

Estudo comparativo da reparação do epitélio corneano após trauma planejado, em coelhas ⁺

Comparative studies of corneal surface injury in rabbits.

Milton Ruiz Alves ⁽¹⁾
Décio de Brong Mattar ⁽²⁾
José Antonio de Almeida Milani ⁽¹⁾
Mônica Helena Teixeira da Silva ⁽³⁾

RESUMO

Este estudo avalia, em coelhas, as respostas das córneas quando submetidas a traumas químicos, mecânicos ou à associação de ambos, e compara as áreas iniciais de desepitelização e respectivas velocidades de cicatrização.

Dentro das condições desse estudo, conclui-se que nos olhos submetidos à desepitelização química, as áreas iniciais com ablação epitelial foram diferentes e inferiores às obtidas pela aplicação dos outros métodos (que foram comparáveis entre si) e que as velocidades de cicatrização foram comparáveis entre os grupos estudados.

Palavras-chave: Córnea. Lesão epitelial. Cicatrização. Coelhas.

INTRODUÇÃO

Por razões de economia e manejo, o coelho é o animal mais utilizado para se estudar os efeitos do trauma e a influência de diversos fatores sobre a atividade de reparação de lesão no epitélio corneano¹. As vantagens podem-se justificar pela simplicidade de técnica e igualmente pela unicidade da população celular que reage ao traumatismo².

Os modelos experimentais mais utilizados para se estudar a regeneração do epitélio corneano são obtidos através de métodos químicos, mecânicos ou da associação de ambos. O n-heptanol e o NaOH são as substâncias mais utilizadas para produzir uma desepitelização química³. As ablações epiteliais mecânicas são realizadas através de ceratectomia superficial ou desepitelização com lâmina de bisturi^{2,4}.

Com estes modelos, mede-se a velo-

cidade de regeneração epitelial após a ablação de uma superfície circular constante do epitélio corneano central da córnea. A área sem epitélio é fotografada em fluorescência, após a instilação de fluoresceína sódica, e medida a partir de fotografias obtidas em diferentes fases do tempo até a reparação epitelial.

Este estudo, em coelhas, tem como objetivo avaliar as respostas das córneas, quando submetidas a trauma químico, mecânico ou à associação de ambos, comparando-se os valores das áreas iniciais de desepitelização e respectivas velocidades de cicatrização.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizadas 6 coelhas albinas de raça Nova Zelândia, pesando entre 1800 e 2500 g. e que não apresentavam anormalidade ao exame inicial com lâmpada de fenda. Os animais foram anestesiados com injeção intra-muscu-

* Trabalho realizado no Laboratório de Investigação médica do Instituto de Medicina Nuclear do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo.

⁽¹⁾ Médico-Assistente Doutor da Clínica Oftalmológica do Hospital das Clínicas da FMUSP.

⁽²⁾ Médico-Assistente pós-graduando da Clínica Oftalmológica do Hospital das Clínicas da FMUSP.

⁽³⁾ Médica-Adida da Clínica Oftalmológica do Hospital das Clínicas da FMUSP.

Endereço para correspondência: Dr. Milton Ruiz Alves. Rua Luiz Coelho, 308 conj. 15-16, CEP 01309. São Paulo.

lar de uma mistura de cloridrato de ketamina na dose de 30 mg/Kg de peso e de Xilazina na dose de 5 mg/kg de peso. Após a irrigação dos olhos com solução de cloreto de sódio a 0,9% e instilação de 2 gotas de tetracaína a 0,5%, realizaram-se em todos os olhos defeitos superficiais na porção central da córnea. A demarcação da área a ter o epitélio removido foi feita, sob magnificação, com trépano de 7,75 mm de fabricação Storz. Em nenhum dos animais as membranas nictantes foram removidas.

Nos olhos dos animais 1 e 2, mantendo-se o trépano em posição para evitar extravasamento, o epitélio a ser removido era tocado por 30 segundos por uma zaragatoa embebida em álcool etílico a 95% e, posteriormente, secado e finalmente irrigado com solução de cloreto de sódio a 0,9%.

Nos olhos dos animais 3 e 4, após a realização dos atos descritos acima, o epitélio que ao final ainda persistia na área demarcada era removido com bisturi lâmina 15. A eficácia da ablação epitelial foi controlada com a instilação de 2 gotas de fluoresceína sódica a 2%.

Nos olhos dos animais 5 e 6, o epitélio da área demarcada, foi removido com bisturi lâmina 15, e a sua retirada foi controlada com o descrito anteriormente.

Para avaliação da regeneração epitelial, a área corneana sem epitélio, foi corada com fluoresceína sódica a 2% e removendo-se o seu excesso com solução de cloreto de sódio, fotografada com um sistema de macrofotografia (lente macro de 100 mm-Ahsai Pentax, foco de 45 cm, flash eletrônico Toshiba-modelo 8184 com filtro Wratten Kodak 47 B e filme Kodacolor Gold 100ASA). Após identificação na fotografia, a área sem epitélio foi medida com o auxílio de uma câmara de vídeo acoplada a um sistema analisador de imagem (Java^{1,4}), digitando-se sua imagem num vídeo de alta resolução, equipado com "mouse". Fotografias foram obtidas imediatamente após o ato

cirúrgico e, a cada 12 horas, até o final do experimento.

Para a avaliação qualitativa do epitélio regenerado, realizaram-se, a cada 24 horas, exames de biomicroscopia com lâmpada de fenda, procurando caracterizar a presença de edema visível por retro-iluminação, por iluminação direta ou por opacificação grosseira e presença de irregularidade epitelial.

Para a análise dos resultados foram empregados médias aritméticas e desvios padrão, regressões lineares, prova de Kruskal-Wallis e construção de figura com os valores das médias aritméticas.

RESULTADOS

Os valores médios e desvios padrão, dos resultados das áreas iniciais foram: $38,35 \pm 5,96$ (desepitelização química), $48,07 \pm 4,16$ (bisturi) e $47,75 \pm 1,60$ (desepitelização química + bisturi). O resultado da prova de Kruskal-Wallis foi: $K = 7,54$ $p = 0,007$ *. As áreas iniciais dos olhos submetidos à desepitelização química foram diferentes e inferiores às obtidas pela aplicação dos outros métodos (que foram comparáveis entre si).

A representação gráfica da função da área desepitelizada pelo tempo em que foram avaliadas, está na Figura.

