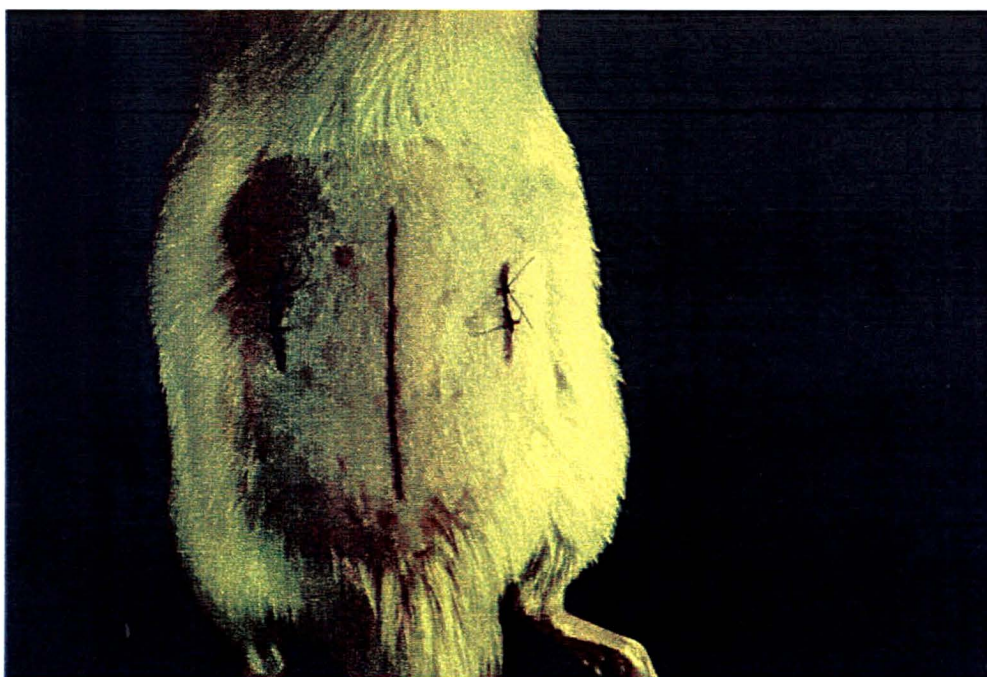


Figura 2 - Aspecto final da síntese das feridas.

3.2.4 Distribuição dos grupos:

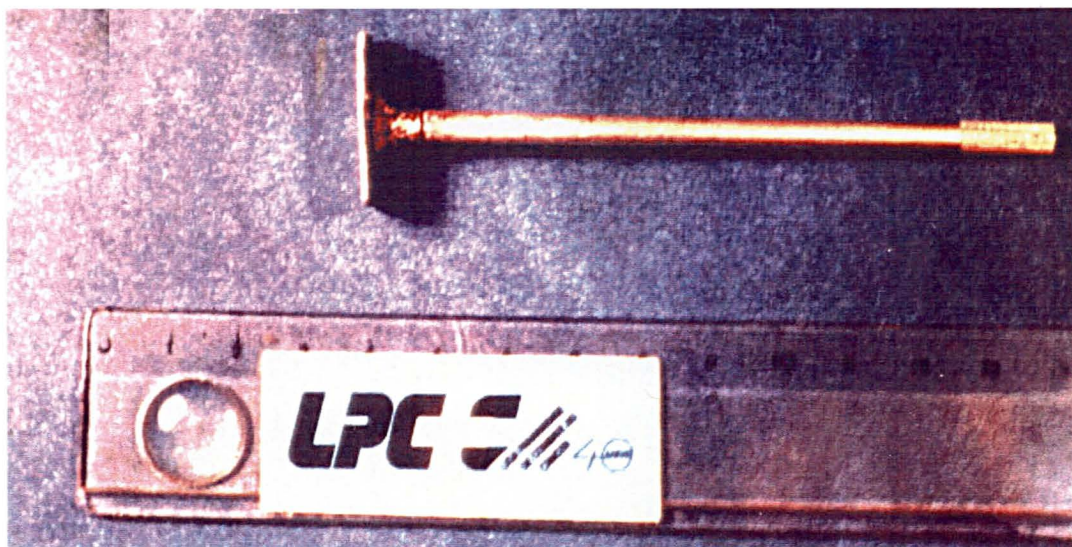
As feridas da região lombar à direita, em todos os animais, não receberam nenhum tipo de tratamento. Tiveram seu curso natural e serviram de controle para o experimento.

As feridas da região lombar à esquerda receberam irradiação diariamente em 20 animais, formando o grupo A, e irradiação em dias alternados nos outros 20 animais, formando o grupo B.

3.2.5 Dose de irradiação:

A dose de irradiação por sessão foi de 250 cGy (=250 rad), para todos os ratos, atingindo a dose máxima de 2500 rad⁽¹⁾ em um total de 10 sessões. Utilizou-se uma placa de Estrôncio-90 de 2 cm² para a emissão das partículas Beta (Figura 3). Cada sessão foi de 1 minuto e 6 segundos, de acordo com a atividade da placa, calculada por uma tabela existente no Serviço de Radioterapia do Hospital Erasto Gaetner. Empregou-se uma haste protetora auxiliar no manuseio do material radioativo, e acondicionamento entre as aplicações em recipiente de chumbo. Para determinar-se o tempo foi utilizado um cronômetro digital.

(1): 1 rad = 1cGy = 1Rep = 0,90 ergs por grama de tecido.



3.2.6 Períodos de aferição:

Sacrificaram-se 5 animais de cada grupo, A e B, com dose letal inalatória de éter sulfúrico no 3^o, 7^o, 14^o e 21^o dias após o início do experimento, de modo que se pudesse avaliar o curso da cicatrização. O quadro 1 resume a composição dos grupos e os tempos de aferição.

QUADRO 1- COMPOSIÇÃO DOS GRUPOS E TEMPOS DE AFERIÇÃO

GRUPOS															
A (20 animais - irradiação diária)								B (20 animais – irradiação alternada)							
REGIÃO LOMBAR								REGIÃO LOMBAR							
ESQUERDA (irradiada)				DIREITA (não irradiada)				ESQUERDA (irradiada)				DIREITA (não irradiada)			
Dia do Sacrifício				Dia do Sacrifício				Dia do Sacrifício				Dia do Sacrifício			
3	7	14	21	3	7	14	21	3	7	14	21	3	7	14	21

3.2.7 Método de aferição:

3.2.7.1 Fotografia:

Nos dias de aferição fotografavam-se esses animais após o sacrifício para comparar-se as diferenças macroscópicas entre as áreas irradiada e não irradiada. Após a confecção das lâminas pela patologia, realizaram-se as microfotografias das colorações hematoxilina- eosina, tricrômico de Mallory e picro- sírius, de ambas as feridas.

3.2.7.2 Avaliação microscópica:

Ressecava-se a pele dorsal dos ratos e dividia-se em dois fragmentos, direito e esquerdo, e colocava-se em papel de filtro, contendo as feridas não irradiadas e irradiadas respectivamente. Desses fragmentos retirava-se o terço médio, fixava-se em formalina a 10% e encaminhava-se para estudo histopatológico, utilizando-se as colorações hematoxilina- eosina, tricrômico de Mallory e picro-sírius.

Pela coloração da hematoxilina- eosina avaliava-se a reação inflamatória e as alterações vasculares.

Nos cortes corados pelo tricrômico de Mallory observava-se a presença do colágeno e sua ordenação.

Naqueles corados pela técnica do picro-sírius podia-se conhecer a densidade do colágeno na área cicatricial, nas regiões superficial, intermediária e profunda e na área para-cicatricial, nas regiões superficial, intermediária e profunda, correspondendo a 7,25 μ de altura em relação a epiderme para a zona superficial, 7,25 μ de altura abaixo para a zona intermediária e abaixo desta considerou-se zona profunda. A área total avaliada foi de 53 μ^2 para todas as feridas. Esta avaliação realizou-se através de microscopia optica computadorizada empregando-se o programa OPTIMAS 4.0 para

Windows da Bioscan Incorporated Institute em um computador tipo PC 486 DX2 com placa digitalizadora de imagem Oculus TCX acoplado a microscópio óptico de luz polarizada.

Na avaliação microscópica estudava-se a existência ou não de reação inflamatória classificada em aguda, agudo-crônica ou crônica, conforme o tipo de célula inflamatória predominante.

A reação inflamatória aguda caracterizava-se pelo predomínio de leucócitos polimorfonucleares e congestão vascular. A crônica por resposta às custas de fibroblastos e infiltrado celular predominantemente mononuclear (macrófagos, linfócitos e plasmócitos) e a agudo-crônica quando havia presença de polimorfonucleares e monomorfonucleares sem predomínio de nenhuma destas células.

Observava-se a presença ou ausência de necrose e a reação vascular: caracterizada por congestão de vasos, presença de trombos intraluminares e áreas de hemorragia.

Quando da avaliação da organização da cicatriz, considerou-se a cicatriz desorganizada quando as fibras colágenas apresentavam-se irregularmente distribuídas na tela subcutânea; organizada quando se viam fibras formando feixes ordenados na tela subcutânea e em organização em todas as situações intermediárias.

3.3 ANÁLISE ESTATÍSTICA:

3.1 Escolha dos testes estatísticos adequados:

Há fatores que devem ser levados em conta na escolha de um teste estatístico ótimo ou mais adequado para analisar determinados conjuntos de dados:

- poder do teste;
- maneira como a amostra de valores foi extraída;
- natureza da população da qual se extraiu a amostra;
- nível de mensuração atingido na pesquisa

Escolheu-se o teste de Fisher por ser extremamente útil para analisar dados discretos, quando o tamanho das duas amostras independentes é pequeno. É utilizado quando os escores das duas amostras se enquadram todos em uma ou outra de duas classes mutuamente exclusivas, ou seja, a cada indivíduo em ambos os grupos é atribuído *um*, dentre dois escores possíveis. Os escores são representados por freqüências em uma tabela de contingência 2 x 2. Empregou-se o teste de Fisher, neste estudo, para verificar a variação dos grupos com relação aos tratamentos: estado de epitelização, presença de angiogênese, congestão vascular, reação inflamatória e organização da cicatriz, cujos dados encontram-se nos Anexos I, II, III, IV e V, respectivamente.

Usou-se o teste de Wilcoxon porque o estudo abrange duas amostras relacionadas e proporciona escores de diferenças que podem ser ordenados segundo seus valores absolutos. Sua aplicação deu-se na verificação da variação do fator percentual de colágeno total e seus controles. Os dados encontram-se no Anexo VI.

Optou-se pelo teste de Kolmogorov-Smirnov pois é adequado para comparar duas amostras pequenas, independentes e de mesmo tamanho. O teste bilateral é sensível a qualquer diferença nas distribuições das quais se extraíram as amostras. O teste unilateral é utilizado para determinar se os valores das amostras são, ou não, maiores do que os valores da população que originou a outra amostra.

Neste estudo utilizou-se o teste de Kolmogorov-Smirnov na verificação da variação do fator percentual de colágeno total entre os grupos independentes A e B, cujos dados também se encontram no Anexo VI.

3.2 Nível de significância:

O nível de significância dos teste foi fixado em $\alpha = 0,05$ ou 5%.

Para facilitar a compreensão das análises estatísticas constituiu-se o quadro 2 onde se vê a distribuição dos grupos.

QUADRO 2 – DISTRIBUIÇÃO DOS GRUPOS CONFORME O LADO E O TIPO DE TRATAMENTO A QUE FOI SUBMETIDA A FERIDA:

Grupos	
A.3.D	Animais com feridas não irradiadas diariamente, lado direito no 3° dia
A.3.E	Animais com feridas irradiadas diariamente, lado esquerdo no 3° dia
B.3.D	Animais com feridas não irradiadas em dias alternados, lado direito no 3° dia
B.3.E	Animais com feridas irradiadas em dias alternados, lado esquerdo no 3° dia
A.7.D	Animais com feridas não irradiadas diariamente, lado direito no 7° dia
A.7.E	Animais com feridas irradiadas diariamente, lado esquerdo no 7° dia
B.7.D	Animais com feridas não irradiadas em dias alternados, lado direito no 7° dia
B.7.E	Animais com feridas irradiadas em dias alternados, lado esquerdo no 7° dia
A.14.D	Animais com feridas não irradiadas diariamente, lado direito no 14° dia
A.14.E	Animais com feridas irradiadas diariamente, lado esquerdo no 14° dia
B.14.D	Animais com feridas não irradiadas em dias alternados, lado direito no 14° dia
B.14.E	Animais com feridas irradiadas em dias alternados, lado esquerdo no 14° dia
A.21.D	Animais com feridas não irradiadas diariamente, lado direito no 21° dia
A.21.E	Animais com feridas irradiadas diariamente, lado esquerdo no 21° dia
B.21.D	Animais com feridas não irradiadas em dias alternados, lado direito no 21° dia
B.21.E	Animais com feridas irradiadas em dias alternados, lado esquerdo no 21° dia

O quadro 3 resume os aspectos histológicos estudados.

QUADRO 3 – ASPECTOS HISTOLÓGICOS ESTUDADOS:

TRATAMENTOS	
Percentual de colágeno	
Áreas	Zonas
Cicatricial	Superficial Intermediária Profunda
Para-Cicatricial	Superficial Intermediária Profunda
Tipo de epitelização	
Completa Incompleta	
Presença de angiogênese	
Presente Ausente	
Presença de congestão vascular (presença de trombos intra-luminares e áreas de hemorragia)	
Presente Ausente	
Tipo de reação inflamatória	
AG (aguda)	Caracterizada pelo predomínio de leucócitos polimorfonucleares e congestão vascular.
CR (crônica)	Caracterizada por resposta proliferativa às custas de fibroblastos e infiltrado celular predominantemente mononuclear (macrófagos, linfócitos e plasmócitos).
AG-CR (agudo-crônica)	Quando havia presença das reações sem predomínio de nenhuma delas.
Organização da cicatriz	
ORG (organizada)	Quando as fibras eram vistas formando feixes ordenados na tela subcutânea
DESORG (desorganizada)	Quando as fibras colágenas apresentavam-se irregularmente distribuídas na tela subcutânea
EM ORG (em organização)	Em todas as situações intermediárias.

4 RESULTADOS

Não se registraram óbitos durante o período de experimentação.

4.1 AVALIAÇÃO MACROSCÓPICA:

No 3^o dia, as feridas controle e irradiada, tanto no grupo A como no grupo B, mostravam as bordas coaptadas, sem sinais de infecção ou dermatites.

No 7^o, 14^o e 21^o dias as feridas controle e experimento, de ambos os grupos, exibiam aspecto semelhante, com ferida coaptada, sem sinais de edema, infecção ou dermatite.

Nas figuras 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 e 11 pode-se observar detalhes das feridas, nos animais de ambos os grupos, nos dias de aferição.

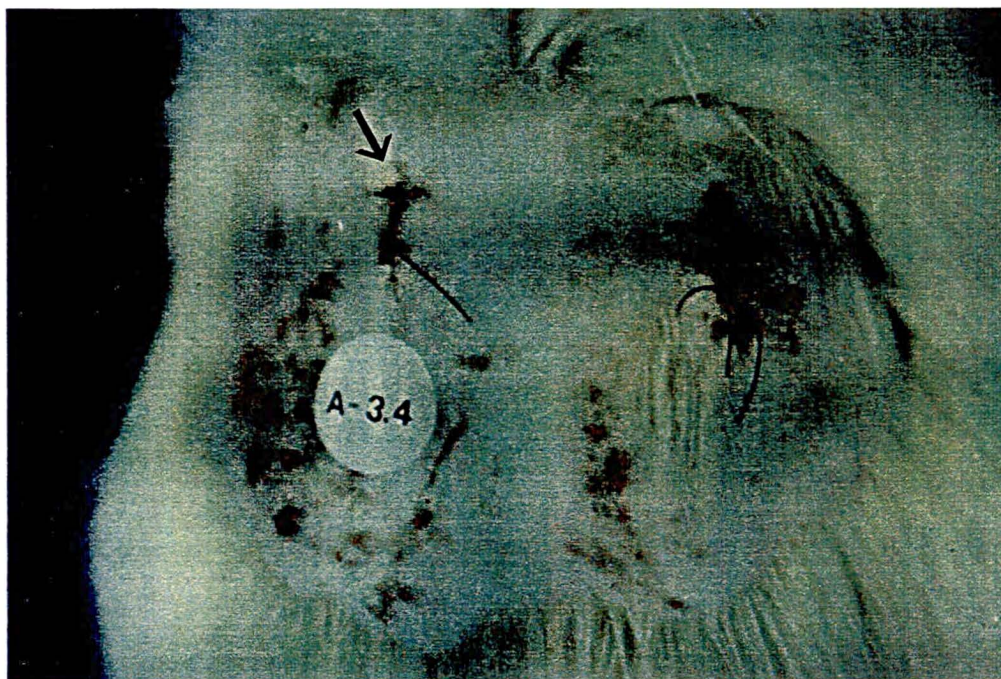


Figura 4 – Aspectos macroscópicos das feridas irradiada (↙) e não irradiada, no grupo A, no 3º dia de pós-operatório.

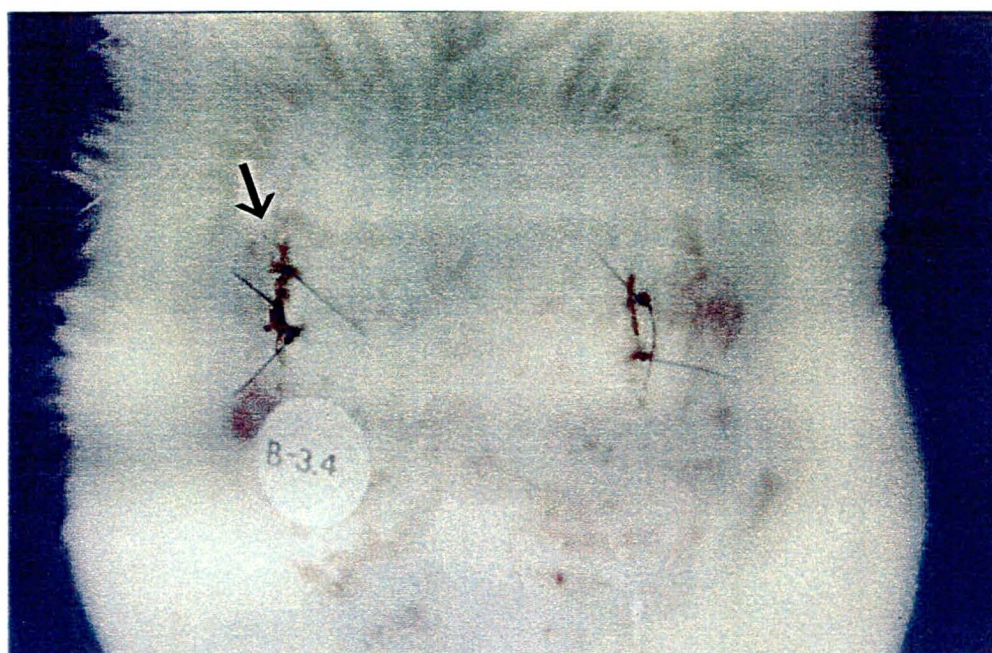


Figura 5 – Detalhes das feridas irradiada (↙) e não irradiada, no grupo B, no 3º dia de pós-operatório.

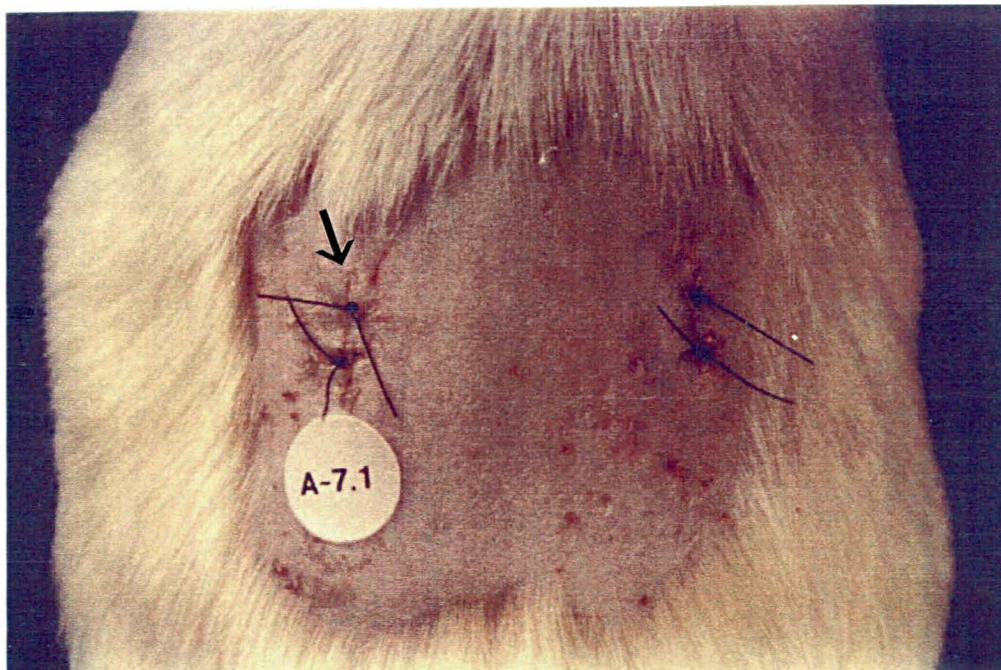


Figura 6 – Aspectos macroscópicos das feridas irradiada(↙) e não irradiada, no grupo A, no 7º dia de pós-operatório.

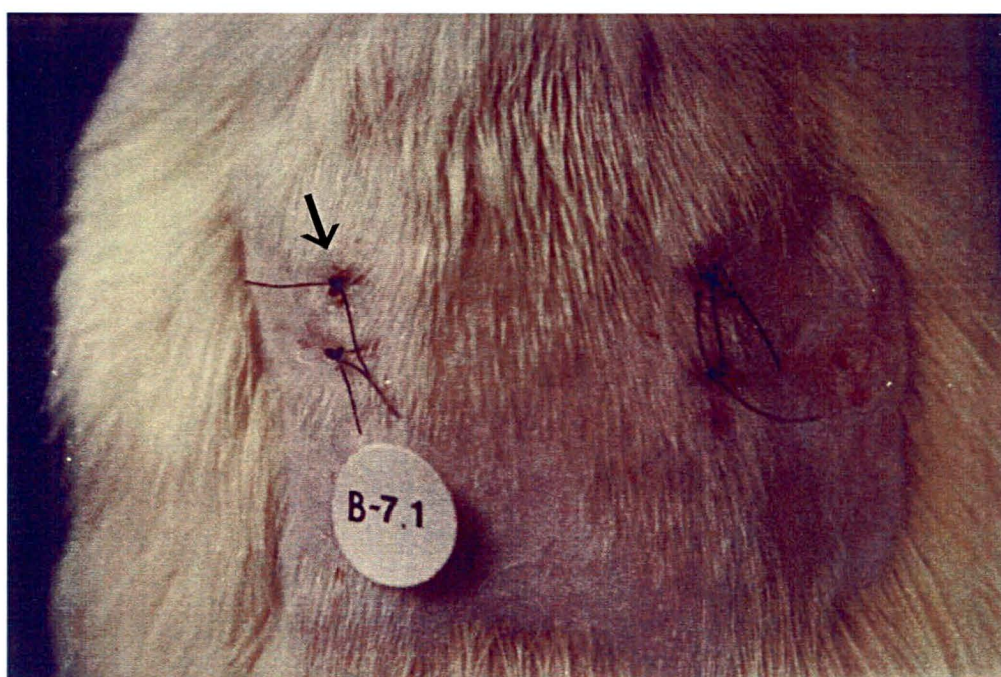


Figura 7 – Detalhes das feridas irradiada(↙) e não irradiada, no grupo B, no 7º dia de pós-operatório.

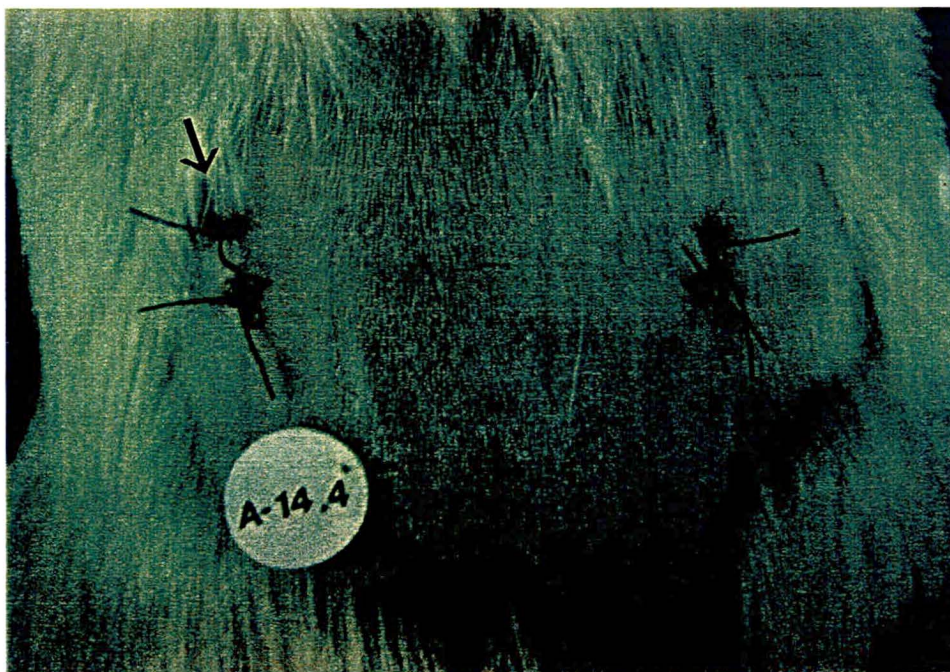


Figura 8 – Aspectos macroscópicos das feridas irradiada (↓) e não irradiada, no grupo A, no 14- dia de pós-operatório.



Figura 9 – Detalhes das feridas irradiada (↓) e não irradiada, no grupo B, no 14- dia de pós-operatório.

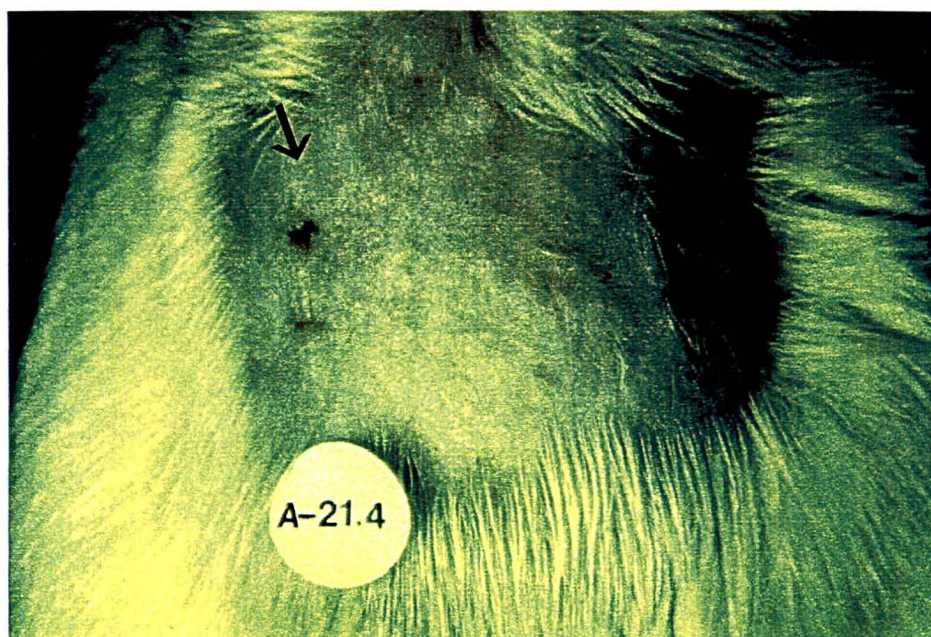


Figura 10 – Aspectos macroscópicos das feridas irradiada (↓) e não irradiada, no grupo A, no 21- dia de pós-operatório.

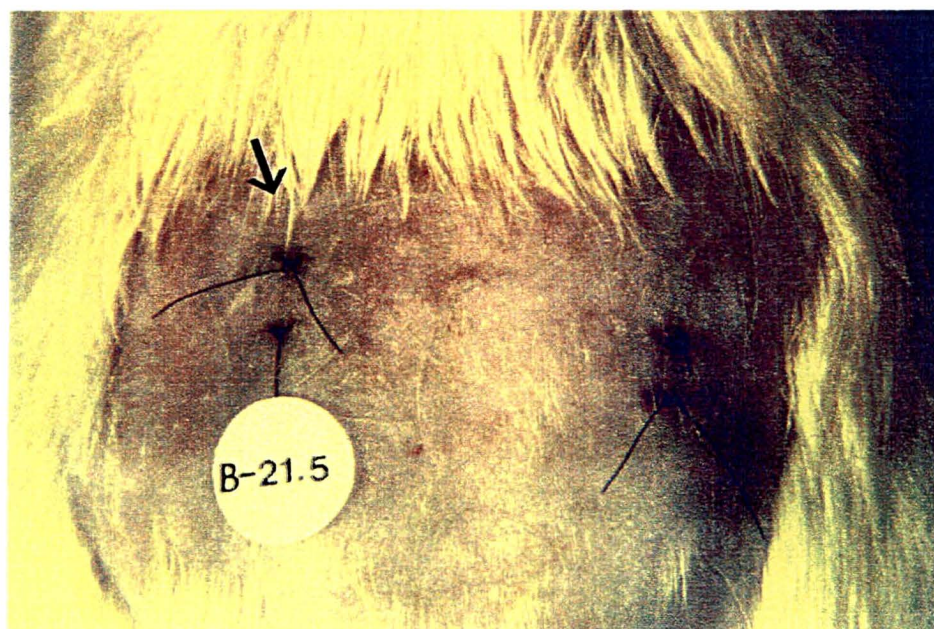


Figura 11 – Detalhes das feridas irradiada (↓) e não irradiada, no grupo B, no 21- dia de pós-operatório.

4.2 AVALIAÇÃO MICROSCÓPICA:

- CONTROLE A-3: Os cortes histológicos mostraram epitélio descontínuo, tendo na superfície uma crosta fibrinoleucocitária. Abaixo podia-se visibilizar um infiltrado linfoplasmocitário e mais profundamente, tecido de granulação, vasos sanguíneos e fibras colágenas desordenadas.

- IRRADIADO A-3: Notava-se epitélio descontínuo recoberto por crosta fibrinoleucocitária. Na derme profunda havia edema. Os fibroblastos mostravam-se atípicos e o endotélio dos vasos tumefeito.

- CONTROLE B-3: Os achados foram semelhantes ao CONTROLE A-3.

- IRRADIADO B-3: Os achados foram semelhantes ao IRRADIADO A-3

- CONTROLE A-7: Neste tempo o epitélio ainda estava descontínuo em alguns animais e pequena crosta fibrinoleucocitária podia ser vista na superfície. Na derme o processo inflamatório era mínimo e podia-se observar fibras colágenas em ordenação.

- IRRADIADO A-7: O epitélio era descontínuo em alguns animais recoberto por uma crosta fibrinoleucocitária. Moderada reação inflamatória era vista na derme com infiltrado linfoplasmocitário, edema e fibroblastos atípicos. Colágeno desordenado podia ser identificado.

- CONTROLE B-7: Aspectos histológicos semelhantes ao CONTROLE A-7.

- IRRADIADO B-7: Aspectos histológicos semelhantes ao IRRADIADO A-7.

- CONTROLE A-14: O epitélio era íntegro. Havia pouca reação inflamatória e grande quantidade de fibras colágenas em ordenação.

- IRRADIADO A-14: O epitélio era íntegro. Havia infiltrado linfoplasmocitário, atipia de fibroblastos e dilatação dos vasos sanguíneos. O colágeno era delicado e desorganizado.

- CONTROLE B-14: Observaram-se aspectos histológicos semelhantes ao CONTROLE A-14.
- IRRADIADO B-14: Observaram-se aspectos histológicos semelhantes ao IRRADIADO A-14.
- CONTROLE A-21: O epitélio estava íntegro em todos os cortes histológicos examinados. A área de cicatriz era mínima e o colágeno encontrava-se em alguns animais em organização e em outros organizado.
- IRRADIADO A-21: O epitélio era contínuo com aspectos de integridade. O processo inflamatório era mínimo. A área de cicatriz era microscopicamente mais larga e os vasos sanguíneos estavam dilatados. O colágeno encontrava-se organizado.
- CONTROLE B-21: Observaram-se aspectos histológicos semelhantes ao CONTROLE A-21.
- IRRADIADO B-21: Observaram-se aspectos histológicos semelhantes ao IRRADIADO A-21.

Nas figuras 12, 13, 14 e 15 podem ser observados os aspectos histológicos das feridas, de ambos os grupos nos 3^o, 7^o, 14^o e 21^o dias, na coloração de hematoxilina-eosina.

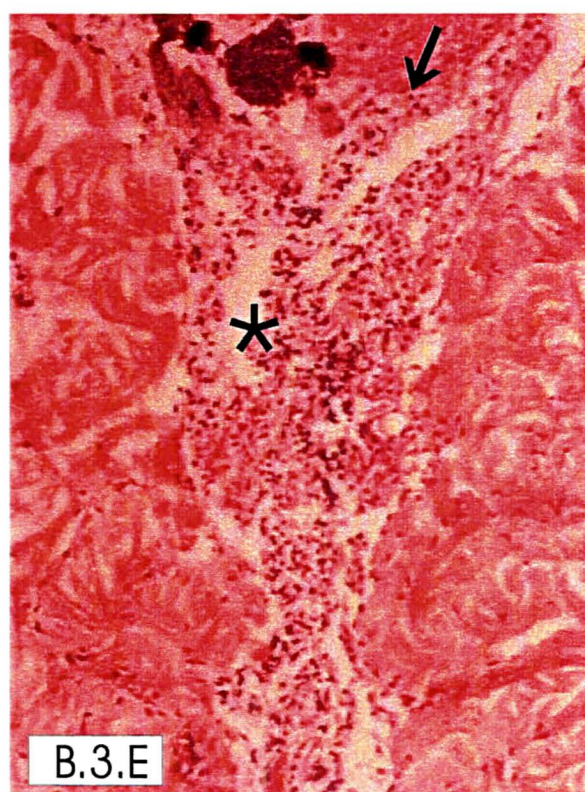
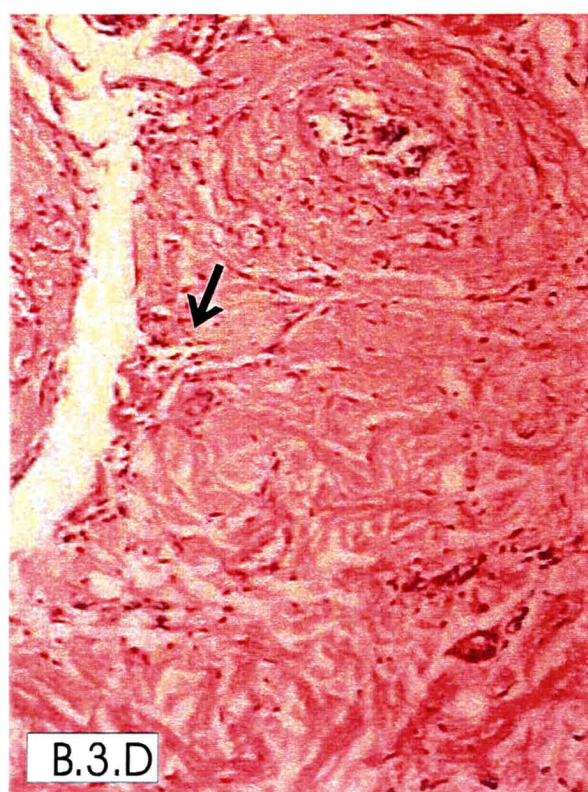
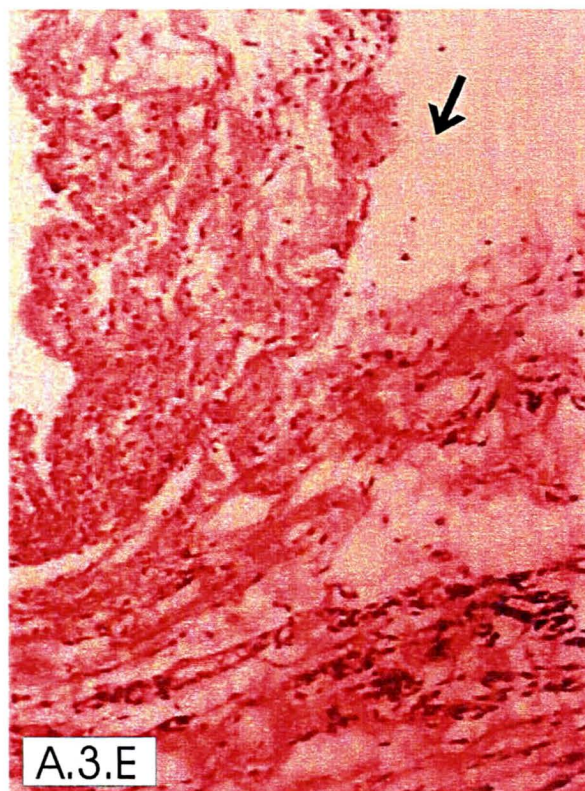
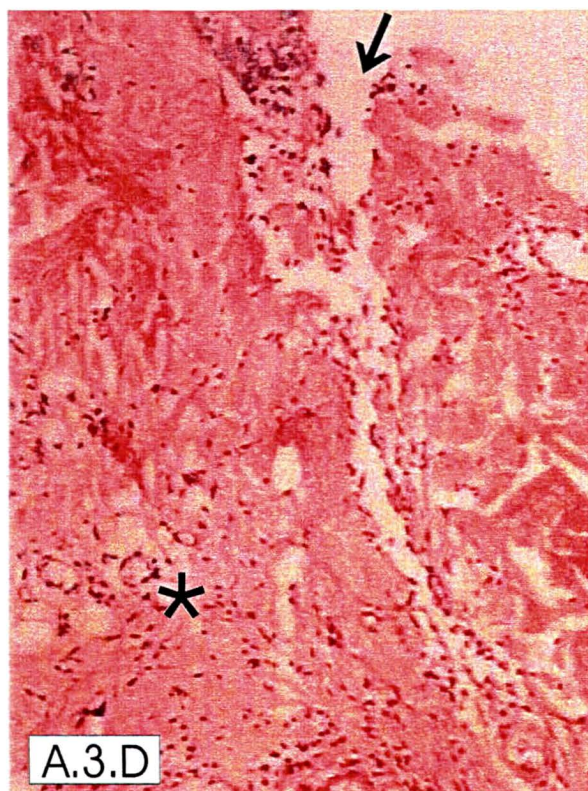


Figura 12 - Fotomicrografia de feridas dos animais dos 2 grupos, no 3º dia de pós-operatório (H.E., 100X).

A.3.D: ferida não irradiada onde se verifica superfície não epitelizada (↓) e tecido de granulação (*).

A.3.E: ferida irradiada diariamente. Observa-se crosta fibrinoleucocitária (↓).

B.3.D: ferida não irradiada onde se observa pequena reação inflamatória (↓).

B.3.E: ferida irradiada em dias alternados. Tem-se superfície não epitelizada com crosta fibrinoleucocitária (↓) e reação inflamatória agudo-crônica com infiltrado de polimorfonucleares e monomorfonucleares (*).

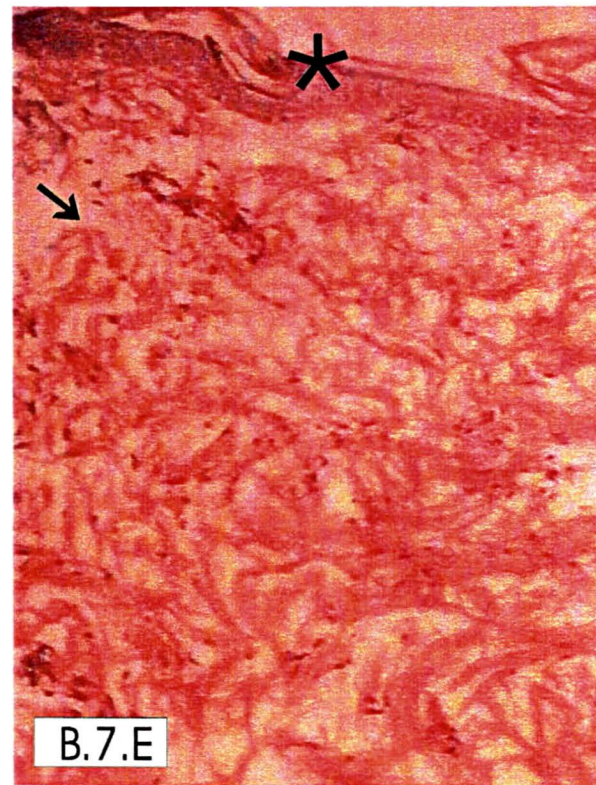
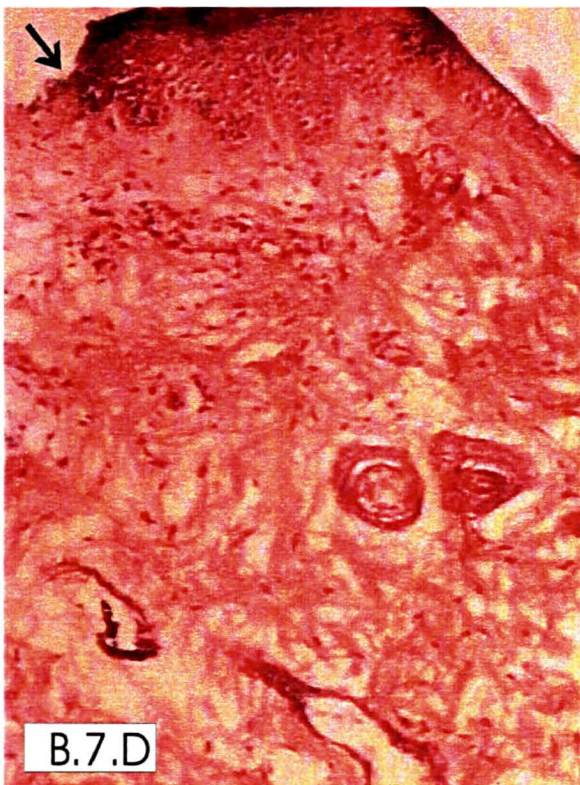
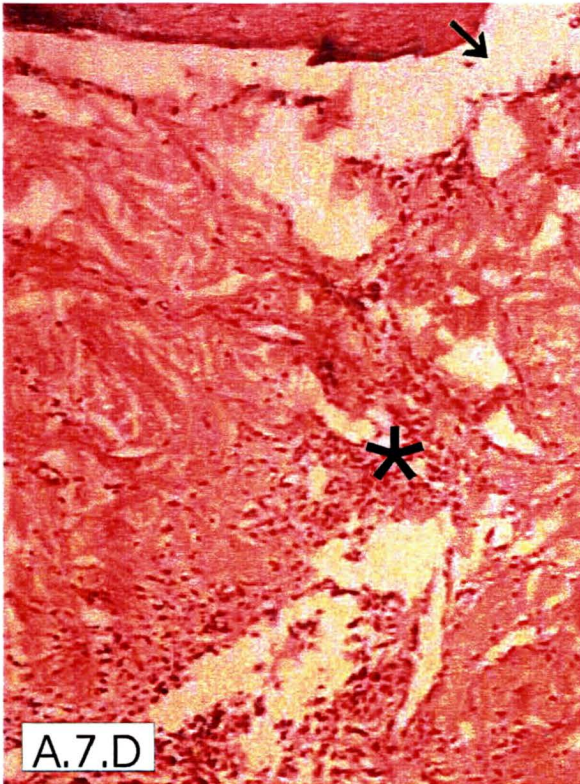


Figura 13 – Fotomicrografia de feridas dos animais dos 2 grupos, no 7^o dia de pós-operatório (H.E., 100X).

- A.7.D: ferida controle onde se visibiliza epitélio descontínuo (↓) e reação inflamatória agudo-crônica (*).
- A.7.E: ferida irradiada diariamente com epitelização (↓).
- B.7.D: ferida controle onde se observa epitélio descontínuo (↓).
- B.7.E: ferida irradiada em dias alternados. Tem-se cicatriz(↓) com epitelização completa (*).

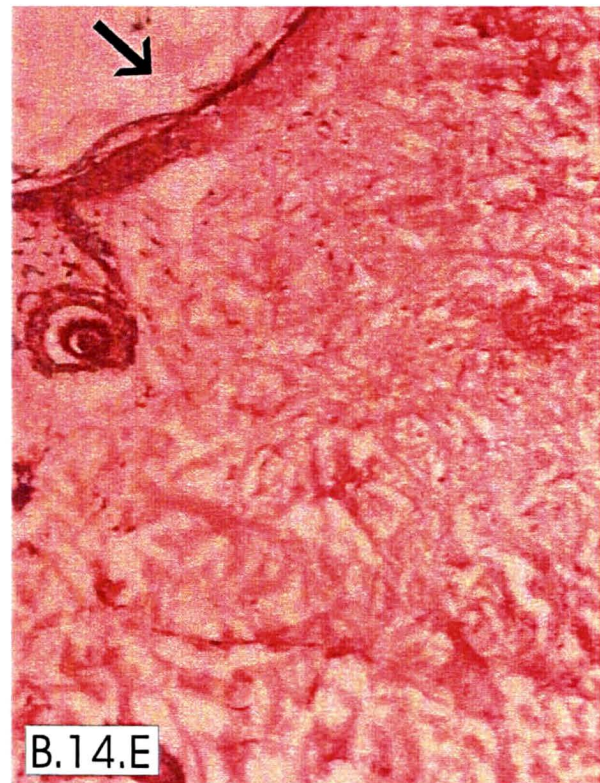
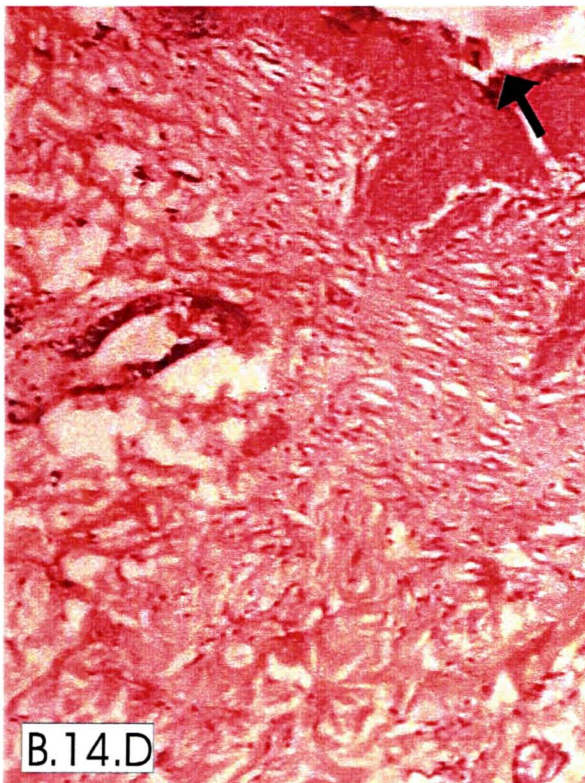
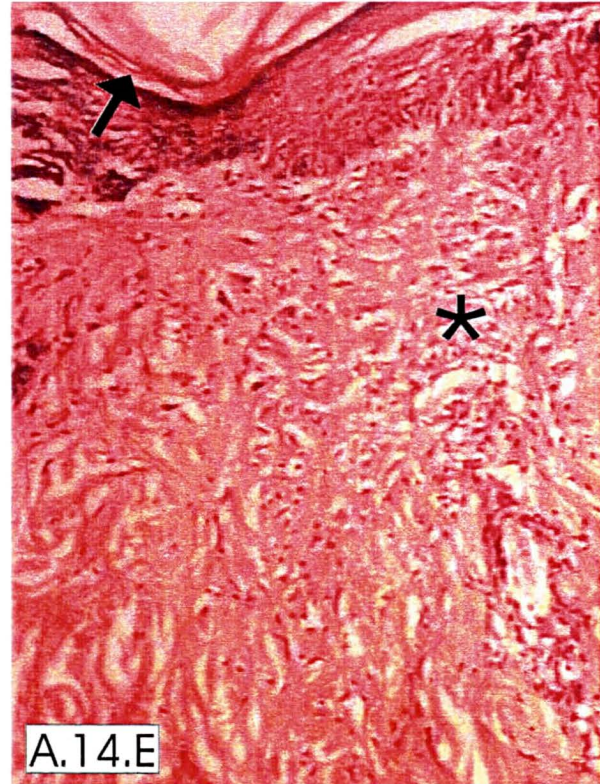
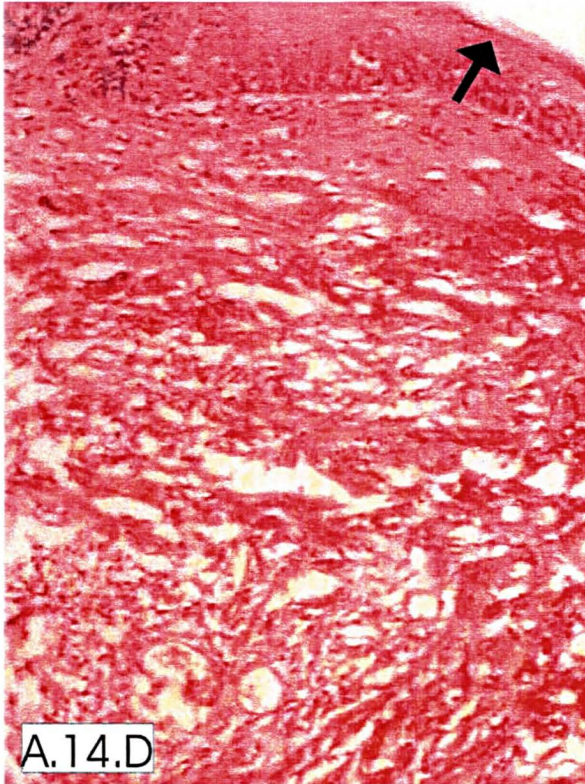


Figura 14 - Fotomicrografia de feridas dos animais dos 2 grupos, no 14º dia de pós-operatório (H.E., 100X).

- A.14.D: ferida controle onde se visibiliza epiteliação completa(↓) com ausência de anexos da pele.
 A.14.E: ferida irradiada diariamente com epiteliação completa(↓) e infiltrado linfoplasmocitário (*).
 B.14.D: ferida controle onde se observa epiteliação completa (↓) com ausência de anexos da pele e reação inflamatória mínima.
 B.14.E: ferida irradiada em dias alternados. Tem-se superfície com epiteliação completa(↓).

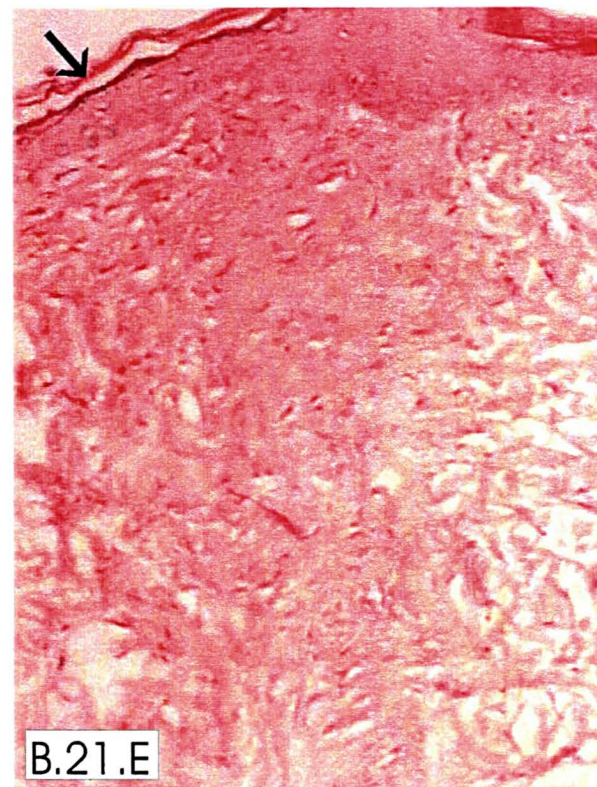
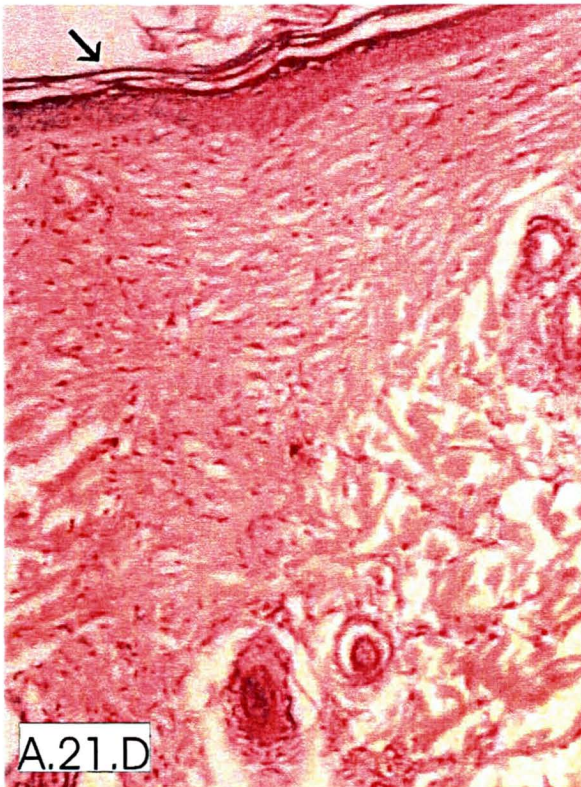


Figura 15 - Fotomicrografia de feridas dos animais dos 2 grupos, no 21^o dia de pós-operatório (H.E., 100X).

A.21.D: ferida controle.

A.21.E: ferida irradiada diariamente.

B.21.D: ferida controle.

B.21.E: ferida irradiada em dias alternados.

Os aspectos histológicos são semelhantes, com epitelização completa (↓) e reaparecimento de folículos pilosos (*).

Cada um dos parâmetros histológicos foi avaliado quantitativamente e será transcrito a seguir:

4.2.1 Estado de epitelização:

O estado de epitelização não apresentou variação estatisticamente significativa entre os grupos, ou seja, no decorrer dos dias o estado de epitelização manteve-se homogêneo, quer seja nos grupos com feridas irradiadas diariamente ou em dias alternados bem como nos seus controles (Quadro 4).

As tabelas de contingência podem ser visibilizadas no Anexo I, com exceção das tabelas do 14^o e 21^o dias. Nestes tempos as feridas apresentavam a epitelização completa para todos os animais, nos dois grupos.

QUADRO 4 – NÍVEL DE SIGNIFICÂNCIA DO ESTADO DE EPITELIZAÇÃO NO 3^o e 7^o DIAS, NOS GRUPOS A e B COMPARADOS COM SEUS CONTROLES (Teste exato de Fischer)

Grupos	Unilateral	Bilateral
A.3.D X A.3.E	p= 0,7381	p= 1,0000
B.3.D X B.3.E	p= 0,5000	p= 1,0000
A.3.E X B.3.E	p= 0,5000	p= 1,0000
A.7.D X A.7.E	p= 0,5000	p= 1,0000
B.7.D X B.7.E	p= 0,2222	p= 0,4444
A.7.E X B.7.E	p= 0,5000	p= 1,0000

Na Figura 16, observam-se as diferenças significantes entre os grupos A e B no 3^o e 7^o dias.

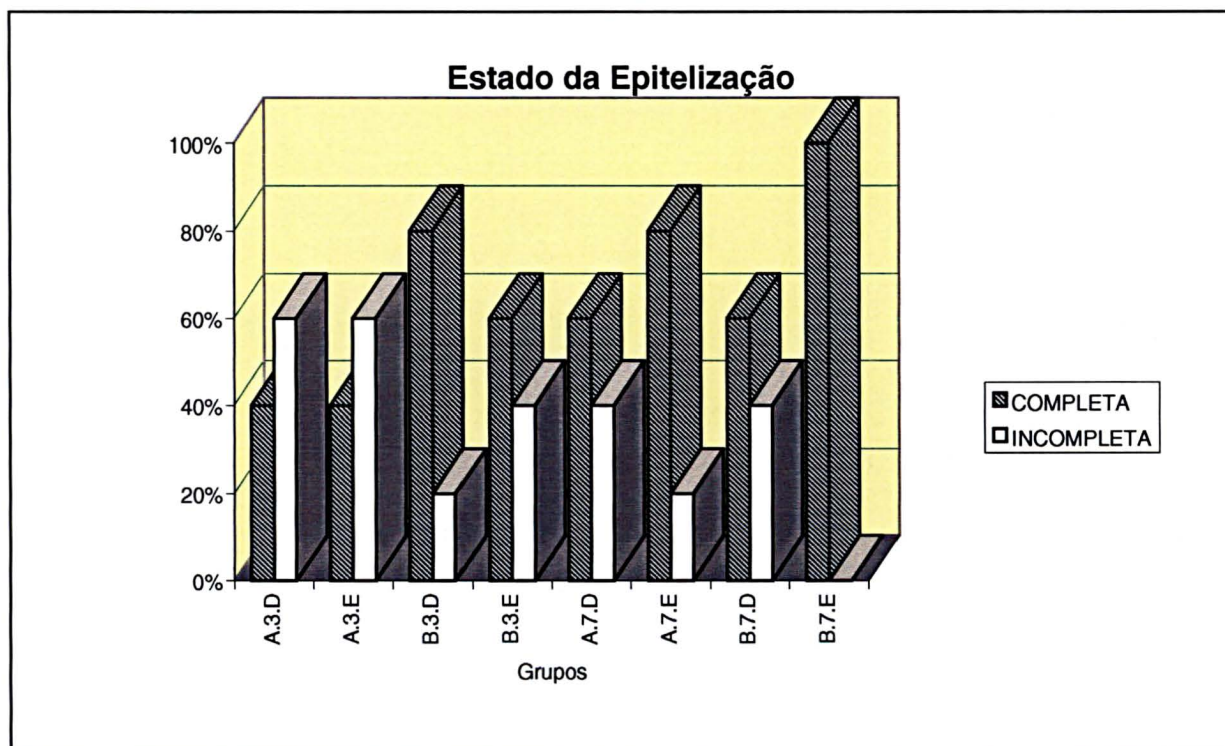


FIGURA 16 - Estado da epiteliação no 3^o e 7^o dias, nos grupos A e B.

4.2.2 Presença de angiogênese:

A presença de angiogênese deu-se de forma homogênea no decorrer dos dias, em ambos os grupos, não apresentando nenhuma diferença estatisticamente significativa (Quadro 5)

No 3^o dia esteve presente em todos os animais e no 21^o dia ausente em todos eles.

As tabelas de contingência podem ser visibilizadas no Anexo II.

QUADRO 5 - NÍVEL DE SIGNIFICÂNCIA DA PRESENÇA DE ANGIOGÊNESE NO 7º e 14º DIAS, NOS GRUPOS A e B COMPARADOS COM SEUS CONTROLES (Teste exato de Fischer)

Grupos	Unilateral	Bilateral
A.7.D X A.7.E	p= 0,5000	p= 1,0000
B.7.D X B.7.E	p= 0,5000	p= 1,0000
A.7.E X B.7.E	p= 0,7778	p= 1,0000
A.14.D X A.14.E	p= 0,2619	p= 0,5238
B.14.D X B.14.E	p= 0,2619	p= 0,5238
A.14.E X B.14.E	p= 0,5000	p= 1,0000

A figura 17 mostra uma leve alteração na presença da angiogênese no 14º dia nos grupos A e B, entretanto, não significativa.

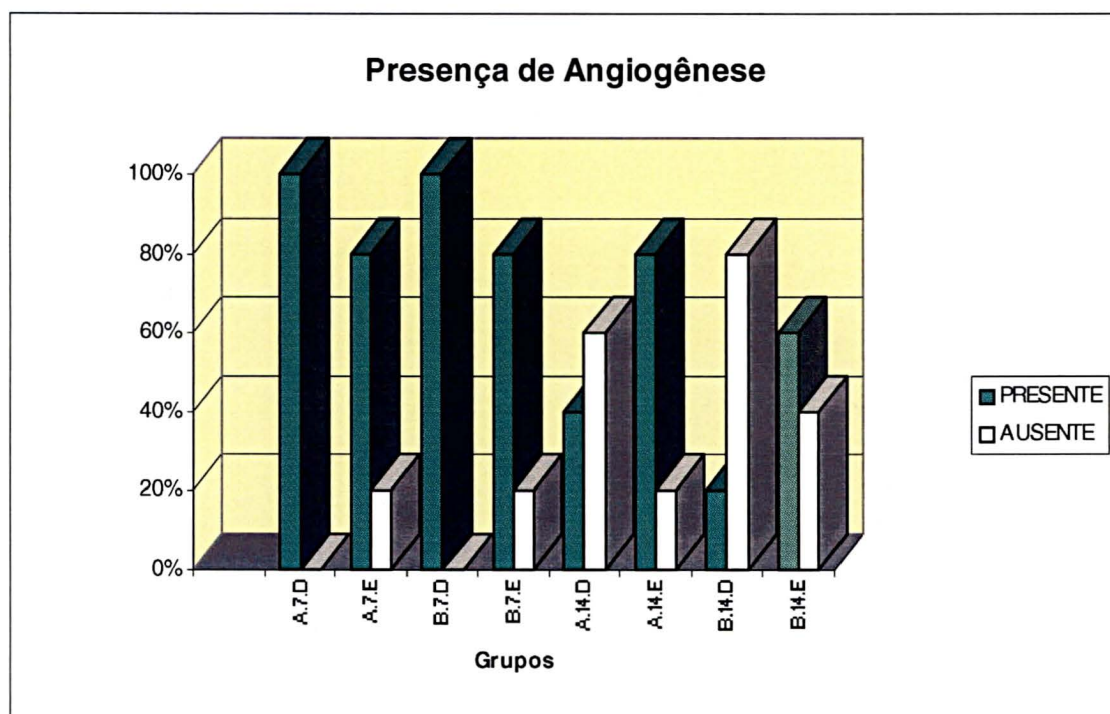


Figura 17 - Presença de angiogênese no 7º e 14º dias, nos grupos A e B.

4.2.3 Presença de congestão vascular:

Detectou-se congestão vascular somente no 3^o dia e não se verificou diferença significativa entre os grupos (Quadro 6).

As tabelas de contingência podem ser visibilizadas no Anexo III.

QUADRO 6 - NÍVEL DE SIGNIFICÂNCIA DA PRESENÇA DE CONGESTÃO VASCULAR NO 3^o DIA, NOS GRUPOS A e B (Teste exato de Fischer).

Grupos	Unilateral	Bilateral
A.3.D X A.3.E	p= 0,5000	P= 1,0000
B.3.D X B.3.E	p= 0,5000	P= 1,0000
A.3.E X B.3.E	p= 0,5000	P= 1,0000

Na figura 18 é possível identificar a semelhança entre os grupos.

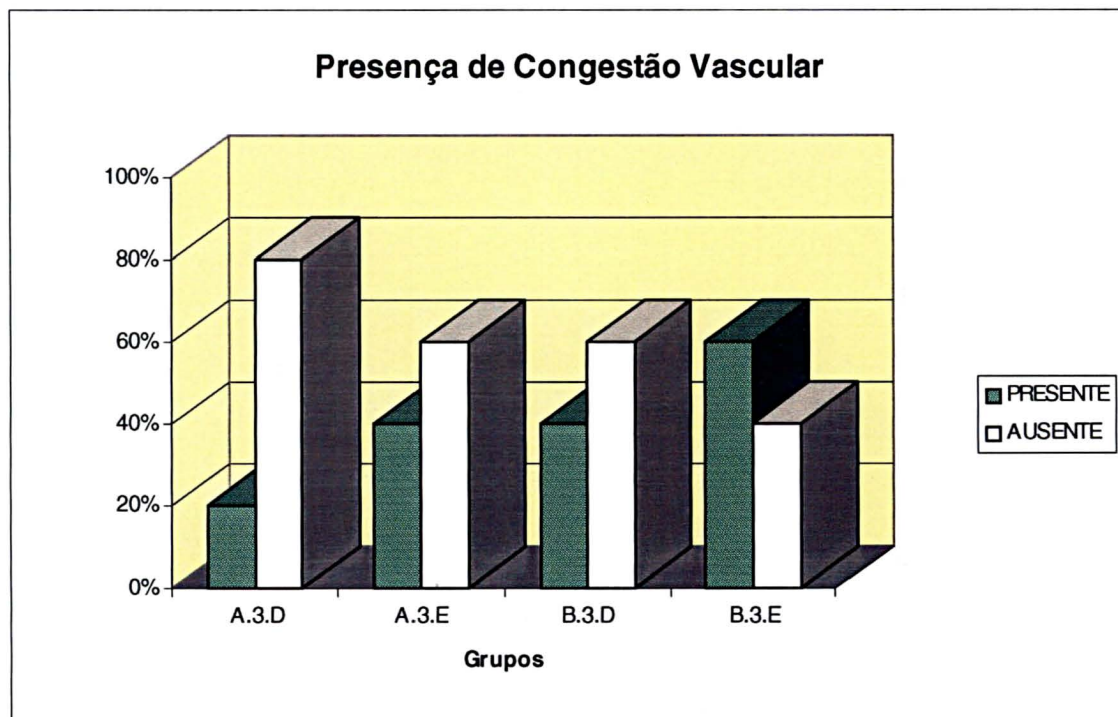


Figura 18 - Presença de congestão vascular no 3^o dia, nos grupos A e B.

4.2.4 Tipo de Reação Inflamatória:

Apesar de não ter sido verificada nenhuma diferença estatisticamente significativa entre os itens estudados até agora, a reação inflamatória foi o fator que mais diferiu entre os grupos (Quadro 7), sendo que algumas feridas não apresentaram nenhum tipo de reação.

QUADRO 7 - NÍVEL DE SIGNIFICÂNCIA DO TIPO DE REAÇÃO INFLAMATÓRIA NO 3^o, 7^o, 14^o e 21^o DIAS, NOS GRUPOS A e B (Teste exato de Fischer)

Grupos	Unilateral	Bilateral
A.3.D X A.3.E	p= 0,5000	p= 1,0000
B.3.D X B.3.E	p= 0,7778	p= 1,0000
A.3.E X B.3.E	p= 0,1032	p= 1,0000
A.7.D X A.7.E	p= 0,2857	p= 0,4643
B.7.D X B.7.E	p= 0,3571	p= 0,5238
A.7.E X B.7.E	p= 0,3714	p= 0,4857
A.14.D X A.14.E	p= 0,2143	p= 0,4286
B.14.D X B.14.E		*
A.14.E X B.14.E		*
A.21.D X A.21.E	p= 0,5000	p= 1,0000
B.21.E X B.21.D	p= 0,5000	p= 1,0000
A.21.E X B.21.E		**

* Grupo B.14.E com reação inflamatória ausente.

** Houve somente um tipo de reação (CR).

A reação aguda (AG) deu-se somente no 3^o dia e neste tempo não se detectou reação inflamatória do tipo crônica (Figuras 19 e 20).

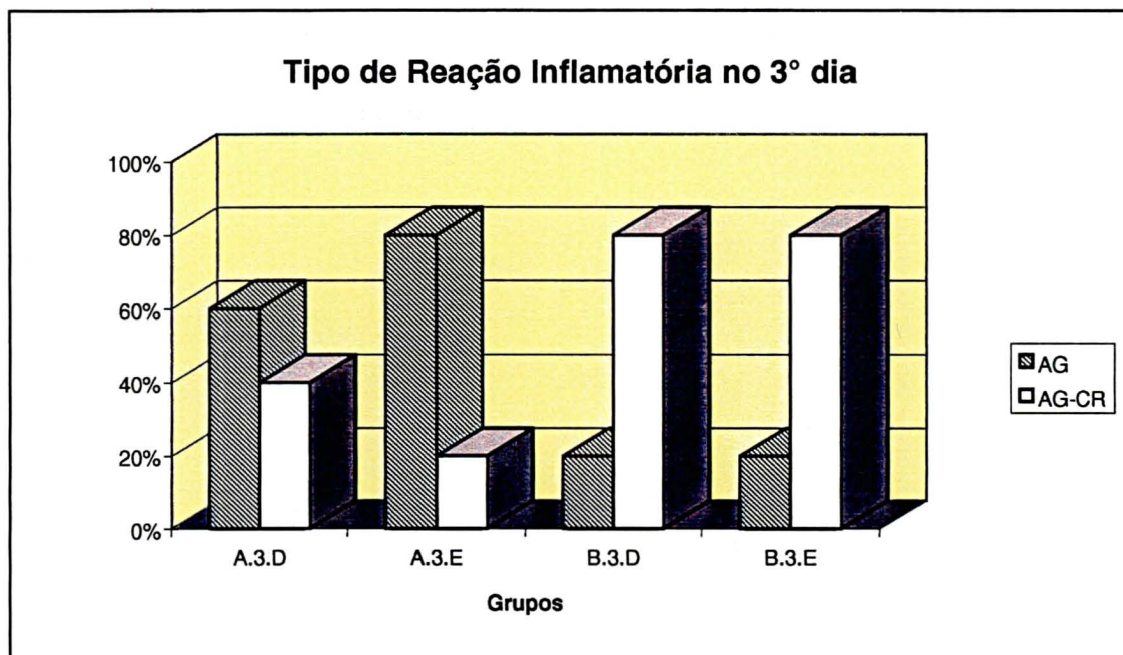


Figura 19 – Tipo de reação inflamatória no 3º dia, nos grupos A e B.

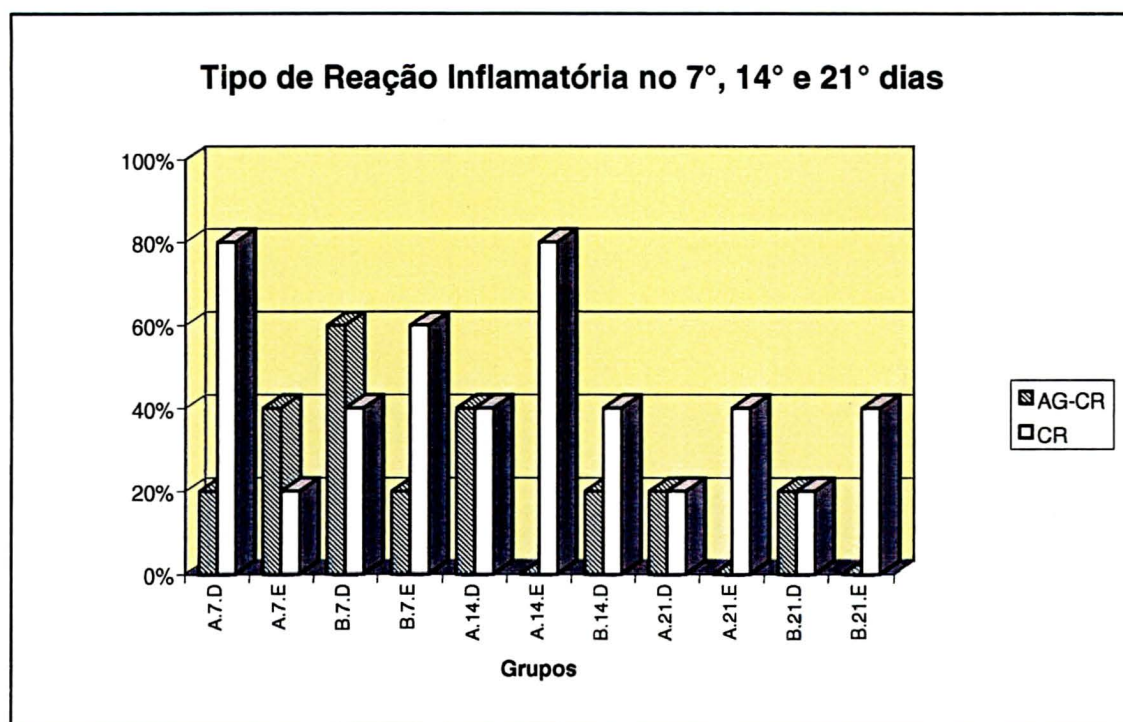


Figura 20 – Tipo de reação inflamatória no 7º, 14º e 21º dias, nos grupos A e B.

4.2.5 Organização da Cicatriz:

A organização da cicatriz não apresentou variação estatisticamente significativa entre os grupos. No decorrer dos dias a organização da cicatriz manteve-se homogênea, quer seja nos grupos para feridas irradiadas diariamente, quer para as em dias alternados, quer seja nos seus controles (Quadro 8)

QUADRO 8 - NÍVEL DE SIGNIFICÂNCIA PARA ORGANIZAÇÃO DA CICATRIZ NO 3^o, 7^o, 14^o e 21^o DIAS, NOS GRUPOS A e B (Teste exato de Fischer)

Grupos	Unilateral	Bilateral
A.3.D X A.3.E	p= 0,5000	p= 1,0000
B.3.D X B.3.E	p= 0,5000	p= 1,0000
A.3.E X B.3.E	p= 0,5000	p= 1,0000
A.7.D X A.7.E	p= 0,5000	p= 1,0000
B.7.D X B.7.E	p= 0,2619	p= 0,5238
A.7.E X B.7.E	p= 0,5000	p= 1,0000
A.14.D X A.14.E	p= 0,5000	p= 1,0000
B.14.D X B.14.E	p= 0,2619	p= 0,5238
A.14.E X B.14.E	p= 0,2619	p= 0,5238
A.21.D X A.21.E	p= 0,2222	p= 0,4444
B.21.E X B.21.D	p= 0,7381	p= 1,0000
A.21.E X B.21.E	p= 0,2222	p= 0,4444

Graficamente as cicatrizes organizam-se ao passar do tempo (Figuras 21 e 22).

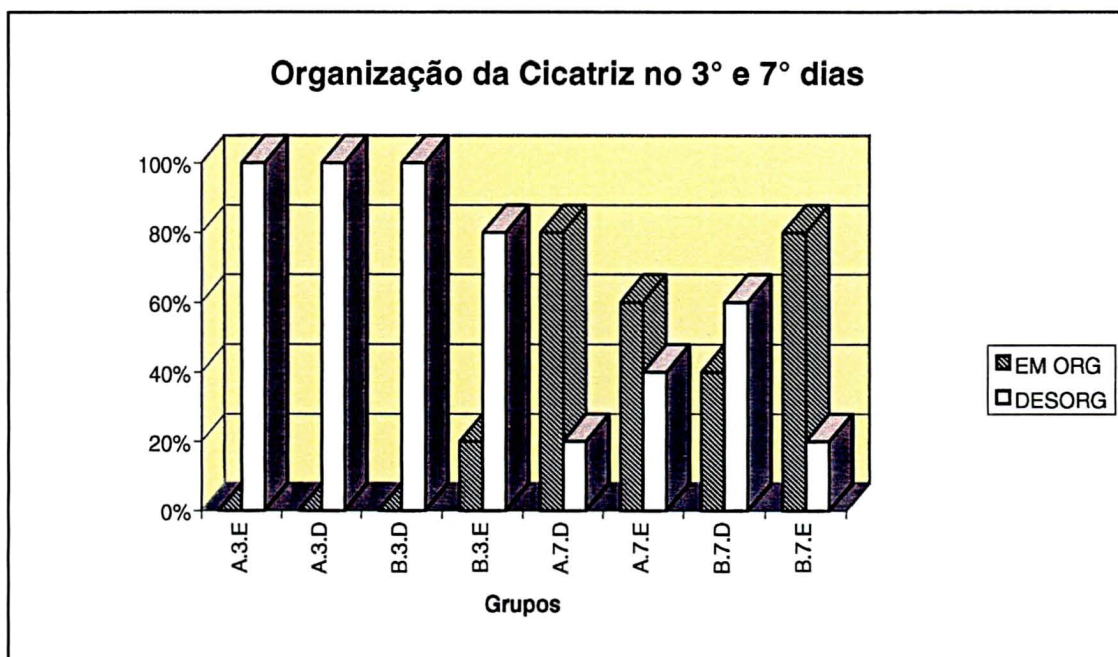


Figura 21 – Organização da cicatriz no 3º e 7º dias, nos grupos A e B.

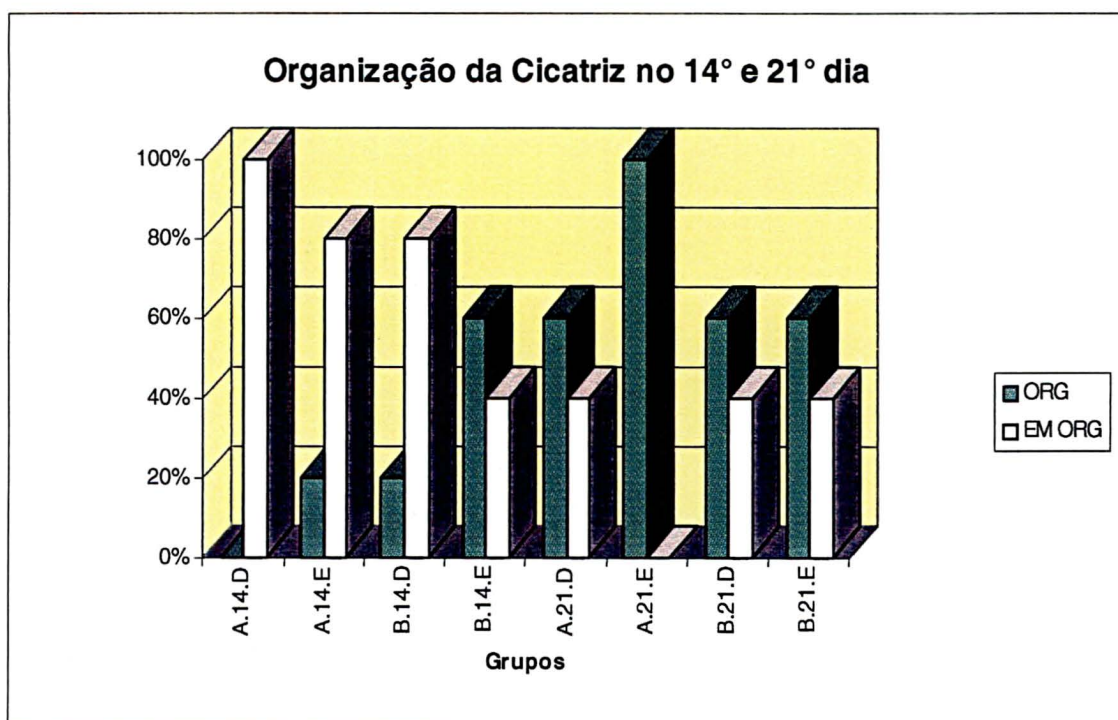


Figura 22 – Organização da cicatriz no 14º e 21º dias, nos grupos A e B.

- Nas figuras 23, 24, 25 e 26 pode-se perceber o grau de organização das cicatrizes pela coloração do tricrômico de Mallory.

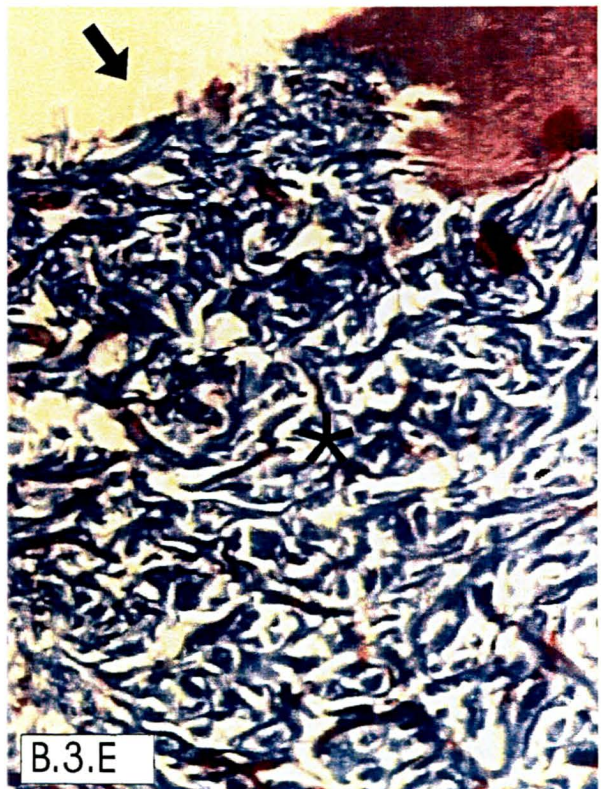
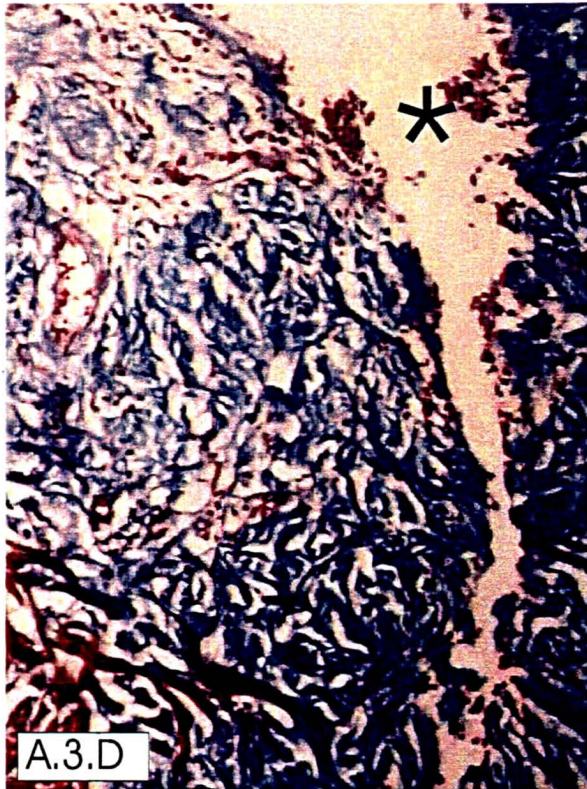


Figura 23 - Fotomicrografias de cortes histológicos de feridas de animais dos 2 grupos, no 3º dia de pós-operatório (Mallory, 100X).

- A.3.D: ferida não irradiada onde se vê tecido descontínuo e reação inflamatória(*).
- A.3.E: ferida irradiada diariamente. Observa-se fibras colágenas desorganizadas(*).
- B.3.D: ferida não irradiada. Vê-se área de cicatriz com menor densidade de tecido colágeno (*).
- B.3.E: ferida irradiada em dias alternados. Tem-se epitélio descontínuo (↓) e fibras colágenas desorganizadas (*).

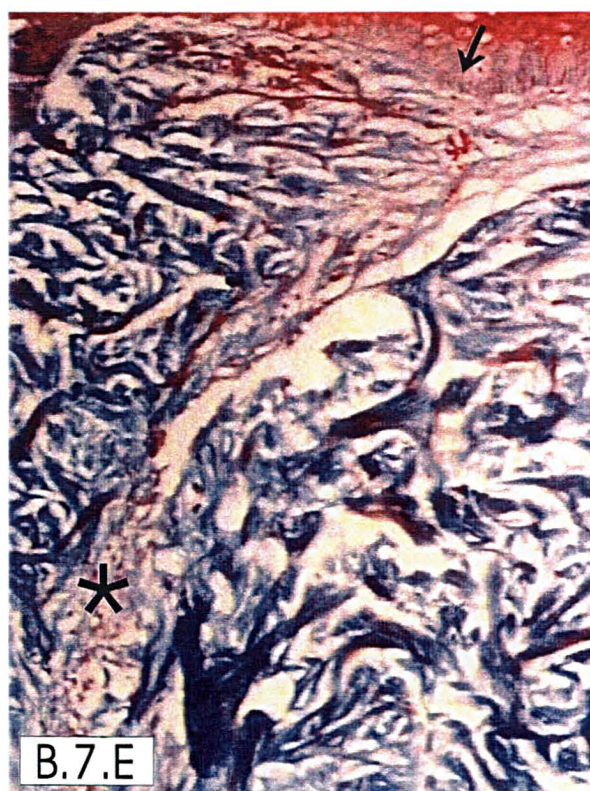
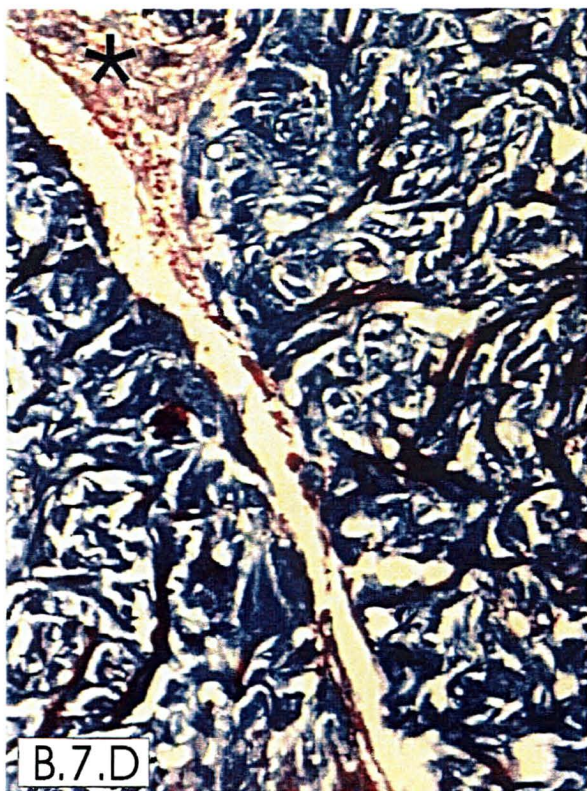
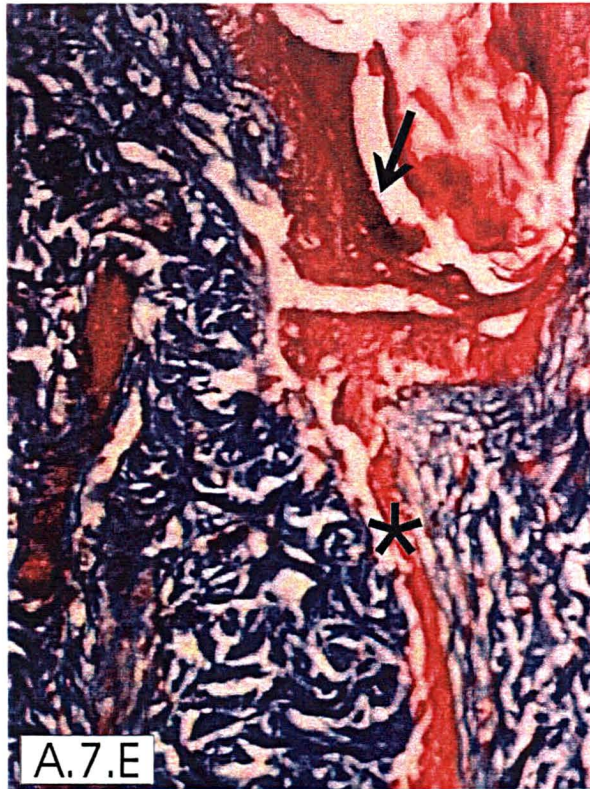
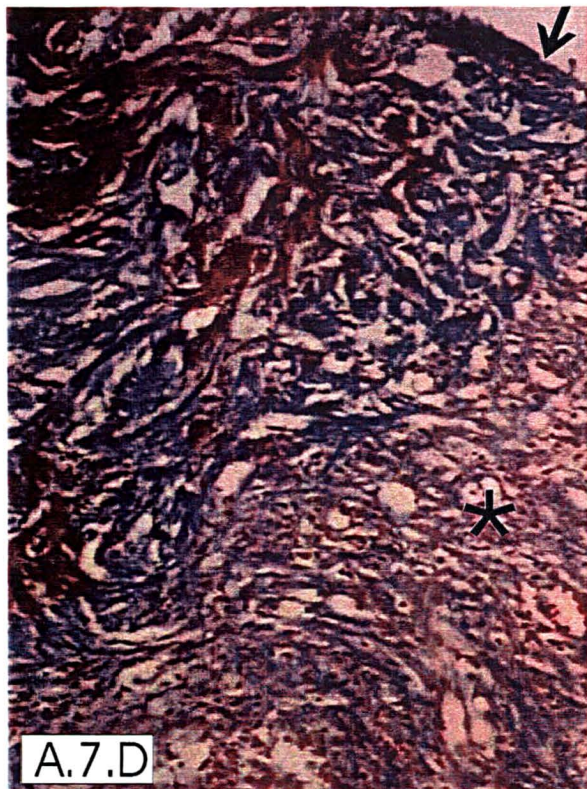


Figura 24 - Fotomicrografias de cortes histológicos de feridas de animais dos 2 grupos, no 7º dia de pós-operatório (Mallory, 100X).

- A.7.D: ferida controle com epitélio descontínuo(↓) e menor densidade de fibras colágenas(*).
 A.7.E: ferida irradiada diariamente com epiteliação completa. Observa-se área de cicatriz(*).
 B.7.D: ferida controle mostrando colágeno em organização (*).
 B.7.E: ferida irradiada em dias alternados. Tem-se epiteliação completa (↓) com colágeno em organização(*).

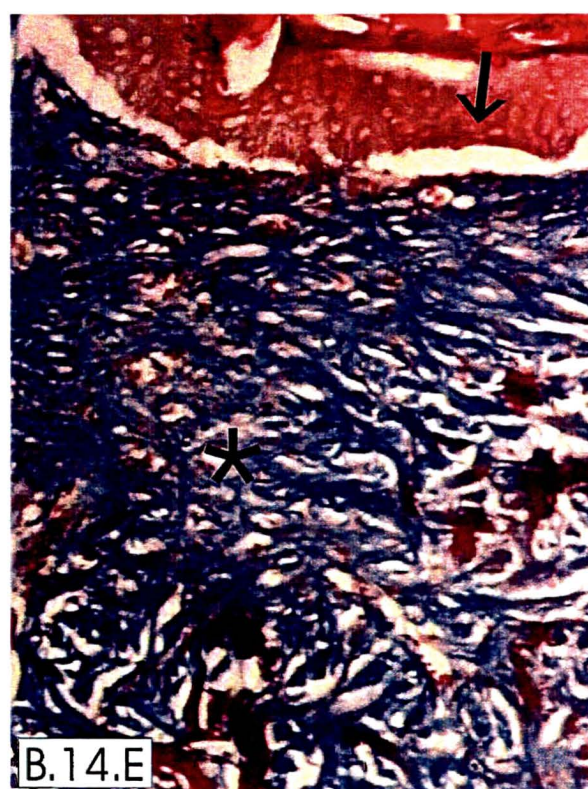
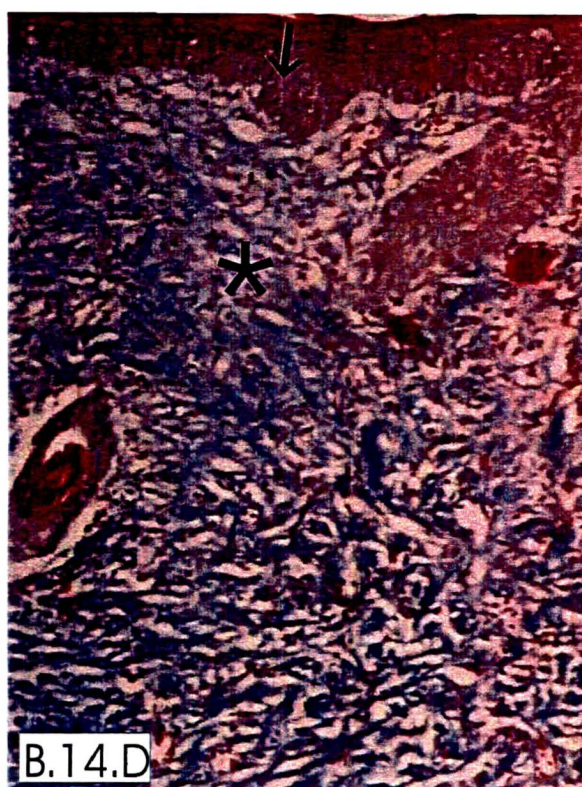
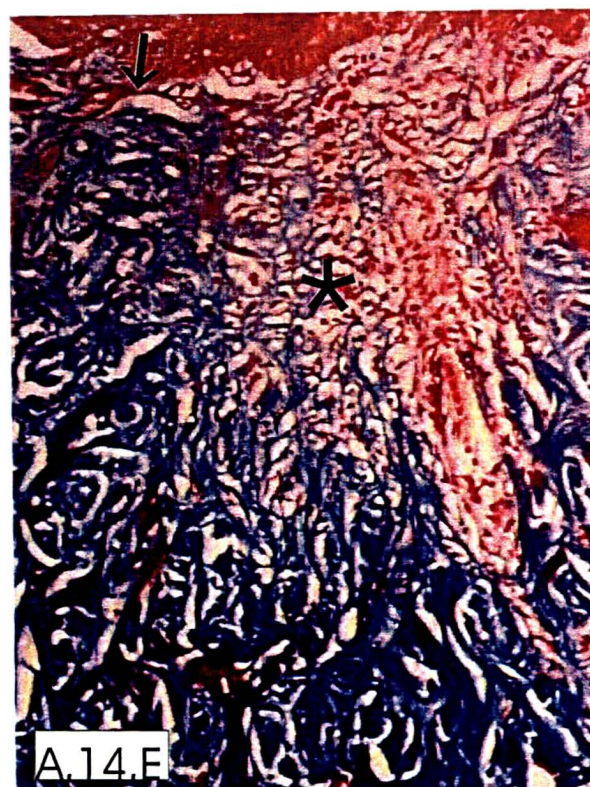
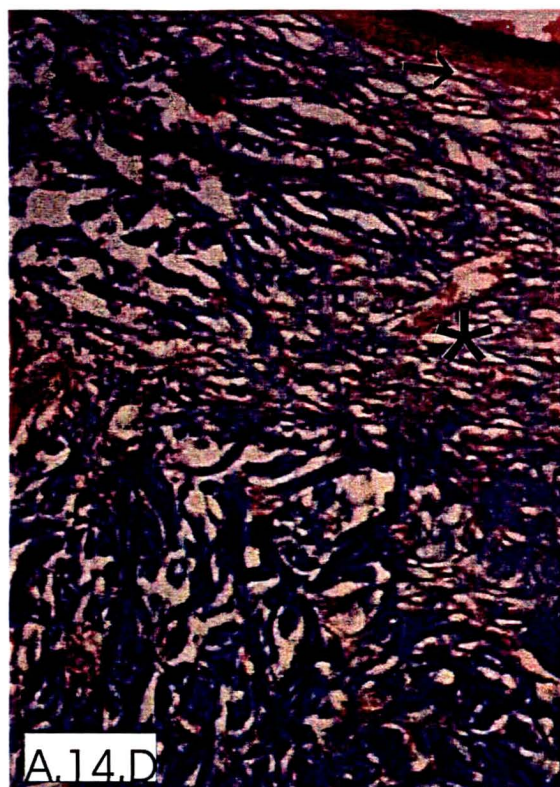


Figura 25 - Fotomicrografias de cortes histológicos de feridas de animais dos 2 grupos, no 14^º dia de pós-operatório (Mallory, 100X).

A.14.D: ferida controle.

A.14.E: ferida irradiada diariamente.

B.14.D: ferida controle.

B.14.E: ferida irradiada em dias alternados.

Visibiliza-se em todos os cortes histológicos, epitelização completa (↓) e fibras colágenas em organização (*).

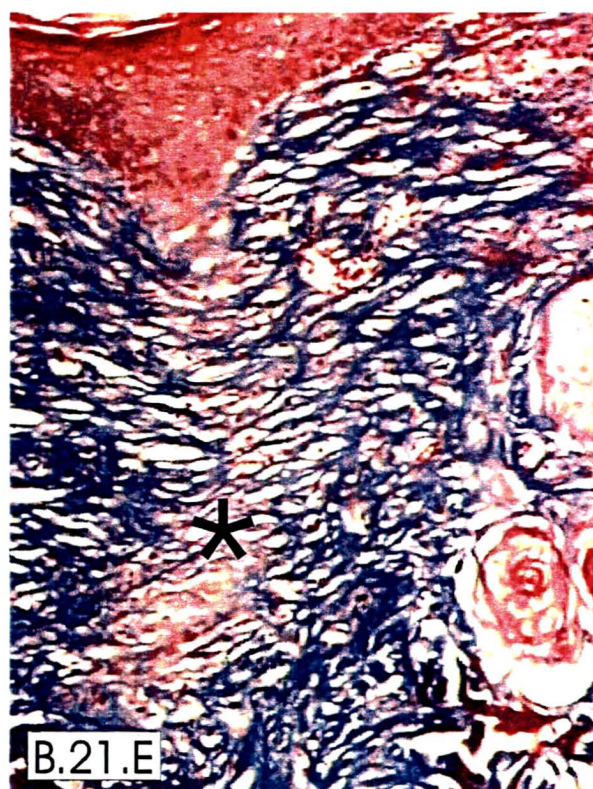
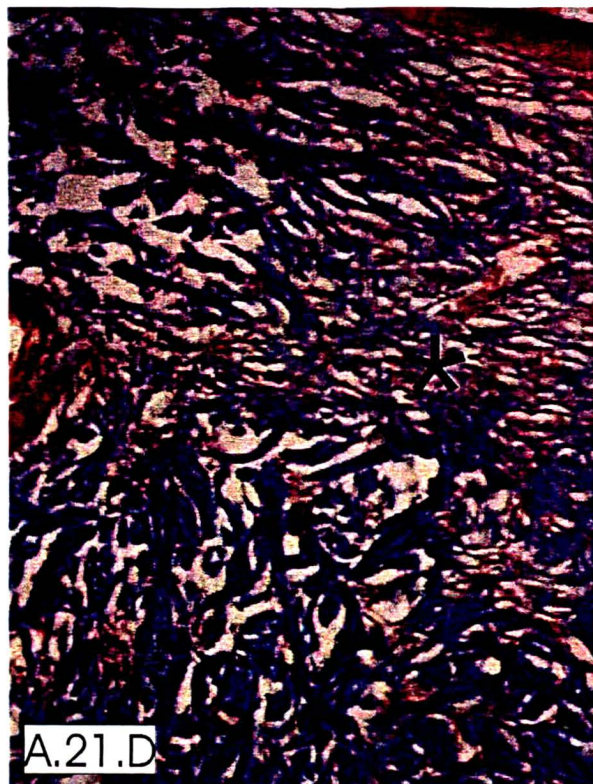


Figura 26 - Fotomicrografias de cortes histológicos de feridas de animais dos 2 grupos, no 21º dia de pós-operatório (Mallory, 100X).

A.21.D: ferida controle.

A.21.E: ferida irradiada diariamente.

B.21.D: ferida controle.

B.21.E: ferida irradiada em dias alternados.

A epitelização é completa e as fibras colágenas mostram-se organizadas (↓).

4.2.6 Densidade do colágeno:

O percentual de colágeno no 3^o dia mostrou diferença estatisticamente significativa entre os grupos A.3.D e A.3.E, na área para-cicatricial, zona intermediária, com valor $p= 0,043123$. Para os demais grupos o percentual de colágeno permaneceu homogêneo. Os valores encontram-se no Anexo VI. No quadro 9 pode-se avaliar estes resultados.

QUADRO 9.- NÍVEL DE SIGNIFICÂNCIA DA DIFERENÇA DE DENSIDADE DO COLÁGENO TOTAL NAS ÁREAS CICATRICIAL E PARA-CICATRICIAL, NOS GRUPOS A e B, NO 3º DIA (Testes de Wilcoxon para dados pareados ((mesmo grupo)) e Kolmogorov-Smirnov para duas amostras ((grupos diferentes)))

Área	Zona	Grupos	Wilcoxon valor p	Kolmogorov- Smirno
Cicatricial	Superficial	A.3.D X A.3.E	0,685833	p > 0,10
		B.3.D X B.3.E	0,685833	
		A.3.E X B.3.E		
	Intermediária	A.3.D X A.3.E	0,685833	p > 0,10
		B.3.D X B.3.E	0,685833	
		A.3.E X B.3.E		
Profunda	A.3.D X A.3.E	0,345238	p > 0,10	
	B.3.D X B.3.E	0,892739		
	A.3.E X B.3.E			
Para- Cicatricial	Superficial	A.3.D X A.3.E	0,224925	p > 0,10
		B.3.D X B.3.E	0,892739	
		A.3.E X B.3.E		
	Intermediária	A.3.D X A.3.E	0,043123	p > 0,10
		B.3.D X B.3.E	0,715003	
		A.3.E X B.3.E		
Profunda	A.3.D X A.3.E	0,345238	p > 0,10	
	B.3.D X B.3.E	0,685833		
	A.3.E X B.3.E			

A homogeneidade na proporção de colágeno para a área cicatricial pode ser observada na figura 27.

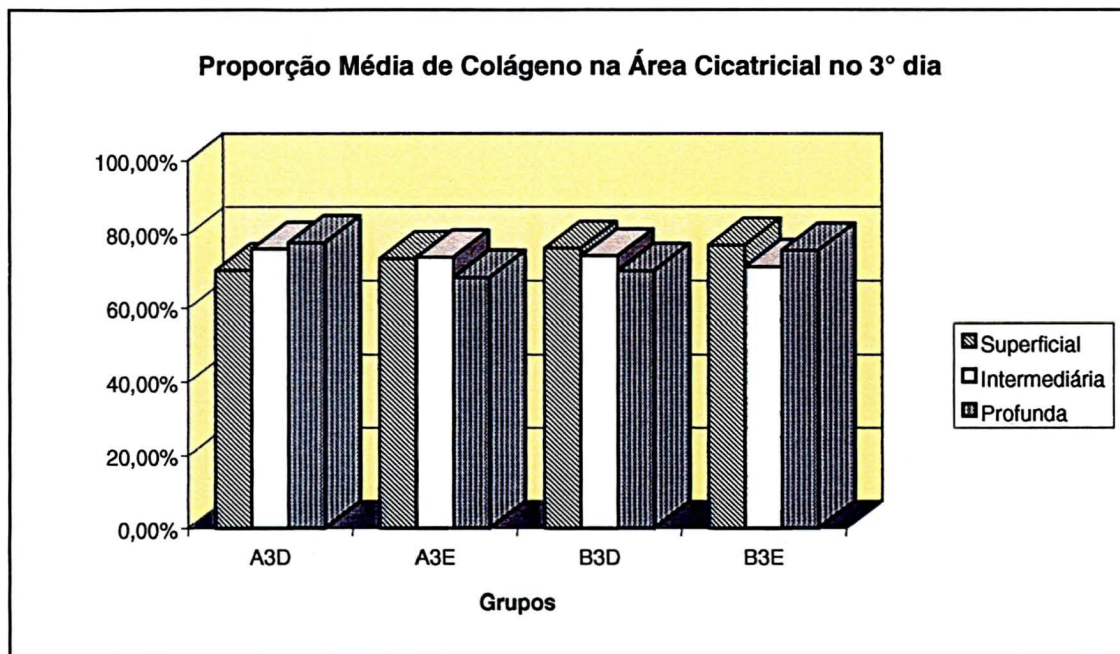


Figura 27 - Proporção média de colágeno na área cicatricial, no 3º dia.

Na figura 28 pode-se verificar a diferença detectada entre os grupos A.3.D e A.3.E, na Zona Intermediária.

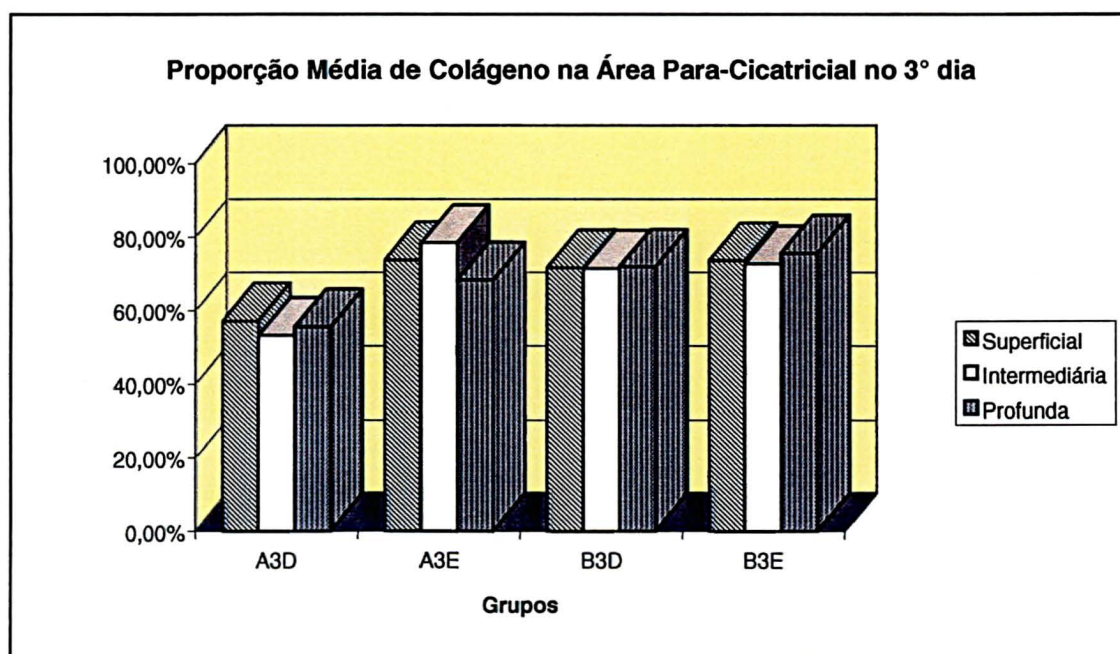


Figura 28 - Proporção média de colágeno na área para-cicatricial no 3º dia.

Já no 7^o dia observou-se diferença estatisticamente significativa entre os grupos B.7.D e B.7.E, na área para-cicatricial, zona superficial, com valor $p = 0,043123$ (Quadro 10). Para os demais grupos o percentual de colágeno permaneceu homogêneo. Os valores encontram-se no Anexo VI.

QUADRO 10 - NÍVEL DE SIGNIFICÂNCIA DA DIFERENÇA DE DENSIDADE DO COLÁGENO TOTAL NAS ÁREAS CICATRICAL E PARA-CICATRICAL, NOS GRUPOS A e B, NO 7^o DIA (Testes de Wilcoxon para dados pareados ((mesmo grupo)) e Kolmogorov-Smirnov para duas amostras ((grupos diferentes)))

Área	Zona	Grupos	Wilcoxon valor p	Kolmogorov- Smirno
Cicatricial	Superficial	A.7.D X A.7.E	0,685833	$p > 0,10$
		B.7.D X B.7.E	0,892739	
		A.7.E X B.7.E		
Cicatricial	Intermediária	A.7.D X A.7.E	0,685833	$p > 0,10$
		B.7.D X B.7.E	0,892739	
		A.7.E X B.7.E		
Cicatricial	Profunda	A.7.D X A.7.E	0,345238	$p > 0,10$
		B.7.D X B.7.E	0,892739	
		A.7.E X B.7.E		
Para- Cicatricial	Superficial	A.7.D X A.7.E	0,345238	$p > 0,10$
		B.7.D X B.7.E	0,043123	
		A.7.E X B.7.E		
Para- Cicatricial	Intermediária	A.7.D X A.7.E	0,685833	$p > 0,10$
		B.7.D X B.7.E	0,892739	
		A.7.E X B.7.E		
Para- Cicatricial	Profunda	A.7.D X A.7.E	0,500189	$p > 0,10$
		B.7.D X B.7.E	0,500189	
		A.7.E X B.7.E		

Na figura 29 percebe-se que não há diferença significativa.

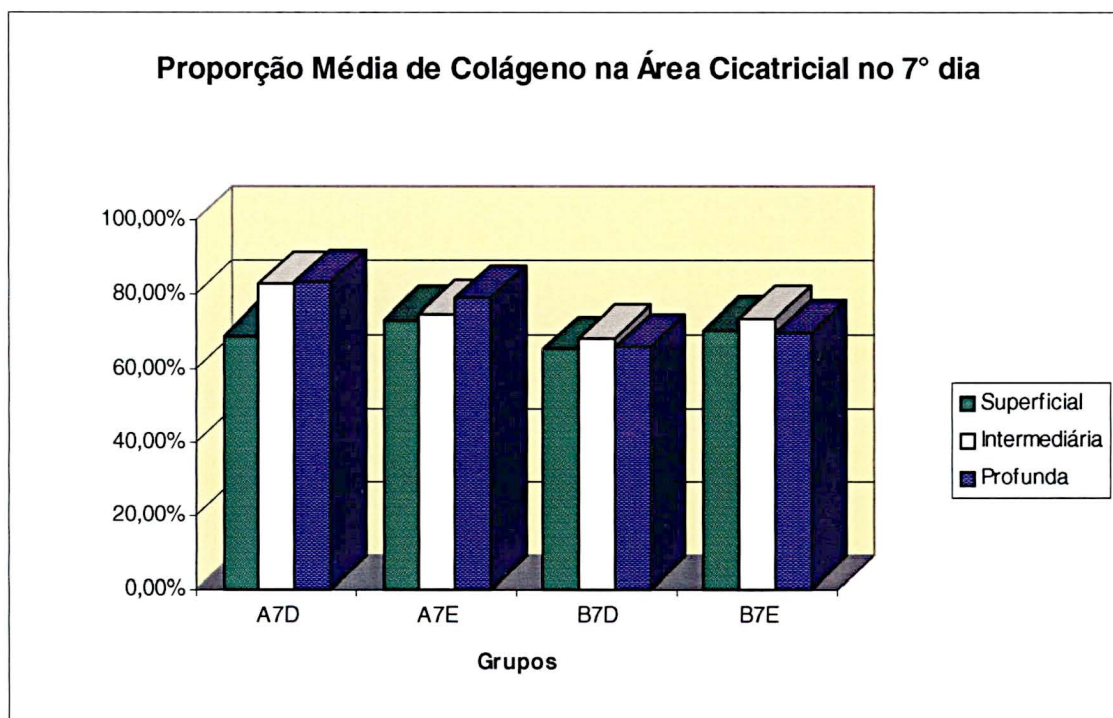


Figura 29 - Proporção média de colágeno na área cicatricial no 7º dia

Na figura 30 pode-se verificar a diferença entre os grupos B.7.D e B.7.E, na zona superficial.

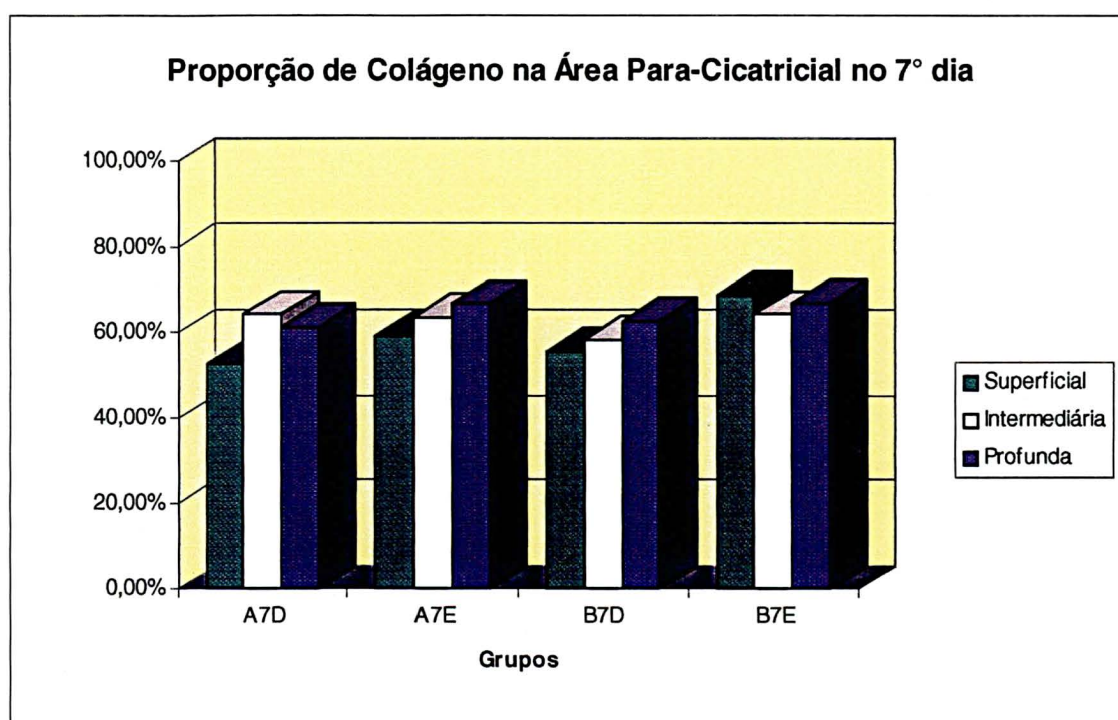


Figura 30 - Proporção média de colágeno na área para-cicatricial no 7º dia

No 14º dia observou-se diferença estatisticamente significativa entre os grupos A.14.E e B.14.E, na área cicatricial, zona superficial, com valor $p < 0,025$ (Quadro 11). Para os demais grupos o percentual de colágeno permaneceu homogêneo. Os valores encontram-se no Anexo VI.

Quadro 11 – NÍVEL DE SIGNIFICÂNCIA DA DIFERENÇA DE DENSIDADE DO COLÁGENO TOTAL NAS ÁREAS CICATRICIAL E PARACATRICIAL, NOS GRUPOS A e B, NO 14^o DIA (Testes de Wilcoxon para dados pareados ((mesmo grupo)) e Kolmogorov-Smirnov para duas amostras ((grupos diferentes)))

Área	Zona	Grupos	Wilcoxon valor p	Kolmogorov- Smirno
Cicatricial	Superficial	A.14.D X A.14.E	0,345238	P < 0,025
		B.14.D X B.14.E	0,224925	
		A.14.E X B.14.E		
	Intermediária	A.14.D X A.14.E	0,787408	p > 0,10
		B.14.D X B.14.E	0,500189	
		A.14.E X B.14.E		
Profunda	A.14.D X A.14.E	0,138021	p > 0,10	
	B.14.D X B.14.E	0,685833		
	A.14.E X B.14.E			
Para- Cicatricial	Superficial	A.14.D X A.14.E	0,500189	p > 0,10
		B.14.D X B.14.E	0,224925	
		A.14.E X B.14.E		
	Intermediária	A.14.D X A.14.E	0,892739	p > 0,10
		B.14.D X B.14.E	0,224925	
		A.14.E X B.14.E		
Profunda	A.14.D X A.14.E	0,500189	p > 0,10	
	B.14.D X B.14.E	0,224925		
	A.14.E X B.14.E			

Na figura 31 tem-se a clara evidência da diferença detectada entre os grupos (A.14.E) & (B.14.E), na zona superficial.

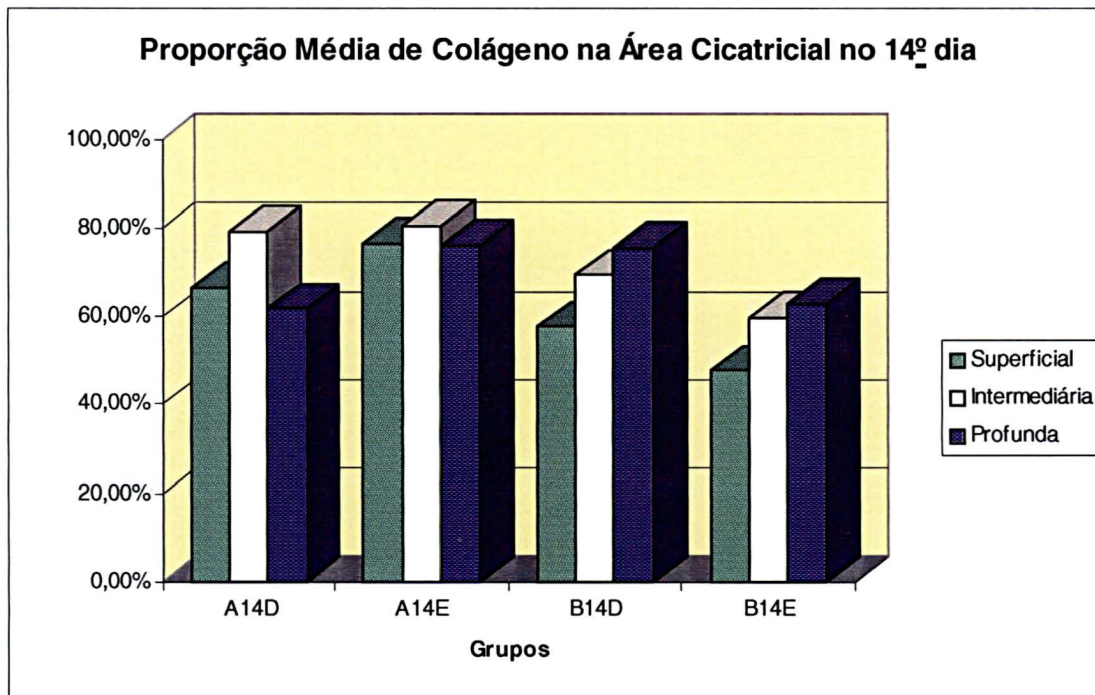


Figura 31 - Proporção média de colágeno na área cicatricial no 14^o dia

Na figura 32, apesar de se perceber diferenças entre os grupos A.14.E e B.14.E, esta diferença não é significativa a 0,05, tendo seu p valor < 0,10.

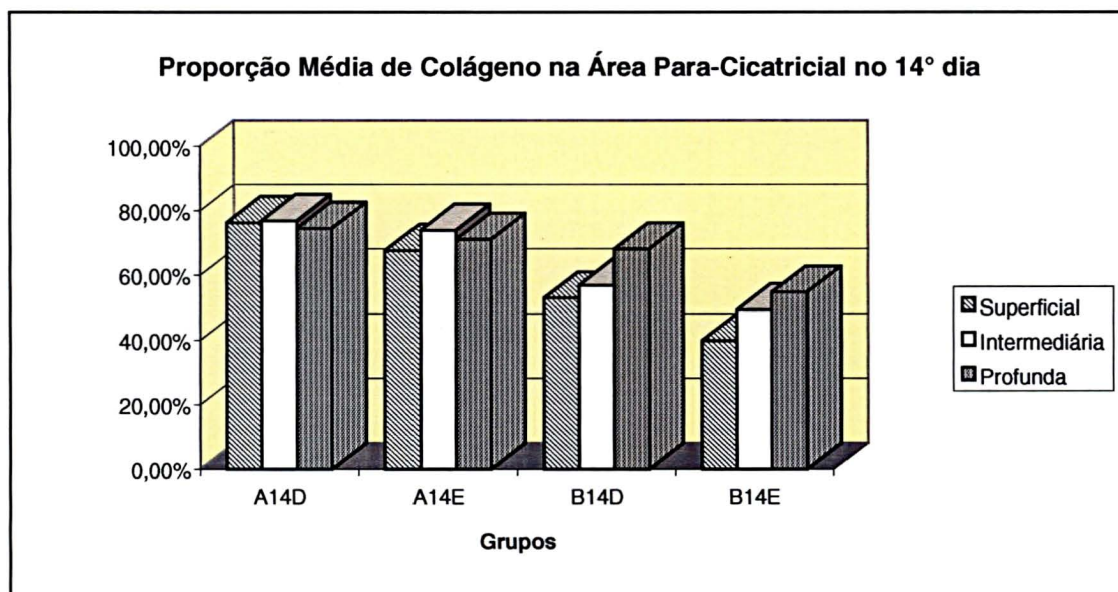


Figura 32 - Proporção média de colágeno na área para-cicatricial no 14º dia

O 21º dia apresentou diferença estatisticamente significativa na área cicatricial entre os grupos A.21.D e A.21.E, na zona intermediária; e B.21.D e B.21.E, na zona profunda. Ambas com valor $p= 0,043123$. Para os demais grupos o percentual de colágeno permaneceu homogêneo (Quadro 12). Os valores encontram-se no Anexo VI.

QUADRO 12 - NÍVEL DE SIGNIFICÂNCIA DA DIFERENÇA DE DENSIDADE DO COLÁGENO TOTAL NAS ÁREAS CICATRICIAL E PARACICATRICIAL, NOS GRUPOS A e B, NO 21º DIA. (Testes de Wilcoxon para dados pareados ((mesmo grupo)) e Kolmogorov-Smirnov para duas amostras ((grupos diferentes)))

Área	Zona	Grupos	Wilcoxon valor p	Kolmogorov- Smirno
Cicatricial	Superficial	A.21.D X A.21.E B.21.D X B.21.E A.21.E X B.21.E	0,138021 0,685833	p > 0,10
	Intermediária	A.21.D X A.21.E B.21.D X B.21.E A.21.E X B.21.E	0,043123 0,500189	p > 0,10
	Profunda	A.21.D X A.21.E B.21.D X B.21.E A.21.E X B.21.E	0,685833 0,043123	p > 0,10
Para- Cicatricial	Superficial	A.21.D X A.21.E B.21.D X B.21.E A.21.E X B.21.E	0,500189 0,892739	p > 0,10
	Intermediária	A.21.D X A.21.E B.21.D X B.21.E A.21.E X B.21.E	0,345238 0,892739	p > 0,10
	Profunda	A.21.D X A.21.E B.21.D X B.21.E A.21.E X B.21.E	0,685833 0,500189	p > 0,10

A figura 33, apresenta as diferenças significativas entre os grupos A.21.D e A.21.E, na zona intermediária, e B.21.D e B.21.E, na zona profunda. Ambas com valor $p = 0,043123$.

Apesar de os grupos A.21.D e A.21.E parecerem diferentes na zona superficial, o teste de Wilcoxon apresentou um valor $p = 0,138021$, logo maior que o nível de significância definido.

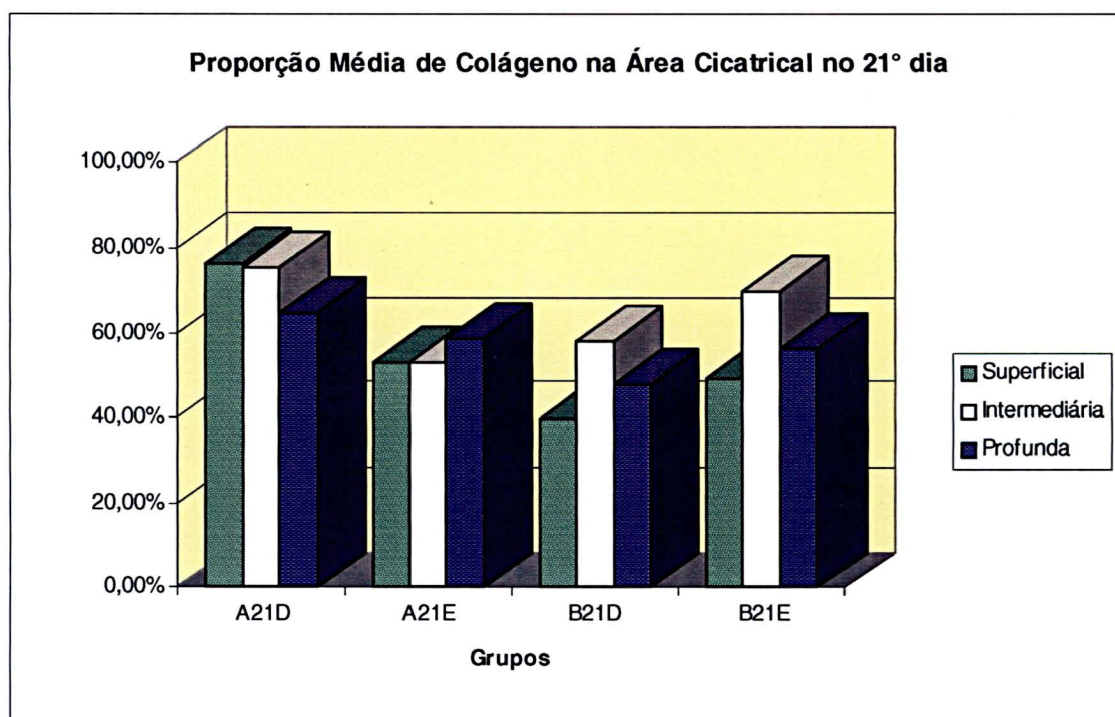


Figura 33 - Proporção média de colágeno na área cicatricial no 21º dia

Na figura 34, está claro não haver diferenças entre os grupos.

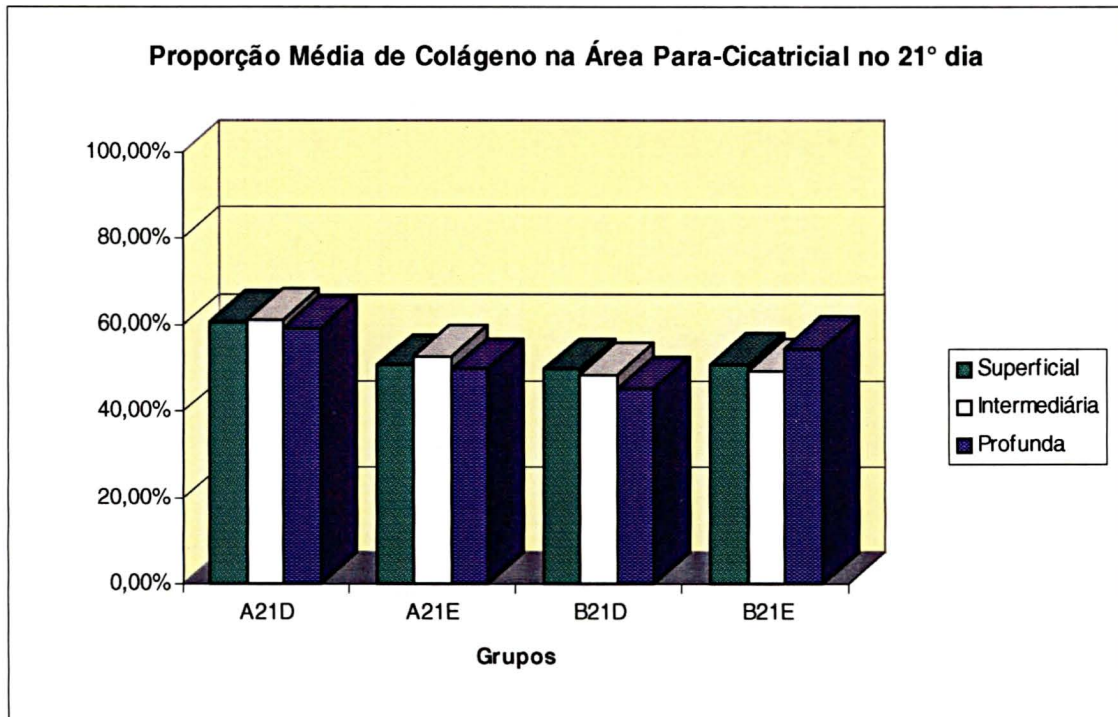


Figura 34 - Proporção média de colágeno na área para-cicatricial no 21º dia.

- Nas figuras 35, 36, 37 e 38 observam-se as áreas escolhidas para a leitura do colágeno na coloração de picro-sírius e nas figuras 39, 40, 41 e 42 pode-se perceber a densidade do colágeno pela coloração de picro-sírius com luz polarizada.

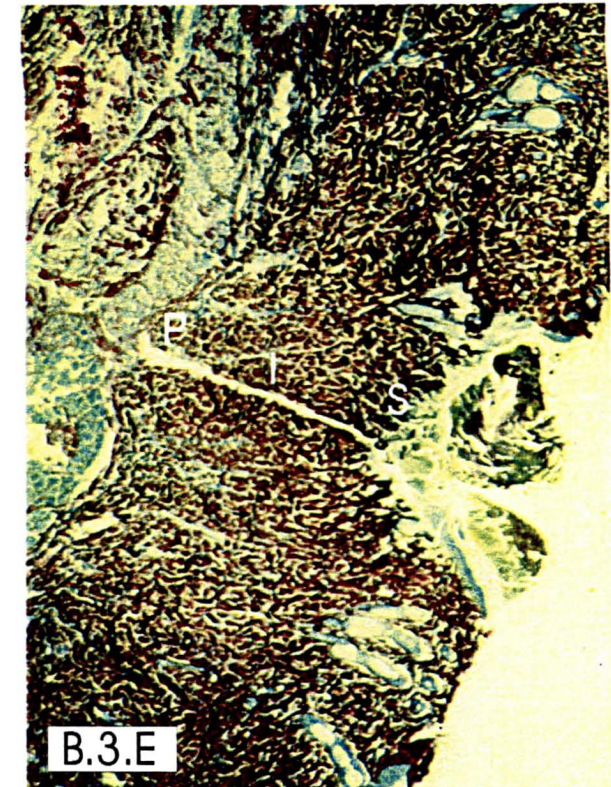
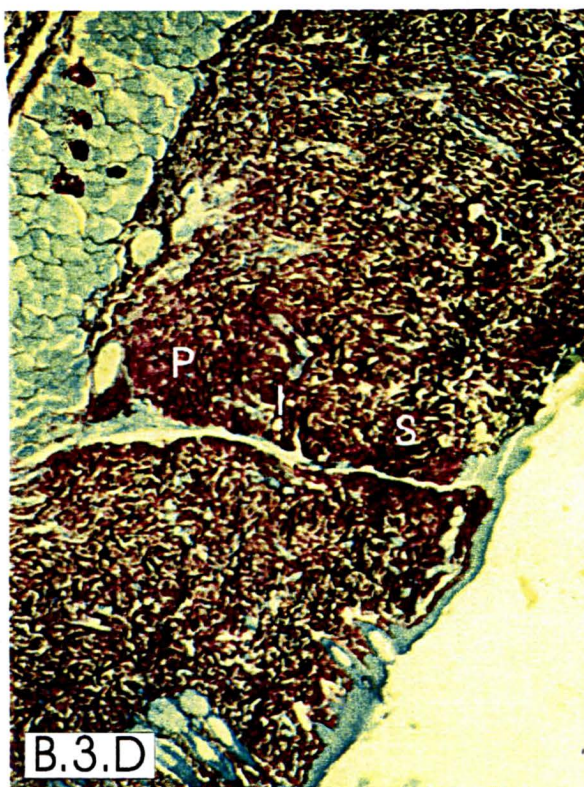
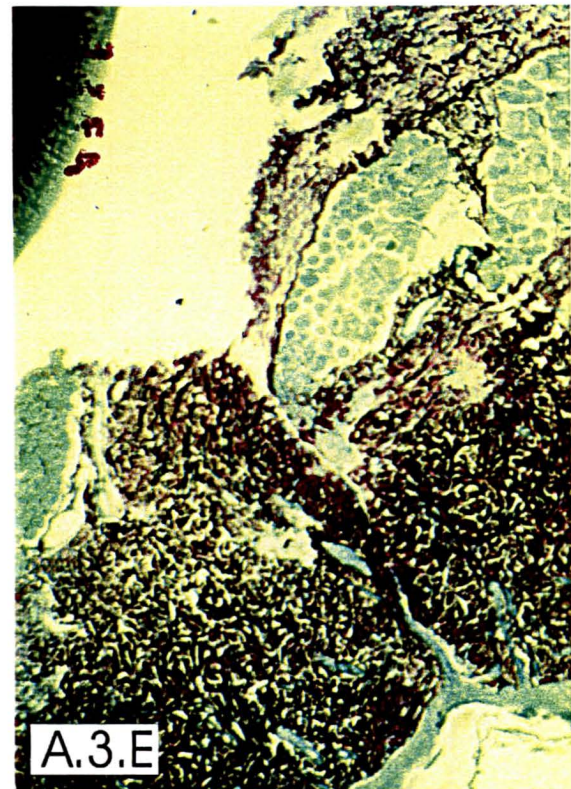
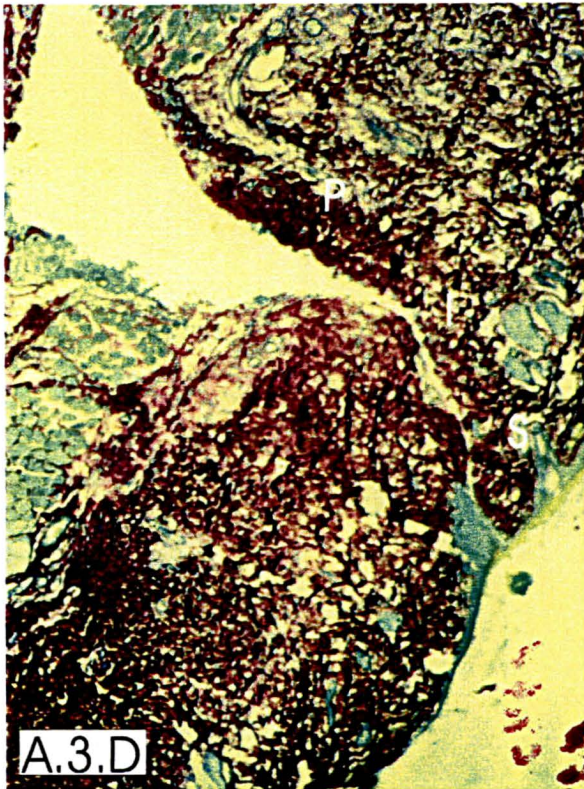


Figura 35: Fotocromia de cortes histológicos das feridas dos animais dos 2 grupos, no 3º dia de pós-operatório onde se pode ver as áreas de cicatrizes escolhidas para leitura do colágeno, ao microscópio. Observam-se as zonas superficial (S), intermediária (I) e profunda (P) (Picro-sirius, 63X).

- A.3.D: ferida controle
- A.3.E: ferida irradiada diariamente.
- B.3.D: ferida controle.
- B.3.E: ferida irradiada em dias alternados.

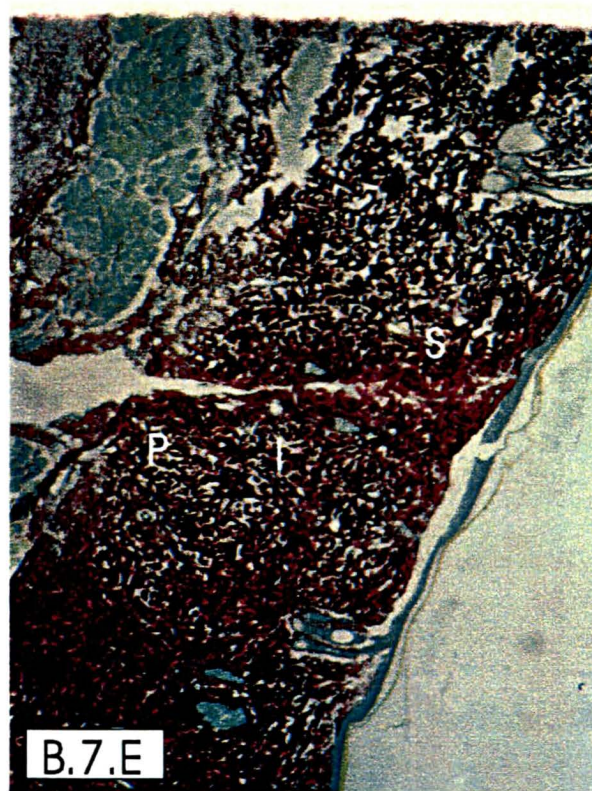
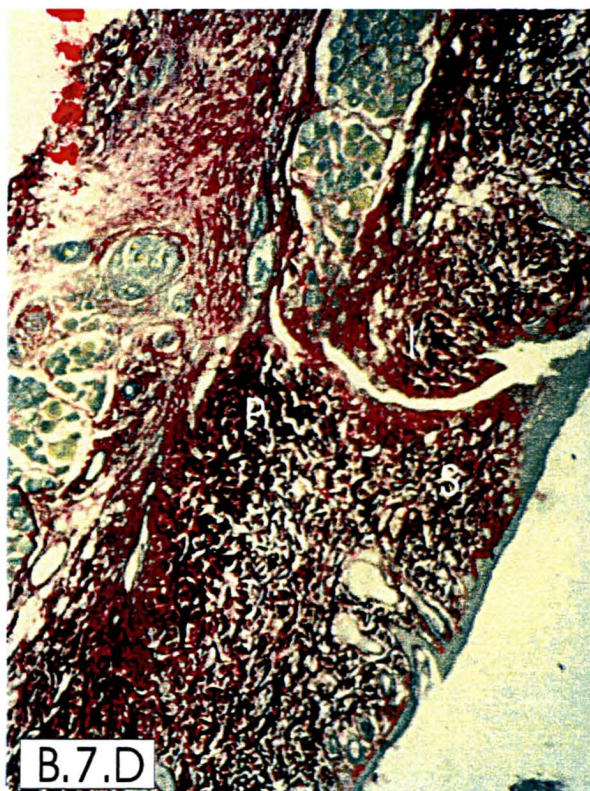
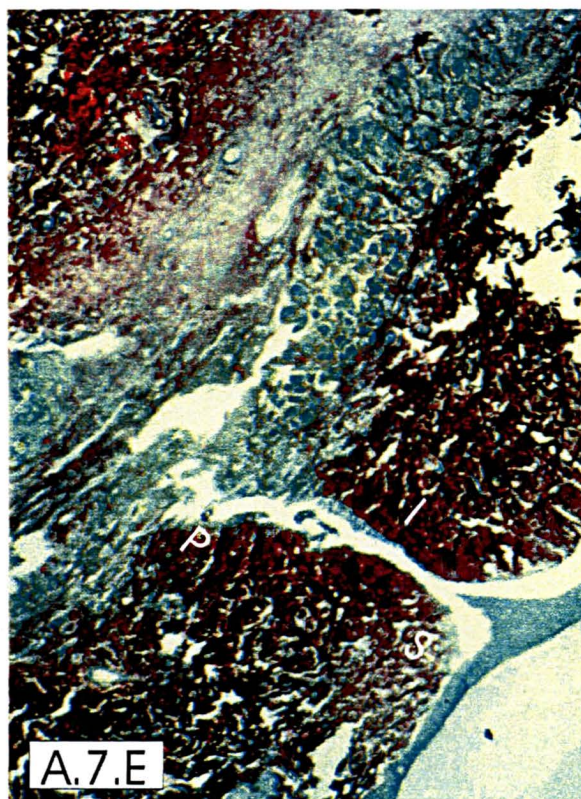
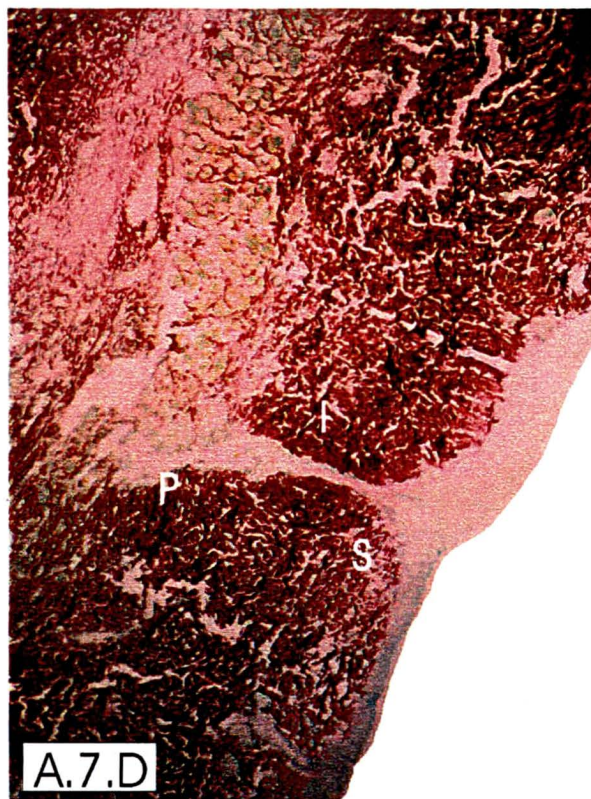


Figura 36: Fotocromia de cortes histológicos das feridas dos animais dos 2 grupos, no 7º dia de pós-operatório onde se pode ver as áreas de cicatrizes escolhidas para leitura do colágeno, ao microscópio. Observam-se as cicatrizes as zonas superficial (S), intermediária (I) e profunda (P) (Picro-sirius, 63X).

- A.7.D: ferida controle
- A.7.E: ferida irradiada diariamente.
- B.7.D: ferida controle.
- B.7.E: ferida irradiada em dias alternados.

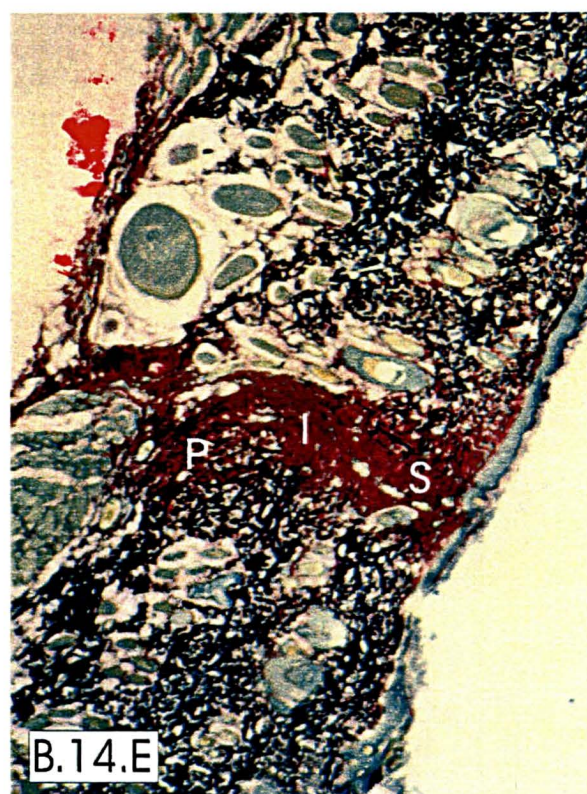
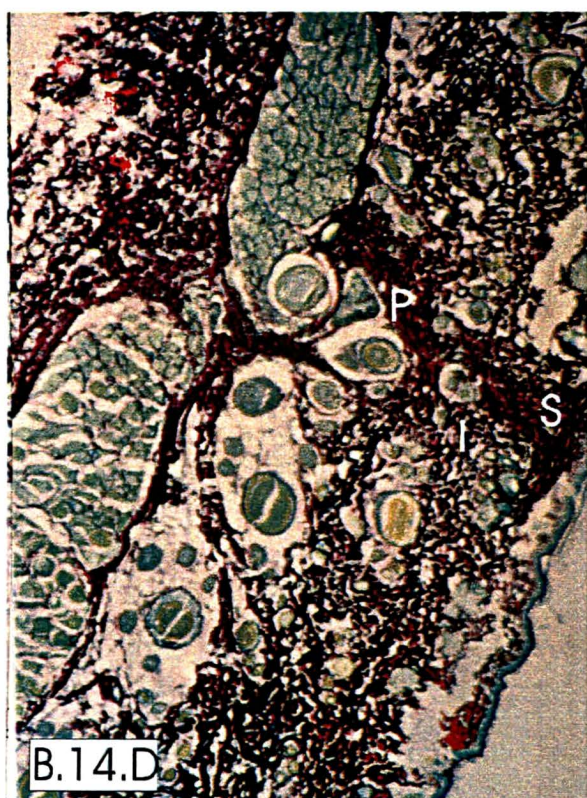


Figura 37: Fotocromia de cortes histológicos das feridas dos animais dos 2 grupos, no 14º dia de pós-operatório onde se pode ver as áreas de cicatrizes escolhidas para leitura do colágeno, ao microscópio. Observam-se as cicatrizes as zonas superficial (S), intermediária (I) e profunda (P) (Picro-sirius, 63X).

- A.14.D: ferida controle
- A.14.E: ferida irradiada diariamente.
- B.14.D: ferida controle.
- B.14.E: ferida irradiada em dias alternados.

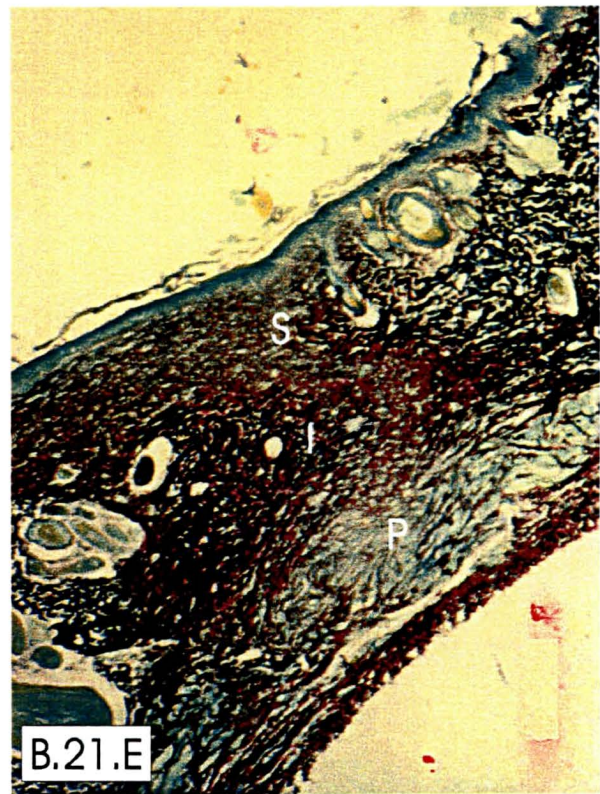
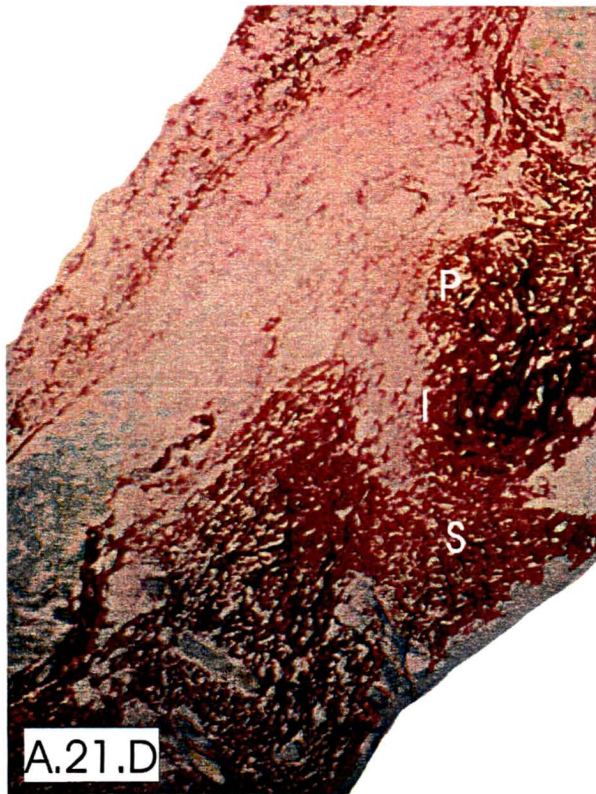


Figura 38: Fotocromia de cortes histológicos das feridas dos animais dos 2 grupos, no 21º dia de pós-operatório onde se pode ver as áreas de cicatrizes escolhidas para leitura do colágeno, ao microscópio. Observam-se as cicatrizes as zonas superficial (S), intermediária (I) e profunda (P) (Picro-sirius, 63X).

- A.3.D: ferida controle
- A.3.E: ferida irradiada diariamente.
- B.3.D: ferida controle.
- B.3.E: ferida irradiada em dias alternados.

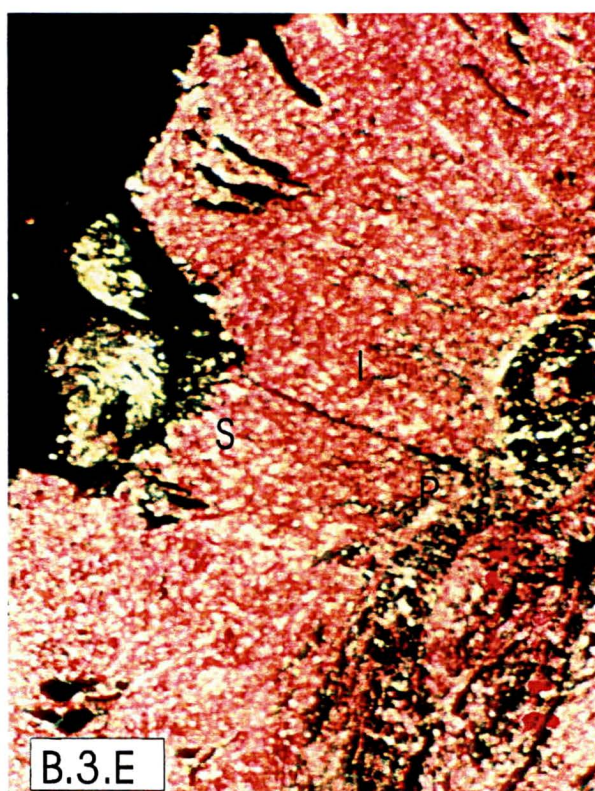
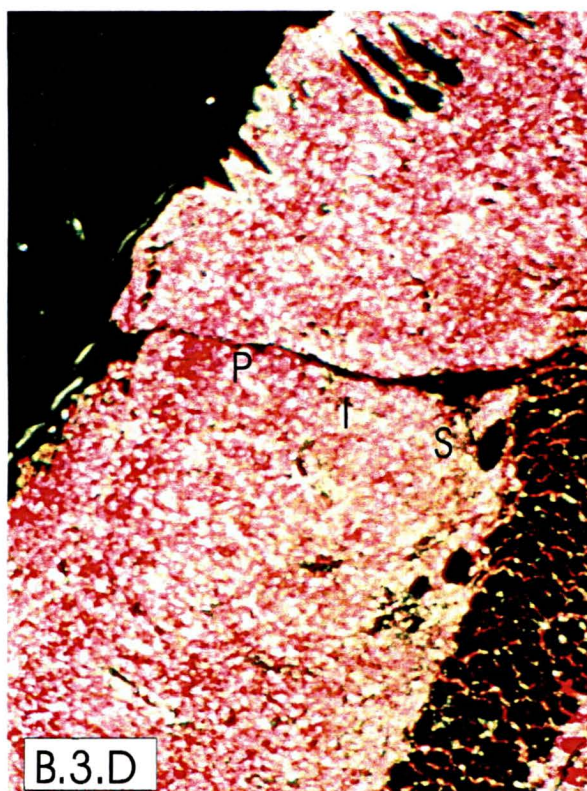
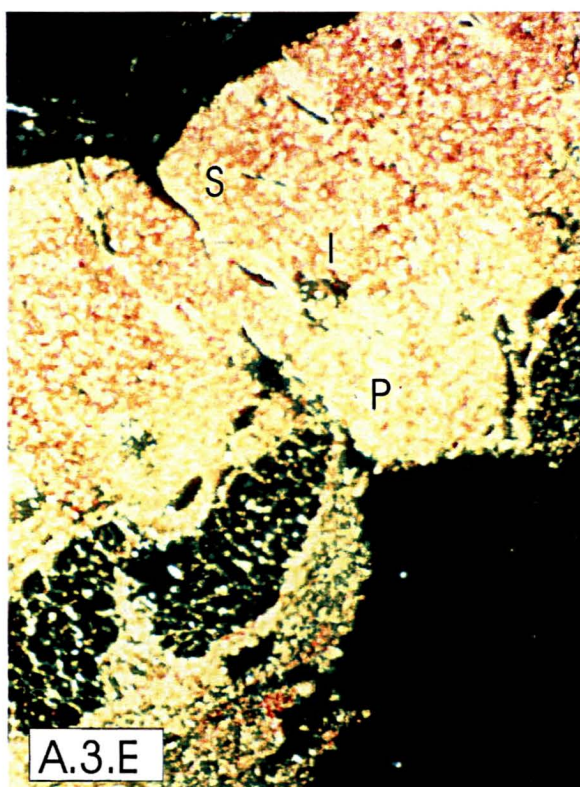
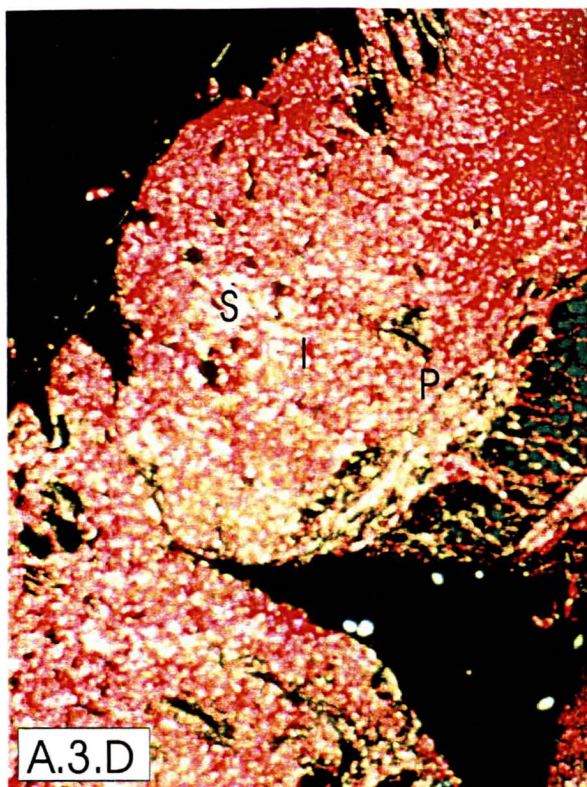


Figura 39 - Fotomicrografia de cortes histológicos das feridas dos animais dos 2 grupos, no 3º dia de pós-operatório onde se vê as áreas de colágeno tipo I em tons de amarelo a laranja e colágeno tipo III em tons de verde (Picro-sirius com luz polarizada, 63X). Observam-se as zonas superficial (S), intermediária (I) e profunda (P) (Picro-sirius, 63X).

A.3.D: ferida controle.

A.3.E: ferida irradiada diariamente.

B.3.D: ferida controle.

B.3.E: ferida irradiada em dias alternados.

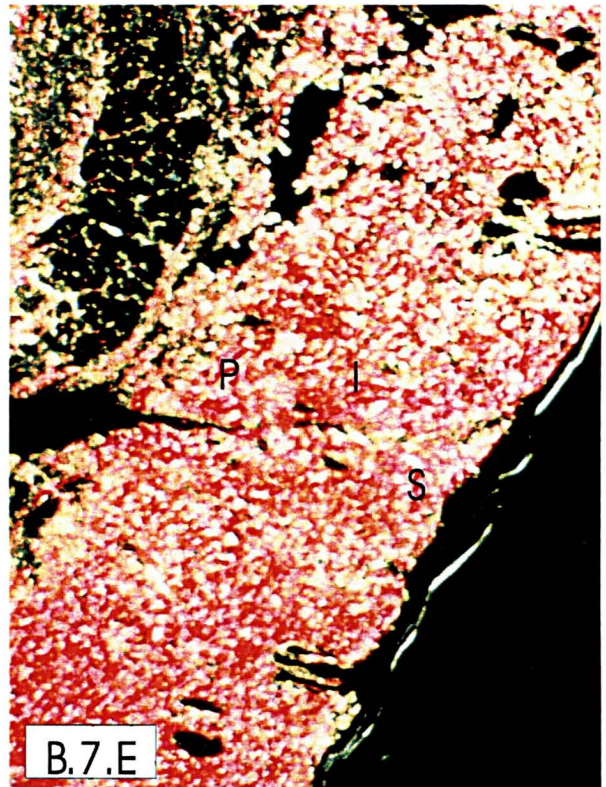
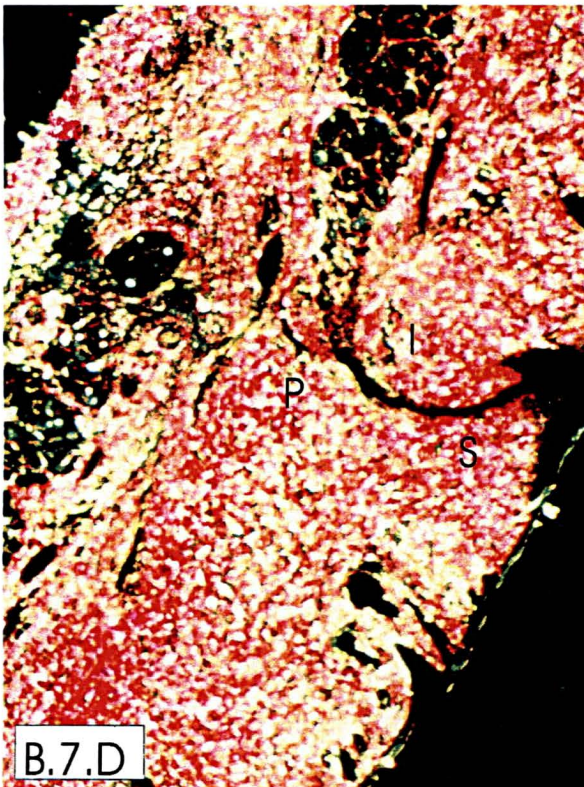
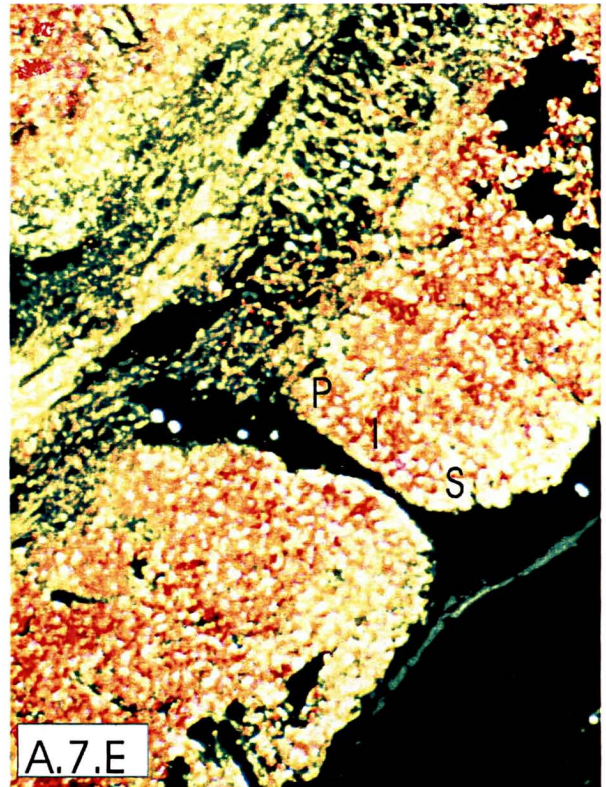
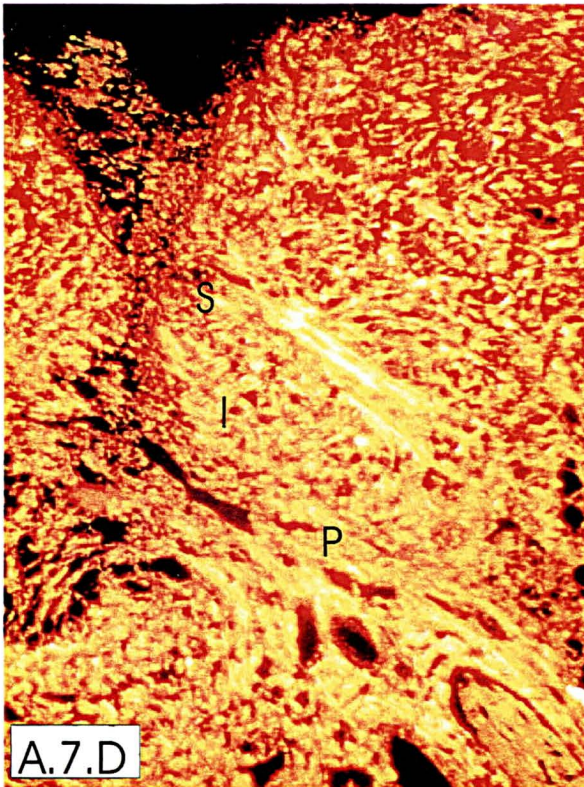


Figura 40 -Fotomicrografia de cortes histológicos das feridas dos animais dos 2 grupos, no 7- dia de pós-operatório onde se pode ver as áreas de colágeno tipo I em tons de amarelo a laranja e colágeno tipo III em tons de verde (Picro-sirius com luz polarizada, 63X). Observam-se as zonas superficial (S), intermediária (I) e Profunda (P) (Picro-sirius, 63X).

A.7.D: ferida controle.

A.7.E: ferida irradiada diariamente.

B.7.D: ferida controle.

B.7.E: ferida irradiada em dias alternados.

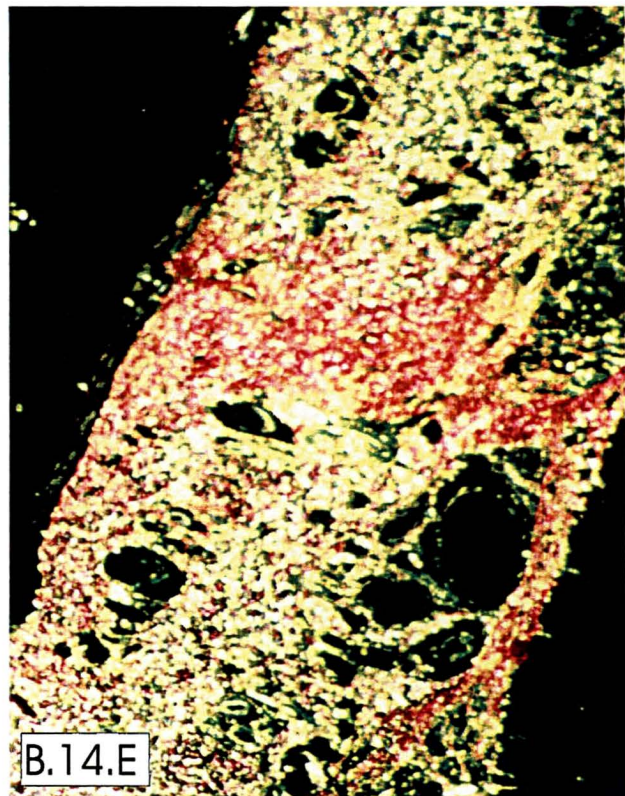
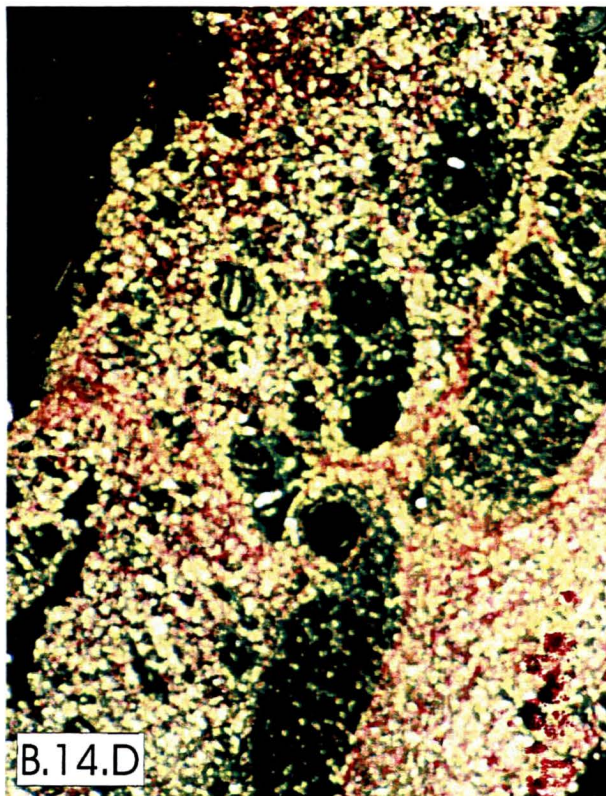
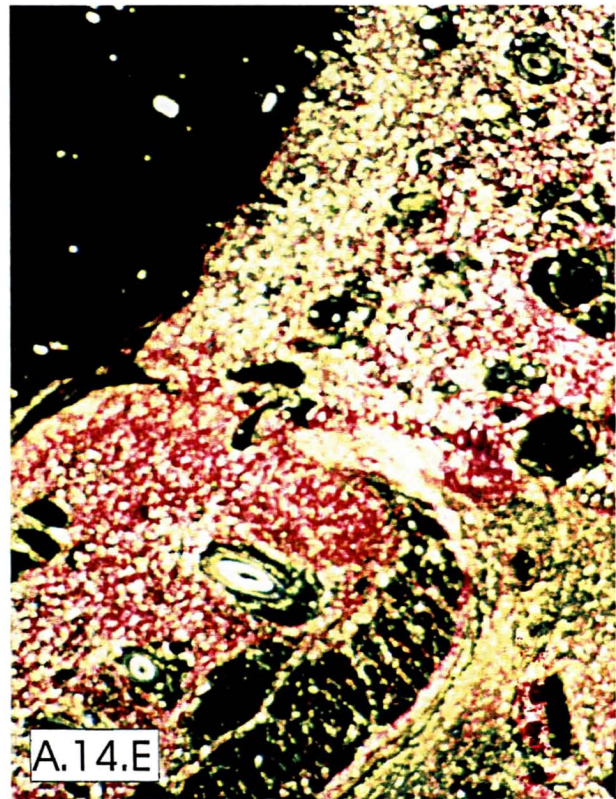
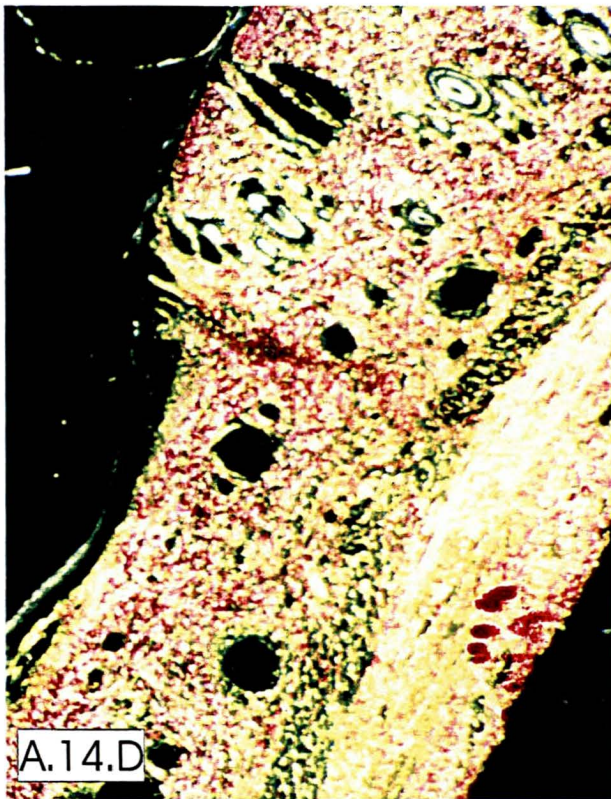


Figura 41 - Fotomicrografia de cortes histológicos das feridas dos animais dos 2 grupos, no 14º dia de pós-operatório onde se pode ver as áreas de colágeno tipo I em tons de amarelo a laranja e colágeno tipo III em tons de verde (Picro-sirius com luz polarizada, 63X).

- A.14.D: ferida controle.
- A.14.E: ferida irradiada diariamente.
- B.14.D: ferida controle.
- B.14.E: ferida irradiada em dias alternados.

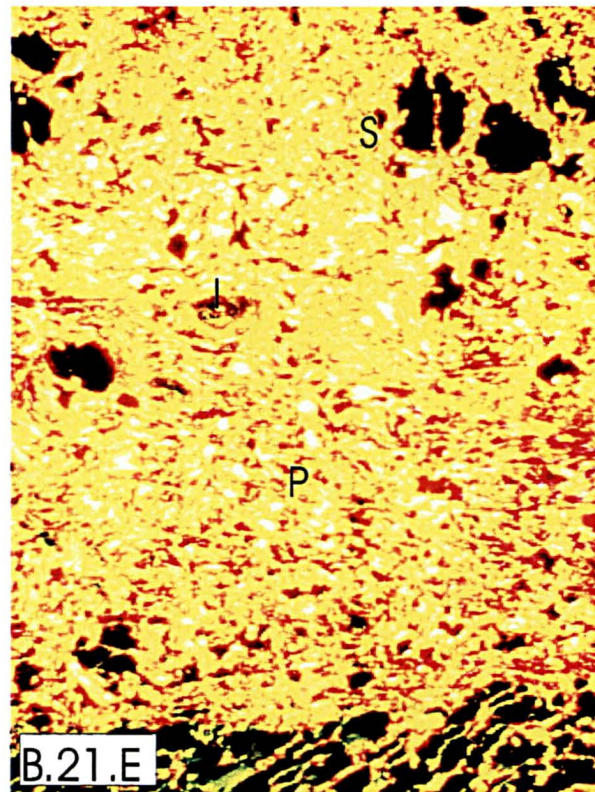
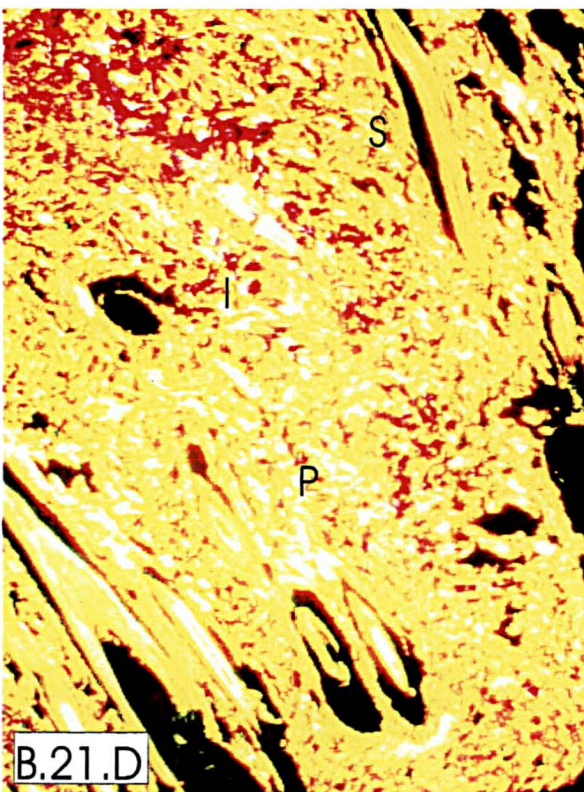
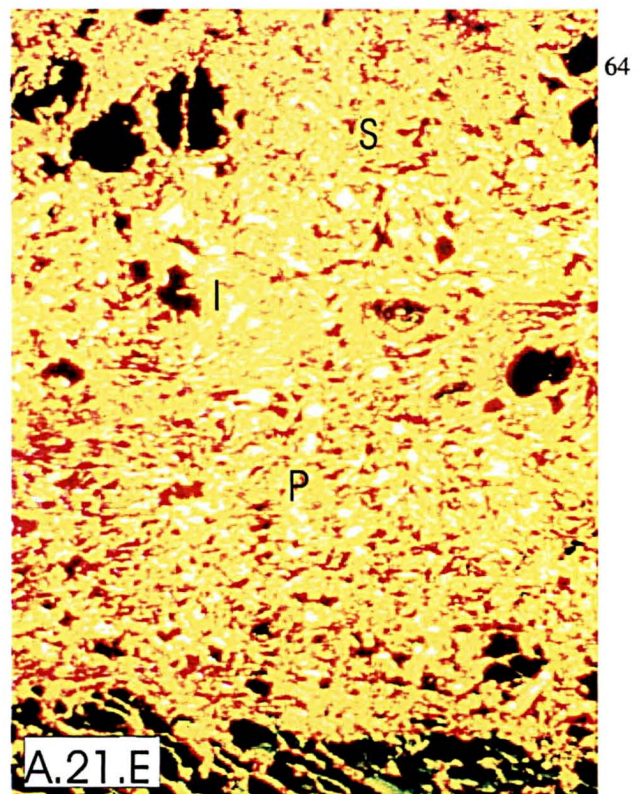
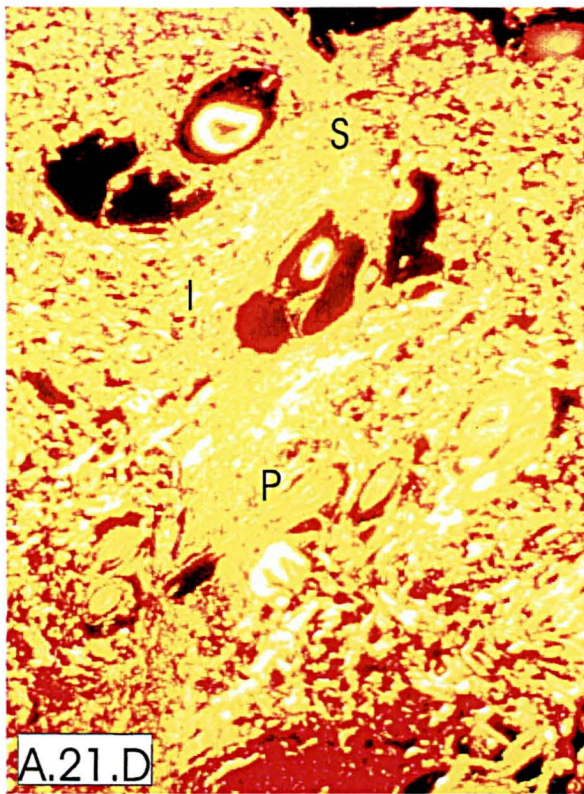


Figura 42 - Fotomicrografia de cortes histológicos das feridas dos animais dos 2 grupos, no 21º dia de pós-operatório onde se pode ver as áreas de colágeno tipo I em tons de amarelo a laranja e colágeno tipo III em tons de verde (Picro-sirius com luz polarizada, 63X).

- A.21.D: ferida controle.
- A.21.E: ferida irradiada diariamente.
- B.21.D: ferida controle.
- B.21.E: ferida irradiada em dias alternados.

5 DISCUSSÃO

5.1 A RESPEITO DO MÉTODO:

5.1.1. Animal de experimentação:

Uma variedade de espécies animais tem sido usada como modelos de cicatrização humana. Embora muitas espécies mamíferas simulem a cicatrização humana com deposição de colágeno como característica predominante, o processo de cicatrização nestes animais certamente não é idêntico. Esta diferença é exemplificada pelo fato de que ratos não formam cicatrizes hipertróficas ou quelóides. Outra diferença na cicatrização entre animais e humanos é a exigência nutricional. Assim como humanos requerem na dieta suplementação de ácido ascórbico (vitamina C), os ratos são capazes de sintetizar esse importante co-fator necessário para a produção do colágeno. Por esta razão sabe-se que a *guinea pig* é o melhor modelo para estudo da cicatrização humana, mas sua obtenção, alto custo e cuidados especiais inviabilizam estudos nesse modelo(COHEN, 1990).

A escolha do rato como animal de experimentação é explicada baseada no fato de ter sido este o animal mais utilizado pelos pesquisadores consultados: SNIDER e col. (1951), RAPER e col. (1951), FRIEDEL e col. (1951), SETTI (1960 e 1961), PRADO (1981), PEREIRA FILHO (1991), OOTSUYAMA e col. (1991 e 1992). Justifica-se seu uso nos modelos experimentais por ser um animal resistente, de baixo custo, de pequeno porte e fácil obtenção em qualquer quantidade, reproduzido em laboratório com linhagens definidas, resistente às infecções operatórias, não requerendo tratamento diferenciado e alojamento individual, tornando prático o seu manuseio. Utilizou-se ratos machos por apresentarem taxas hormonais mais estáveis do que as fêmeas.

5.1.2. Anestesia:

Usou-se o éter sulfúrico como agente na indução e manutenção anestésica, pois é de fácil obtenção e manuseio, não exigindo cálculo de dose, além da recuperação pós-operatória ser rápida e tranqüila. Esse tipo de anestésico mostrou-se seguro não se registrando óbitos com o uso do método.

5.1.3. Confeção das feridas:

Realizaram-se as incisões com lâmina de bisturi número 15 cortando a pele em sua espessura total, nas duas áreas previamente preparadas da região dorsal, com aproximadamente 1,5 cm, pois este comprimento corresponde ao comprimento da placa de Estrôncio 90 e com isso tinha-se a certeza de que toda a ferida seria irradiada. A distância entre as incisões foi de 3 cm para ter-se total segurança de que o experimento não afetaria a ferida controle.

Retirou-se o terço médio das duas feridas, com base nos estudos de BARONCELLI, MAGNO E TUNESI (1962), que observaram os diferentes diâmetros das placas e os campos emanados de radiação Beta do Estrôncio-90, fazendo supor que a região central da placa irradia com maior eficácia.

5.1.4. Distribuição dos grupos:

Organizaram-se dois grupos de estudo, radiação diária (grupo A) e radiação em dias alternados (grupo B), pois as células são mais atingidas no período pré-mitótico, sugerindo aplicações repetidas em determinados intervalos para poder atingi-las na divisão, conforme

afirmação de SETTI (1960). Devido a isso realizou-se o fracionamento em 10 sessões de 250 rad, em doses diárias no grupo A e em dias alternados no grupo B. Assim, ao final do experimento pode-se comparar a aparecimento de diferença significativa.

5.1.5. Dose de irradiação:

O grupo B representa o que se faz na clínica diária pós-resssecção de cicatrizes hipertróficas e queloideanas. O seu estudo forneceu dados sobre a reparação tecidual, já que o rato não apresenta aquelas alterações de cicatriz.

No ser humano não é recomendada a realização de aplicações diárias de irradiação para evitar-se a hiperpigmentação da pele irradiada. No entanto existem dúvidas se essa freqüência é mais eficaz, o que o estudo do grupo A permite esclarecer.

A irradiação Beta do Estrôncio-90 utilizada no experimento é de fácil manuseio, não necessitando de treinamento e proteção especial.

Retira-se a placa de um recipiente de chumbo, onde fica acondicionada, através de uma haste protetora de 10cm de altura, colocando-a em contato com a pele do animal sobre as feridas do lado esquerdo e aciona-se o cronômetro.

A meia-vida do Estrôncio-90 é de 28 anos e por isso periodicamente é realizada pelos físicos e radioterapeutas a correção em relação ao decaimento radioativo. Na época do experimento, para uma dose de 250 cGy, a placa deveria ficar em contato com a pele por um período de 01 minuto e 06 segundos.

5.1.6. Períodos de aferição:

A avaliação das feridas operatórias e o processo de reparação foram realizados nos dias de pós-operatórios pré determinados (3^o, 7^o, 14^o e 21^o dias), baseados em SIMÕES, UZUNIAN, MORA, SASSO (1985), que observaram no 3^o dia de reparação, no local da lesão, grande concentração de vasos sangüíneos e de células separadas por áreas eletrotranslucentes, esparsas fibras colágenas e uma rede de fibrina, além de numerosos neutrófilos e alguns macrófagos. No 7^o dia, notaram a presença de fibroblastos típicos, grande concentração de neutrófilos, a maioria desgranulados e alguns macrófagos. O estroma exibia maior concentração de fibras colágenas, apresentando diâmetros variáveis e formando feixes. No 14^o dia, observaram fibroblastos desenvolvidos e o estroma mostrava-se mais organizado, com feixes colágenos de fibras com diâmetros variáveis. No 21^o dia, relataram uma menor concentração de células, fibroblastos bem desenvolvidos, raros leucócitos e feixes colágenos, com fibras de diâmetro mais homogêneo, bem organizados. Segundo os autores a solução de continuidade criada pela ferida é inicialmente preenchida por sangue coagulado, fibrina e exsudato inflamatório e, sobre esse suporte, os fibroblastos e o endotélio vascular neoformado edificam o tecido de granulação. A fibrina serviria, num exsudato inflamatório, como um esqueleto no qual os fibroblastos se apoiam, à semelhança de uma superfície para fixação das fibras do colágeno recém-sintetizado. Nesta fase os neutrófilos liberam seus grânulos para a rede de fibrina onde ocorreria hidrólise enzimática da matriz extracelular. Posteriormente, essa fibrina e esses leucócitos são removidos pelos macrófagos, dando lugar à proliferação celular.

Nestas datas foram realizadas fotografias para comparar-se, macroscopicamente, as feridas controle e irradiadas.

5.1.6. Métodos de aferição:

Na coloração de hematoxilina-eosina pode-se observar o tipo e a intensidade da reação inflamatória através do tipo de célula inflamatória predominante, a presença ou ausência de necrose e a reação vascular caracterizada por congestão de vasos, presença de trombos intraluminares e áreas de hemorragia.

Na coloração tricrômica de Mallory verifica-se a existência do colágeno total e pode-se observar sua organização.

O atual trabalho baseou-se em JUNQUEIRA, BIGNOLAS e BRETANI (1979) os quais desenvolveram um método para quantificação do colágeno, que não a dosagem de hidroxiprolina, pelo fato de ser este demorado e não muito sensível. O método proposto é rápido, específico, simples, sensível e altamente reproduzível. Pode-se comparar nas cicatrizes áreas sem colágeno e com colágeno, pois o pigmento do picro-sírius é sensível somente ao colágeno, permitindo quantificar a percentagem de colágeno em determinada área.

Confeccionaram-se as lâminas contendo os fragmentos das cicatrizes coradas com picro-sírius, direita controle e esquerda irradiada, e realizou-se leitura através de microscopia optica computadorizada, empregando-se o programa OPTIMAS 4.0 para Windows do Bioscan Incorporated Institute em um computador tipo PC 486 DX2 com placa digitalizadora de imagem Oculus TCX acoplado ao microscópio optico de luz polarizada, possibilitando com isso a determinação da percentagem de colágeno encontrado nas áreas cicatricial e para-cicatricial, nas zonas superficial, intermediária e profunda.

Este método de avaliação apesar de ter sido descrito por JUNQUEIRA, BIGNOLAS e BRETANI em 1979, somente após o aparecimento dos programas mais avançados de computador é que se tornou mais utilizado. Alguns autores empregaram este método em seus trabalhos, como SMIALOWSKI (1991), quando quantificou a presença de colágeno em feridas cutâneas de ratos deixadas cicatrizar

por segunda intenção, MESSIAS DA SILVA (1998), quando analisou a deposição de colágeno em feridas cutâneas de ratos hepatectomizados e GRECA (1998), comparando a deposição de colágeno em paredes abdominais de cães, quando utilizava telas de polipropileno micro e macroporosas.

5.2 A RESPEITO DOS RESULTADOS:

5.2.1. Avaliação macroscópica:

RAPER e BARNES (1951), estudando os efeitos da irradiação Beta na superfície total de camundongos, relataram rarefação de pêlos. Esse efeito foi posteriormente confirmado por BISHOP (1954) em coelhos, empregando doses de 3500 rad. Recentemente PEREIRA FILHO (1991), em sua tese, refere que esse fenômeno ocorreu em ratos irradiados pelo Estrôncio-90 no 21^o dia, sendo esta a única alteração observada.

FRIEDEL, THOMAS e KROHMER (1954) registraram eritema em pele de seres humanos após o 30^o dia e WITTEN, BRAUER, HOLMSTROM e LOEVINGER (1954) concluíram que o eritema era influenciado pela distância da pele à fonte.

No presente estudo, nos quatro tempos observados (3^o, 7^o, 14^o e 21^o dias), a evolução das feridas do grupo A e do grupo B, quando comparadas aos seus controles, foram semelhantes e não se observaram alterações da pilificação.

5.2.2. Avaliação microscópica:

LUSHBAUGH, STORER e HALE (1953) observaram, na pele irradiada de ratos, regeneração epitelial e fibroplasia ocorrendo entre o 15^o e 20^o dias.

TABACHNICK e WEISS (1959) relataram diminuição de ácidos nucleicos nas células da epiderme de porcos tratada com irradiação beta.

PEREIRA FILHO (1991) referiu que a irradiação beta na pele de ratos levou à epitelização completa apenas no 21^o dia e que os vasos sangüíneos mostravam-se dilatados. Descreveu um maior número de leucócitos nas fibras irradiadas e uma redução no número de fibroblastos.

HOPEWELL, SIEGER, HERYET, WELLS e CHARLES (1993), estudando as alterações induzidas pela irradiação beta em pele de porcos, descreveram alterações endoteliais da espessura da pele e fibrose do derma, apenas quando utilizavam doses muito altas.

No presente trabalho, a evolução histológica mostrou epitélio descontínuo no 3^o e 7^o dias tanto nas feridas controle como nas irradiadas. Na derme profunda das feridas irradiadas detectou-se a presença de edema já no 3^o dia, desaparecendo no 14^o dia. O colágeno mostrou-se em ordenação nas feridas controle no 7^o dia, enquanto permaneceu desorganizado nas feridas irradiadas, tanto no grupo A como no grupo B. Fibroblastos atípicos e congestão vascular são descritos nestas feridas presentes no 7^o dia. No 21^o dia o epitélio mostrava-se íntegro e o colágeno organizado em todas as feridas, embora uma dilatação vascular pudesse ainda ser vista nas feridas irradiadas.

A epitelização aconteceu de forma semelhante, bem como a angiogênese, entre os grupos controle e experimento. A dilatação vascular embora detectada não foi significativa. Isso mostra uma

tendência, mas não uma certeza e talvez amostra maior possa resolver este impasse.

A reação inflamatória no 3^o dia era do tipo agudo-crônica e nos demais tempos crônica.

A organização da cicatriz, embora se mostrasse maior nas feridas não irradiadas no 3^o e 7^o dias, não o foi de forma significativa.

A densidade do colágeno na cicatriz no 3^o dia foi semelhante nas feridas irradiadas A e B e nos seus controles nas 3 zonas examinadas. Na área para-cicatricial observou-se menor densidade de colágeno na zona intermediária ($p=0,043123$) das feridas irradiadas diariamente (A. 3. E.).

No 7^o dia a concentração de colágeno na área cicatricial permaneceu semelhante nas feridas irradiadas quando comparadas aos seus controles. Porém na área para cicatricial, na zona superficial, nas feridas irradiadas em dias alternados (B. 7. E.) encontra-se maior quantidade de colágeno ($p=0,043123$).

No 14^o dia encontrou-se alteração significativa ($p < 0,025$), na zona superficial da área cicatricial, sendo a concentração de colágeno maior nas feridas irradiadas diariamente (A. 14. E.).

No 21^o dia a área para-cicatricial é semelhante entre os grupos A e B, mas nas zonas intermediárias das feridas irradiadas diariamente (A. 21. E) existe menos colágeno que nos controles, sem diferença entre as irradiadas diariamente e em dias alternados. Na zona profunda da área cicatricial, embora exista mais colágeno no grupo irradiado em dias alternados (B), não existe diferença significativa entre as feridas A. 21. E. e B. 21. E..

Torna-se importante observar que nos dois primeiros tempos de aferição (3^o e 7^o dias) as alterações de colágeno se fizeram sentir nas áreas para-cicatriciais, enquanto que nos dois últimos tempos (14^o e 21^o dias) nas áreas cicatriciais, começando pela zona superficial no 14^o dia e no 21^o dia atingindo as zonas intermediária e profunda. Isso nos leva a supor que a medida que se aumenta o tempo

de irradiação, interfere-se mais profundamente, considerando a espessura da pele, na síntese de colágeno.

Estes resultados não puderam ser comparados com outros na literatura, pois não se localizou trabalho semelhante.

Avaliando os resultados obtidos a nível macroscópico, a irradiação em dias alternados não mostrou diferenças quando comparada com a irradiação em dias consecutivos. A nível microscópico observaram-se diferenças na densidade do colágeno quando as feridas irradiadas em dias consecutivos mostraram mais colágeno no 14^o dia na zona superficial da área cicatricial. Embora existam diferenças entre as feridas A. 21. E e B. 21. E com seus controles nas zonas intermediária e profunda, não ocorreu diferença entre os grupos A e B.

6 CONCLUSÕES

Após a análise dos resultados deste estudo pode-se concluir que:

1 – macroscopicamente não há alterações significantes entre as feridas irradiadas pela radiação beta diariamente e as feridas irradiadas em dias alternados e seus controles;

2 – as feridas irradiadas apresentam maior edema na derme profunda e dilatação vascular, quando comparamos com as feridas não irradiadas;

3 – não há alteração significativa das feridas quanto à organização da cicatriz e epitelização, quando se comparam os grupos de feridas irradiadas com as não irradiadas;

4 – existe maior densidade de colágeno nas zonas superficiais da cicatriz nas feridas irradiadas diariamente;

5 – as alterações do colágeno mais significantes promovidas pela radiação beta são encontradas nas áreas para-cicatriciais nas fases iniciais (3^o e 7^o dias) e nas áreas cicatriciais nas fases tardias (14^o e 21^o dias).

ANEXOS

Anexo I - Teste Exato de Fisher para a Epitelização

Tabela 1.1 – Epitelização no 3º dia comparadas as feridas irradiadas diariamente (A.3.E) com seus controles (A.3.D)

Grupo	Epitelização		Total
	Completa	Incompleta	
A.3.D	2	3	5
A.3.E	2	3	5
Total	4	6	10
Fisher exact p, one-tailed			p= ,7381
Two-tailed			p=1,0000

Tabela 1.2 - Epitelização no 3º dia comparadas as feridas irradiadas em dias alternados (B.3.E) com seus controles (B.3.D)

Grupo	Epitelização		Total
	Completa	Incompleta	
B.3.D	4	1	5
B.3.E	3	2	5
Total	7	8	10
Fisher exact p, one-tailed			p= ,5000
two-tailed			p=1,0000

Tabela 1.3 – Epitelização no 3º dia comparadas as feridas irradiadas diariamente (A.3.E) com as irradiadas em dias alternados (B.3.E)

Grupo	Epitelização		Total
	Completa	Incompleta	
A.3.E	2	3	5
B.3.E	3	2	5
Total	5	5	10
Fisher exact p, one-tailed			p= ,5000
Two-tailed			p=1,0000

Tabela 1.4 - Epitelização no 7º dia comparadas as feridas irradiadas diariamente (A.7.E) com seus controles (A.7.D)

Grupo	Epitelização		Total
	Completa	Incompleta	
A.7.D	3	2	5
A.7.E	4	1	5
Total	7	3	10
Fisher exact p, one-tailed			p= ,5000
two-tailed			p=1,0000

Tabela 1.5 - Epitelização no 7º dia comparadas as feridas irradiadas em dias alternados (B.7.E) com seus controles (B.7.D)

Grupo	Epitelização		Total
	Completa	Incompleta	
B.7.D	3	2	5
B.7.E	5	0	5
Total	8	2	10
Fisher exact p, one-tailed			p= ,2222
Two-tailed			p= ,4444

Tabela 1.6 - Epitelização no 7º dia comparadas as feridas irradiadas diariamente (A.7.E) com as irradiadas em dias alternados (B.7.E)

Grupo	Epitelização		Total
	Completa	Incompleta	
A.7.E	4	1	5
B.7.E	5	0	5
Total	5	5	10
Fisher exact p, one-tailed			p= ,5000
two-tailed			p=1,0000

Anexo II - Teste Exato de Fisher para a Presença de Angiogênese

Tabela 2.1 - Presença de angiogênese no 7º dia comparadas as feridas irradiadas diariamente (A.7.E) com seus controles (A.7.D)

Grupo	Angiogênese		Total
	Presente	Ausente	
A.7.D	5	0	5
A.7.E	4	1	5
Total	9	1	10
Fisher exact p, one-tailed			p= ,5000
Two-tailed			p=1,0000

Tabela 2.2 - Presença de angiogênese no 7º dia. (B.7.E) & (B.7.D)

Grupo	Angiogênese		Total
	Presente	Ausente	
B.7.D	5	0	5
B.7.E	4	1	5
Total	9	1	10
Fisher exact p, one-tailed			P= ,5000
two-tailed			P=1,0000

Tabela 2.3 - Presença de angiogênese no 7º dia. (A.7.E) & (B.7.E)

Grupo	Angiogênese		Total
	Presente	Ausente	
A.7.E	4	1	5
B.7.E	4	1	5
Total	8	2	10
Fisher exact p, one-tailed			p= ,7778
Two-tailed			p=1,0000

Tabela 2.4 - Presença de angiogênese no 14º dia. (A.14.E) & (A.14.D)

Grupo	Angiogênese		Total
	Presente	Ausente	
A.14.D	2	3	5
A.14.E	4	1	5
Total	6	4	10
Fisher exact p, one-tailed			P= ,2619
two-tailed			P= ,5238

Tabela 2.5 – Presença de angiogênese no 14º dia. (B.14.E) & (B.14.D)

Grupo	Angiogênese		Total
	Presente	Ausente	
B.14.D	1	4	5
B.14.E	3	2	5
Total	4	6	10
Fisher exact p, one-tailed			p= ,2619
Two-tailed			p= ,5238

Tabela 2.6 - Presença de angiogênese no 14º dia. (A.14.E) & (B.14.E)

Grupo	Angiogênese		Total
	Presente	Ausente	
A.14.E	4	1	5
B.14.E	3	2	5
Total	7	3	10
Fisher exact p, one-tailed			P= ,5000
two-tailed			P=1,0000

Anexo III - Teste Exato de Fisher para a Presença de Congestão Vascular

Tabela 3.1 – Presença de congestão vascular no 3º dia comparadas as feridas irradiadas diariamente (A.3.E) com seus controles (A.3.D)

Grupo	Congestão Vascular		Total
	Presente	Ausente	
A.3.D	1	4	5
A.3.E	2	3	5
Total	3	7	10
Fisher exact p, one-tailed			p= ,5000
Two-tailed			p=1,0000

Tabela 3.2 - Presença de congestão vascular no 3º dia. (B.3.E) & (B.3.D)

Grupo	Congestão Vascular		Total
	Presente	Ausente	
B.3.D	2	3	5
B.3.E	3	2	5
Total	5	5	10
Fisher exact p, one-tailed			p= ,5000
two-tailed			p=1,0000

Tabela 3.3 – Presença de congestão vascular no 3º dia. (A.3.E) & (B.3.E)

Grupo	Congestão Vascular		Total
	Presente	Ausente	
A.3.E	2	3	5
B.3.E	3	2	5
Total	5	5	10
Fisher exact p, one-tailed			p= ,5000
two-tailed			p=1,0000

Anexo IV - Teste Exato de Fisher para o Tipo de Reação Inflamatória

Tabela 4.1 - Tipo de reação inflamatória no 3º dia comparadas as feridas irradiadas diariamente (A.3.E) com seus controles (A.3.D)

Grupo	Reação Inflamatória			Total
	AG	AG-CR	CR	
A.3.D	3	2	0	5
A.3.E	4	1	0	5
Total	7	3	0	10
Fisher exact p, one-tailed				p= ,5000
Two-tailed				p=1,0000

Tabela 4.2 - Tipo de reação inflamatória no 3º dia comparadas as feridas irradiadas em dias alternados (B.3.E) com seus controles (B.3.D)

Grupo	Reação Inflamatória			Total
	AG	AG-CR	CR	
B.3.D	1	4	0	5
B.3.E	1	4	0	5
Total	2	8	0	10
Fisher exact p, one-tailed				p= ,7778
two-tailed				p=1,0000

Tabela 4.3 - Tipo de reação inflamatória no 3º dia comparadas as feridas irradiadas diariamente (A.3.E) com a irradiadas em dias alternados (B.3.E)

Grupo	Reação Inflamatória			Total
	AG	AG-CR	CR	
A.3.E	4	1	0	5
B.3.E	1	4	0	5
Total	5	5	0	10
Fisher exact p, one-tailed				p= ,1032
Two-tailed				p=1,0000

Tabela 4.4 - Tipo de reação inflamatória no 7º dia comparadas as feridas irradiadas diariamente (A.7.E) com seus controles (A.7.D) (em 2 feridas de E a reação foi ausente)

Grupo	Reação Inflamatória			Total
	AG	AG-CR	CR	
A.7.D	0	1	4	5
A.7.E	0	2	1	3
Total	0	3	5	8
Fisher exact p, one-tailed				p= ,2857
two-tailed				p= ,4643

Tabela 4.5 - Tipo de reação inflamatória no 7º dia em dias alternados (B.7.E) com seus controles (B.7.D) (em 1 ferida de E a reação foi ausente)

Grupo	Reação Inflamatória			Total
	AG	AG-CR	CR	
B.7.D	0	3	2	5
B.7.E	0	1	3	4
Total	0	4	5	9
Fisher exact p, one-tailed				p= ,3571
Two-tailed				p= ,5238

Tabela 4.6 - Tipo de reação inflamatória no 7º dia (A.7.E) & (B.7.E) (em 2 feridas do grupo A e 1 do grupo B a reação foi ausente)

Grupo	Reação Inflamatória			Total
	AG	AG-CR	CR	
A.7.E	0	2	1	3
B.7.E	0	1	3	4
Total	0	3	4	7
Fisher exact p, one-tailed				p= ,3714
two-tailed				p= ,4857

Tabela 4.7 - Tipo de reação inflamatória no 14º dia (A.14.E) & (A.14.D) (em 1 ferida de E e em 1 de D a reação foi ausente)

Grupo	Reação Inflamatória			Total
	AG	AG-CR	CR	
A.14.D	0	2	2	4
A.14.E	0	0	4	4
Total	0	2	6	8
Fisher exact p, one-tailed				p= ,2143
Two-tailed				p= ,4286

Tabela 4.8 - Tipo de reação inflamatória no 14º dia (B.14.E) & (B.14.D) (em 2 feridas do grupo D e em todas de E a reação foi ausente)

Grupo	Reação Inflamatória			Total
	AG	AG-CR	CR	
B.14.D	0	1	2	3
B.14.E	0	0	0	0
Total	0	1	2	3
Grupo B.14.E com reação inflamatória ausente.				

Tabela 4.9 - Tipo de reação inflamatória no 14º dia

A.14.E & B.14.E
(em 1 ferida de A e em todas de B a reação foi ausente)

Grupo	Reação Inflamatória			Total
	AG	AG-CR	CR	
A.14.E	0	0	4	4
B.14.E	0	0	0	0
Total	0	0	4	4
Grupo B.14.E com reação inflamatória ausente.				

Tabela 4.10 - Tipo de reação inflamatória no 21º dia

(A.21.E) & (A.21.D)
(em 3 feridas do grupo D e em 3 de E a reação foi ausente)

Grupo	Reação Inflamatória			Total
	AG	AG-CR	CR	
A.21.D	0	1	1	2
A.21.E	0	0	2	2
Total	0	1	3	4
Fisher exact p, one-tailed				p= ,5000
two-tailed				p=1,000 0

Tabela 4.11 - Tipo de reação inflamatória no 21º dia

B.21.E & B.21.D
(em 3 feridas de D e em 3 de E a reação foi ausente)

Grupo	Reação Inflamatória			Total
	AG	AG-CR	CR	
B.21.D	0	1	1	2
B.21.E	0	0	2	2
Total	0	1	3	4
Fisher exact p, one-tailed				p= ,5000
Two-tailed				p=1,000 0

Tabela 4.12 - Tipo de reação inflamatória no 21º dia

(A.21.E) & (B.21.E)
(em 3 feridas de A e em 3 de B a reação foi ausente)

Grupo	Reação Inflamatória			Total
	AG	AG-CR	CR	
A.21.E	0	0	2	2
B.21.E	0	0	2	2
Total	0	0	4	4
Houve somente um tipo de reação.				

Anexo V - Teste Exato de Fisher para a Organização da Cicatriz

Tabela 5.1 - Organização da Cicatriz no 3º dia A.3.E & A.3.D

Grupo	Organização da Cicatri			Total
	ORG	EM ORG	DES ORG	
A.3.D	0	1	4	5
A.3.E	0	0	5	5
Total	0	1	9	10
Fisher exact p, one-tailed				p= ,5000
Two-tailed				p=1,000 0

Tabela 5.2 - Organização da Cicatriz no 3º dia B.3.E & B.3.D

Grupo	Organização da Cicatri			Total
	ORG	EM ORG	DES ORG	
B.3.D	0	0	5	5
B.3.E	0	1	4	5
Total	0	1	9	10
Fisher exact p, one-tailed				p= ,5000
Two-tailed				p=1,000 0

Tabela 5.3 - Organização da Cicatriz no 3º dia A.3.E & B.3.E

Grupo	Organização da Cicatri			Total
	ORG	EM ORG	DES ORG	
A.3.E	0	0	5	5
B.3.E	0	1	4	5
Total	0	1	9	10
Fisher exact p, one-tailed				p= ,5000
Two-tailed				p=1,000 0

Tabela 5.4 - Organização da Cicatriz no 7º dia A.7.D & A.7.E

Grupo	Organização da Cicatri			Total
	ORG	EM ORG	DES ORG	
A.7.D	0	4	1	5
A.7.E	0	3	2	5
Total	0	7	3	10
Fisher exact p, one-tailed				p= ,5000
Two-tailed				p=1,000 0

Tabela 5.5 - Organização da Cicatriz no 7º dia B.7.D & B.7.E

Grupo	Organização da Cicatri			Total
	ORG	EM ORG	DES ORG	
B.7.D	0	2	3	5
B.7.E	0	4	1	5
Total	0	6	4	10
Fisher exact p, one-tailed				p= ,2619
Two-tailed				p= ,5238

Tabela 5.6 - Organização da Cicatriz no 7º dia A.7.E & B.7.E

Grupo	Organização da Cicatri			Total
	ORG	EM ORG	DES ORG	
A.7.E	0	3	2	5
B.7.E	0	4	1	5
Total	0	7	3	10
Fisher exact p, one-tailed				p= ,5000
two-tailed				p=1,0000

Tabela 5.7 - Organização da Cicatriz no 14º dia A.14.E & A.14.D

Grupo	Organização da Cicatri			Total
	ORG	EM ORG	DES ORG	
A.14.D	0	5	0	5
A.14.E	1	4	0	5
Total	1	9	0	10
Fisher exact p, one-tailed				p= ,5000
Two-tailed				p=1,0000

Tabela 5.8 - Organização da Cicatriz no 14º dia B.14.D & B.14.E

Grupo	Organização da Cicatri			Total
	ORG	EM ORG	DES ORG	
B.14.D	1	4	0	5
B.14.E	3	2	0	5
Total	4	6	0	10
Fisher exact p, one-tailed				p= ,2619
Two-tailed				p= ,5238

Tabela 5.9 - Organização da Cicatriz no 14º dia A.14.E & B.14.E

Grupo	Organização da Cicatri			Total
	ORG	EM ORG	DES ORG	
A.14.E	1	4	0	5
B.14.E	3	2	0	5
Total	4	6	0	10
Fisher exact p, one-tailed				p= ,2619
Two-tailed				p= ,5238

Tabela 5.10 - Organização da Cicatriz no 21º dia A.21.D & A.21.E

Grupo	Organização da Cicatri			Total
	ORG	EM ORG	DES ORG	
A.21.D	3	2	0	5
A.21.E	5	0	0	5
Total	8	2	0	10
Fisher exact p, one-tailed				p= ,2222
two-tailed				p= ,4444

Grupo	Organização da Cicatri			Total
	ORG	EM ORG	DES ORG	
B.21.D	3	2	0	5
B.21.E	3	2	0	5
Total	6	4	0	10
Fisher exact p, one-tailed				p= ,7381
Two-tailed				p=1,000 0

Grupo	Organização da Cicatri			Total
	ORG	EM ORG	DES ORG	
A.21.E	5	0	0	5
B.21.E	3	2	0	5
Total	8	2	0	10
Fisher exact p, one-tailed				p= ,2222
Two-tailed				p= ,4444

Anexo VI - Testes de Wilcoxon e Kolmogorov-Smirnov para o Percentual de Colágeno Total

Wilcoxon para Dados Pareados (mesmo grupo) e Kolmogorov-Smirnov para Duas Amostras (grupos diferentes)

Tabela 6.1 - Colágeno Total na Zona Superficial da Área Cicatricial no 3º dia (em %)

Animal\ Grupo	A3D	A3E	B3D	B3E
1	90,46	84,26	93,33	90,58
2	80,09	57,81	79,90	85,72
3	75,30	89,62	74,82	88,20
4	54,64	63,92	70,09	46,96
5	50,02	71,76	62,43	73,58
Média	70,10	73,33	76,11	77,00

Wilcoxon Matched Pairs Test

A3D & A3E	p-level:	,685833
B3D & B3E	p-level:	,685833

Kolmogorov-Smirnov Too-Sample Test

A3E & B3E	p-level:	p > 0,10
-----------	----------	----------

Tabela 6.2 - Colágeno Total na Zona Intermediária da Área Cicatricial no 3º dia (em %)

Animal\ Grupo	A3D	A3E	B3D	B3E
1	77,50	90,57	82,02	79,00
2	89,67	74,88	82,70	76,04
3	86,13	93,89	80,63	86,67
4	55,73	48,88	55,02	68,95
5	70,33	60,09	69,70	44,77
Média	75,87	73,66	74,01	71,08

Wilcoxon Matched Pairs Test

A3D & A3E	p-level:	,685833
B3D & B3E	p-level:	,685833

Kolmogorov-Smirnov Too-Sample Test

A3E & B3E	p-level:	p > 0,10
-----------	----------	----------

Tabela 6.3 - Colágeno Total na Zona Profunda da Área Cicatricial no 3º dia (em %)

Animal\ Grupo	A3D	A3E	B3D	B3E
1	94,06	77,81	76,25	61,81
2	81,19	81,53	76,52	80,64
3	67,28	75,91	75,66	84,77
4	62,72	28,03	38,90	78,50
5	82,77	77,91	82,78	71,69
Média	77,60	68,23	70,02	75,48

Wilcoxon Matched Pairs Test

A3D & A3E	p-level:	,345238
B3D & B3E	p-level:	,892739

Kolmogorov-Smirnov Too-Sample Test

A3E & B3E	p-level:	p > 0,10
-----------	----------	----------

Tabela 6.4 - Colágeno Total na Zona Superficial da Área Para-Cicatricial no 3º dia (em %)

Animal\ Grupo	A3D	A3E	B3D	B3E
1	69,32	88,23	70,06	84,08
2	52,06	71,01	88,73	82,76
3	28,17	86,47	49,70	87,41
4	57,41	54,54	84,12	62,68
5	79,83	69,08	65,72	51,49
Média	57,15	73,86	71,66	73,68

Wilcoxon Matched Pairs Test

A3D & A3E	p-level:	,224925
B3D & B3E	p-level:	,892739

Kolmogorov-Smirnov Too-Sample Test

A3E & B3E	p-level:	p > 0,10
-----------	----------	----------

Tabela 6.5 - Colágeno Total na Zona Intermediária da Área Para-Cicatricial no 3º dia (em %)

Animal\ Grupo	A3D	A3E	B3D	B3E
1	35,20	79,80	75,56	75,56
2	46,00	75,63	80,90	77,41
3	32,10	83,69	58,64	88,78
4	66,10	66,60	76,81	65,42
5	86,54	86,58	65,47	56,56
Média	53,18	78,46	71,47	72,74

Wilcoxon Matched Pairs Test

A3D & A3E	p-level:	,043123
B3D & B3E	p-level:	,715003

Kolmogorov-Smirnov Too-Sample Test

A3E & B3E	p-level:	p > 0,10
-----------	----------	----------

Tabela 6.6 - Colágeno Total na Zona Profunda da Área Para-Cicatricial no 3º dia (em %)

Animal\ Grupo	A3D	A3E	B3D	B3E
1	50,48	69,72	75,03	59,01
2	44,66	79,85	68,90	71,23
3	33,79	74,51	64,80	95,34
4	65,65	38,51	69,70	80,00
5	83,01	78,66	81,04	72,93
Média	55,51	68,25	71,89	75,70

Wilcoxon Matched Pairs Test

A3D & A3E	p-level:	,345238
B3D & B3E	p-level:	,685833

Kolmogorov-Smirnov Too-Sample Test

A3E & B3E	p-level:	p > 0,10
-----------	----------	----------

Tabela 6.7 - Colágeno Total na Zona Superficial da Área Cicatricial no 7º dia (em %)

Animal\ Grupo	A7D	A7E	B7D	B7E
1	93,75	82,96	23,16	86,06
2	70,76	69,17	68,95	95,07
3	33,07	65,69	77,56	85,98
4	57,19	76,85	85,26	54,88
5	89,19	69,89	67,26	30,09
Média	68,79	72,91	65,03	70,41

Wilcoxon Matched Pairs Test

A7D & A7E	p-level:	,685833
B7D & B7E	p-level:	,892739

Kolmogorov-Smirnov Too-Sample Test

A7E & B7E	p-level:	p > 0,10
-----------	----------	----------

Tabela 6.8 - Colágeno Total na Zona Intermediária da Área Cicatricial no 7º dia (em %)

Animal\ Grupo	A7D	A7E	B7D	B7E
1	96,62	83,00	61,54	93,78
2	81,05	76,90	81,04	82,98
3	69,48	58,88	78,23	87,48
4	76,54	64,10	41,79	38,85
5	88,58	89,65	78,15	63,21
Média	82,45	74,50	68,15	73,26

Wilcoxon Matched Pairs Test

A7D & A7E	p-level:	,079625
B7D & B7E	p-level:	,685833

Kolmogorov-Smirnov Too-Sample Test

A7E & B7E	p-level:	p > 0,10
-----------	----------	----------

Tabela 6.9 - Colágeno Total na Zona Profunda da Área Cicatricial no 7º dia (em %)

Animal\ Grupo	A7D	A7E	B7D	B7E
1	95,03	92,64	50,54	90,59
2	76,34	63,64	86,96	59,95
3	75,16	82,94	69,81	53,44
4	82,18	66,51	53,03	64,75
5	85,76	87,50	68,10	78,15
Média	82,89	78,64	65,68	69,37

Wilcoxon Matched Pairs Test

A7D & A7E	p-level:	,345238
B7D & B7E	p-level:	,892739

Kolmogorov-Smirnov Too-Sample Test

A7E & B7E	p-level:	p > 0,10
-----------	----------	----------

Tabela 6.10 - Colágeno Total na Zona Superficial da Área Para-Cicatricial no 7º dia (em %)

Animal\ Grupo	A7D	A7E	B7D	B7E
1	33,02	37,90	38,50	66,46
2	70,25	73,01	61,96	81,59
3	36,45	58,42	57,19	62,44
4	35,07	66,56	62,83	70,34
5	88,17	60,82	57,67	62,78
Média	52,59	59,34	55,63	68,72

Wilcoxon Matched Pairs Test

A7D & A7E	p-level:	,345238
B7D & B7E	p-level:	,043123

Kolmogorov-Smirnov Too-Sample Test

A7E & B7E	p-level:	p > 0,10
-----------	----------	----------

Tabela 6.11 - Colágeno Total na Zona Intermediária da Área Para-Cicatricial no 7º dia (em %)

Animal\ Grupo	A7D	A7E	B7D	B7E
1	55,29	56,59	38,65	83,73
2	71,32	64,36	60,94	80,49
3	42,49	59,49	64,61	61,91
4	75,37	65,89	53,00	29,12
5	76,60	71,12	75,54	66,56
Média	64,21	63,49	58,54	64,36

Wilcoxon Matched Pairs Test

A7D & A7E	p-level:	,685833
B7D & B7E	p-level:	,892739

Kolmogorov-Smirnov Too-Sample Test

A7E & B7E	p-level:	p > 0,10
-----------	----------	----------

Tabela 6.12 - Colágeno Total na Zona Profunda da Área Para-Cicatricial no 7º dia (em %)

Animal\ Grupo	A7D	A7E	B7D	B7E
1	61,29	79,83	55,47	83,63
2	59,70	49,30	71,70	83,43
3	35,89	63,54	67,98	64,75
4	75,83	54,12	42,23	34,85
5	74,29	86,37	65,57	67,83
Média	61,38	66,63	62,59	66,89

Wilcoxon Matched Pairs Test

A7D & A7E	p-level:	,500189
B7D & B7E	p-level:	,500189

Kolmogorov-Smirnov Too-Sample Test

A7E & B7E	p-level:	p > 0,10
-----------	----------	----------

Tabela 6.13 - Colágeno Total na Zona Superficial da Área Cicatricial no 14º dia (em %)

Animal\ Grupo	A14D	A14E	B14D	B14E
1	32,66	64,72	55,82	50,34
2	63,90	71,85	71,44	55,57
3	97,60	95,68	35,38	51,21
4	55,20	75,88	76,39	45,01
5	82,67	74,14	49,75	36,51
Média	66,40	76,45	57,75	47,72

Wilcoxon Matched Pairs Test

A14D & A14E	p-level:	,345238
B14D & B14E	p-level:	,224925

Kolmogorov-Smirnov Too-Sample Test

A14E & B14E	p-level:	p < .025
-------------	----------	----------

Tabela 6.14 - Colágeno Total na Zona Intermediária da Área Cicatricial no 14º dia (em %)

Animal\ Grupo	A14D	A14E	B14D	B14E
1	63,49	70,45	56,37	79,13
2	72,50	80,74	93,98	53,23
3	99,79	99,89	41,15	57,17
4	81,99	73,62	86,80	50,87
5	77,67	77,57	69,06	57,86
Média	79,08	80,45	69,47	59,65

Wilcoxon Matched Pairs Test

A14D & A14E	p-level:	,787408
B14D & B14E	p-level:	,500189

Kolmogorov-Smirnov Too-Sample Test

A14E & B14E	p-level:	p > 0,10
-------------	----------	----------

Tabela 6.15 - Colágeno Total na Zona Profunda da Área Cicatricial no 14º dia (em %)

Animal\ Grupo	A14D	A14E	B14D	B14E
1	60,72	50,94	75,49	91,30
2	34,75	78,28	96,19	35,67
3	82,46	94,01	66,22	40,51
4	70,44	78,56	79,79	81,37
5	60,14	78,45	59,23	65,93
Média	61,70	76,04	75,58	62,95

Wilcoxon Matched Pairs Test

A14D & A14E	p-level:	,138021
B14D & B14E	p-level:	,685833

Kolmogorov-Smirnov Too-Sample Test

A14E & B14E	p-level:	p > 0,10
-------------	----------	----------

Tabela 6.16 - Colágeno Total na Zona Superficial da Área Para-Cicatricial no 14º dia (em %)

Animal\ Grupo	A14D	A14E	B14D	B14E
1	53,45	93,54	28,70	30,88
2	82,36	65,48	77,61	38,45
3	91,05	78,98	61,29	50,63
4	73,93	52,60	40,90	48,09
5	70,48	47,81	56,59	30,74
Média	76,25	67,68	53,01	39,75

Wilcoxon Matched Pairs Test

A14D & A14E	p-level:	,500189
B14D & B14E	p-level:	,224925

Kolmogorov-Smirnov Too-Sample Test

A14E & B14E	p-level:	p < 0,10
-------------	----------	--------------------

Tabela 6.17 - Colágeno Total na Zona Intermediária da Área Para-Cicatricial no 14º dia (em %)

Animal\ Grupo	A14D	A14E	B14D	B14E
1	66,66	80,08	43,23	25,95
2	69,87	79,21	83,03	65,71
3	88,24	82,77	63,83	52,39
4	92,03	62,27	44,18	49,12
5	67,89	65,08	50,29	53,71
Média	76,93	73,88	56,91	49,37

Wilcoxon Matched Pairs Test

A14D & A14E	p-level:	,892739
B14D & B14E	p-level:	,224925

Kolmogorov-Smirnov Too-Sample Test

A14E & B14E	p-level:	p > 0,10
-------------	----------	----------

Tabela 6.18 - Colágeno Total na Zona Profunda da Área Paracicatricial no 14º dia (em %)

Animal\ Grupo	A14D	A14E	B14D	B14E
1	50,43	70,35	49,68	57,13
2	54,94	75,78	92,93	71,04
3	95,16	72,68	80,05	43,74
4	80,74	54,63	84,89	56,25
5	91,31	81,89	32,74	45,79
Média	74,51	71,06	68,05	54,79

Wilcoxon Matched Pairs Test

A14D & A14E	p-level:	,500189
B14D & B14E	p-level:	,224925

Kolmogorov-Smirnov Too-Sample Test

A14E & B14E	p-level:	p > 0,10
-------------	----------	----------

Tabela 6.19 - Colágeno Total na Zona Superficial da Área Cicatricial no 21º dia (em %)

Animal\ Grupo	A21D	A21E	B21D	B21E
1	86,47	39,33	12,95	52,34
2	60,87	85,53	74,82	73,21
3	75,88	49,49	44,18	21,26
4	91,75	42,35	29,32	67,35
5	67,31	47,11	37,97	30,74
Média	76,45	52,76	39,84	48,98

Wilcoxon Matched Pairs Test

A21D & A21E	p-level:	,138021
B21D & B21E	p-level:	,685833

Kolmogorov-Smirnov Too-Sample Test

A21E & B21E	p-level:	p > 0,10
-------------	----------	----------

Tabela 6.20 - Colágeno Total na Zona Intermediária da Área Cicatricial no 21º dia (em %)

Animal\ Grupo	A21D	A21E	B21D	B21E
1	87,09	81,32	21,11	61,87
2	66,02	61,81	81,81	75,12
3	89,21	47,06	56,74	61,09
4	81,70	26,87	82,16	74,78
5	52,14	47,22	48,48	75,95
Média	75,23	52,85	58,06	69,76

Wilcoxon Matched Pairs Test

A21D & A21E	p-level:	,043123
B21D & B21E	p-level:	,500189

Kolmogorov-Smirnov Too-Sample Test

A21E & B21E	p-level:	p > 0,10
-------------	----------	----------

Tabela 6.21 - Colágeno Total na Zona Profunda da Área Cicatricial no 21º dia (em %)

Animal\ Grupo	A21D	A21E	B21D	B21E
1	81,89	82,51	47,01	47,50
2	70,13	73,30	45,84	55,66
3	82,76	52,24	45,25	54,98
4	61,18	34,37	57,33	63,09
5	26,22	50,44	43,79	59,96
Média	64,43	58,57	47,84	56,24

Wilcoxon Matched Pairs Test

A21D & A21E	p-level:	,685833
B21D & B21E	p-level:	,043123

Kolmogorov-Smirnov Too-Sample Test

A21E & B21E	p-level:	p > 0,10
-------------	----------	----------

Tabela 6.22 - Colágeno Total na Zona Superficial da Área Para-Cicatricial no 21º dia (em %)

Animal\ Grupo	A21D	A21E	B21D	B21E
1	69,04	61,91	48,63	43,54
2	54,63	67,79	66,17	70,38
3	55,79	28,60	47,89	40,42
4	86,93	45,16	47,65	63,88
5	36,43	50,07	38,73	35,98
Média	60,56	50,70	49,81	50,84

Wilcoxon Matched Pairs Test

A21D & A21E	p-level:	,500189
B21D & B21E	p-level:	,892739

Kolmogorov-Smirnov Too-Sample Test

A21E & B21E	p-level:	p > 0,10
-------------	----------	----------

Tabela 6.23 - Colágeno Total na Zona Intermediária da Área Para-Cicatricial no 21º dia (em %)

Animal\ Grupo	A21D	A21E	B21D	B21E
1	58,37	68,41	40,95	46,28
2	55,98	58,32	62,36	56,20
3	49,02	36,91	50,73	40,76
4	86,09	49,70	50,78	55,66
5	56,37	50,50	37,68	49,28
Média	61,16	52,76	48,50	49,63

Wilcoxon Matched Pairs Test

A21D & A21E	p-level:	,345238
B21D & B21E	p-level:	,892739

Kolmogorov-Smirnov Too-Sample Test

A21E & B21E	p-level:	p > 0,10
-------------	----------	----------

Tabela 6.24 - Colágeno Total na Zona Profunda da Área Para-Cicatricial no 21º dia (em %)

Animal\ Grupo	A21D	A21E	B21D	B21E
1	73,46	69,56	46,92	40,07
2	36,26	61,39	57,77	64,71
3	46,32	35,00	49,31	58,65
4	93,23	58,32	56,65	43,20
5	46,37	24,37	27,27	66,38
Média	59,12	49,72	45,38	54,60

Wilcoxon Matched Pairs Test

A21D & A21E	p-level:	,685833
B21D & B21E	p-level:	,500189

Kolmogorov-Smirnov Too-Sample Test

A21E & B21E	p-level:	p > 0,10
-------------	----------	----------

REFERÊNCIAS

- BARONCELLI, G.; MAGNO, L.; TUNESI, G. – La posizione dello stronzio 90 nella radioterapia di contatto: proprietà fisiche, modalità tecniche d'impiego, indicazioni cliniche. **Radiol. Med.**, **48**: 635-62, 1962
- BEDDOE, A.H.; KELLY, M.T. – Absorbed dose in the skin from beta emitters in medical and laboratory containers. **Br. J. Radiol.**, **67**: 54-58, 1994.
- BISHOP, F.W. – Comparison of X and beta radiation effects in rabbits. In: BLAIR, H.A. – **Biological effects of external radiation**. New York, McGraw-Hill Book Company, 1954, p.194-203.
- COHEN, K.; MAST, B.A. – Models of wound healing. **J. Trauma.**, **30** (supl. 12): 149-155, 1990.
- FAW, R.E. – Absorbed doses to skin from radionuclide sources on the body surface. **Health Phys.**, **63**: 443-448, 1992.
- FRIEDEL, H.L.; THOMAS, C.I.; KROHMER, J.S. – Description of a Sr. 90 beta-ray applicator and its use on the eye. **Am. J. Roentgenol. Radium Ther.**, **65**: 232 -244, 1951.
- FRIEDEL, H.L.; THOMAS, C.I.; KROHMER, J.S. – An evaluation of the clinical use of strontium 90 beta-ray applicator with a review of the underlying principles. **Am. J. Roentgenol. Radium Ther.**, **71**: 25-39, 1954.

- GRECA, F.H. – **Influência da macroporosidade na biocompatibilidade de duas telas de polipropileno, usadas para correção de defeitos da parede abdominal.** Curitiba, 1998, 45p. (Tese – Professor Titular – Pontifícia Universidade Católica do Paraná).
- HOPEWELL, J.W.; SIEBER, V.K.; HERYET, J.C., WELLS, J.; CHARLES, M.W. – Dose-and source-size-related changes in the late response of pig skin to irradiation with single doses of beta radiation from sources of differing energy. **Radiat. Res.**, **133**: 303-311, 1993.
- JUNQUEIRA, L.C.U.; BIGNOLAS, G.; BRENTANI, R.R. – A simple and sensitive method for the quantitative estimation of collagen. **Anal. Biochem.**, **94**: 96-99, 1979.
- LUSHBAUGH, C.C.; STORER, J.B.; HALE, D.B. – Experimental acute radiodermatitis following beta irradiation: In: Its pathogenesis and repair. **Cancer.**, **6**: 671-7, 1953.
- MackENZIE, F.D.; HIRST, L.W.; KYNASTON, B.; BAIN, C. – Recurrence rate and complications after beta irradiation for pterygia. **Ophthalmology**, **98**: 1776-781, 1991.
- MESSIAS DA SILVA, P. – **Influência da hepatectomia sobre a síntese de colágeno cicatricial da pele abdominal e níveis séricos de vitaminas C e E.** Ribeirão Preto, 1998. 66p. (Tese – Mestrado – Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo).

OOTSUYAMA, A.; TANOOKA, H. – Threshold-like dose of local beta irradiation repeated throughout the life span of mice for induction of skin and bone tumors. **Radiat. Res.**, **125**: 98-101, 1991.

OOTSUYAMA, A.; TANAKA, K.; TANOOKA, H. – Clonal origin of skin and bone tumors produced by repeated beta-irradiation in mosaic cell mice. **Jpn. J. Cancer Res.**, **83**: 964-67, 1992.

PEREIRA FILHO, G.V. – **Aspectos morfológicos e morfométricos da reparação tecidual de feridas cutâneas submetidas à radiação beta de estrôncio 90, em ratos.** São Paulo, 1991. 101p. (Tese – Mestrado – Escola Paulista de Medicina).

PRADO, M.A.S. – **Aspectos morfológicos e morfométricos do processo de reparação da pele de ratos albinos, após ação dos raios X.** São Paulo, 1981. 48p. (Tese- Mestrado- Escola Paulista de Medicina)

RAPER, J.R.; ZIRKLE, R.E.; BARNES, K.K. – Gross effects of total surface beta irradiation. In: ZIRKLE, R. E. – **Effects of external beta radiation.** New York, McGraw-Hill Book Company, 1951., p.77-109.

RAPER, J.R.; ZIRKLE, R.E.; BARNES, K.K. – Techniques of external irradiation with beta rays. In: ZIRKLE, R.E. – **Effects of external beta radiation.** New York, McGraw-Hill Book Company, 1951., p.1-41.

- SETTI, R.I. – Atualização do emprego do estrôncio 90 em oftalmologia. **Arq. Bras. Oftalmol.**, **23**: 91-103, 1960.
- SETTI, R.I. – Resultados obtidos com o aplicador do estrôncio 90, em lesões oftalmológicas, em mais de seis meses de observações. **Arq. Bras. Oftalmol.**, **24**: 174-83, 1961.
- SIMÕES, M.J.; UZUNIAN, A.; MORA, O.A., SASSO, W.S. – Aspectos ultra-estruturais do processo de reparação da pele de ratos albinos. **Rev. Paul. Med.**, **103**: 123-6, 1985.
- SMIALOWSKI, E.B. – **Ferimentos padronizados tratados por papaína, açúcar, minoxidil e glucana, em ratos**. São Paulo, 1991. 107p. (Tese – Mestrado – Universidade Federal de São Paulo/ Escola Paulista de Medicina).
- SNIDER, R.S.; RAPER, J.R. – Histopathological effects of single doses of total surface beta radiation on mice. In: ZIRKLE, R. E. – **Effects of external beta radiation**. New York, McGraw-Hill Book Company, 1951., p.152-78.
- TABACHNICK, J.; WEISS, C. – Biochemical changes in beta-irradiated epidermis of guinea pigs. **Radiat. Res.**, **11**: 684-99, 1959.
- WALTER, W.L. – Another look at pterygium surgery with postoperative beta radiation. **Ophthal. Plast. Recons. Surg.**, **10**: 247-52, 1994.

WITTEN, V.M.; BRAUER, E.W.; HOLMSTROM, V.; LOEVINGER, R. – Erythema effects of a pure beta emitter (strontium 90) on human skin. **J. Invest. Dermatol.**, **23**: 271-85, 1954.

NORMAS ADOTADAS

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ. BIBLIOTECA CENTRAL. **Normas para apresentação de trabalhos**. 3.ed. Curitiba, Ed. da UFPR., 1994, 8v.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. Comissão de Estudos de Documentação – **Normas brasileiras em documentação**. Rio de Janeiro, Atual, 1989, v.1.

NOMINA ANATÔMICA 5.ed., Rio de Janeiro, Médica e Científica, 1984, 110p.

INTERNATIONAL ANATOMICAL NOMENCLATURE COMMITTEE. **Nomina histologica**. 2.ed. New York, Ithaca, 1983, 60p.

INTERNATIONAL SERIAL DATA SYSTEM & INTERNATIONAL ORGANIZATION FOR STANDARTIZATION. **Liste d'abbreviations des mots des titres des publications on sèrie: conforme a ISSO 4-1984/ List of serial title word abbreviation in accordance with ISSO 4-1984**. Paris, ISDS/ISSO, 1985, 215p.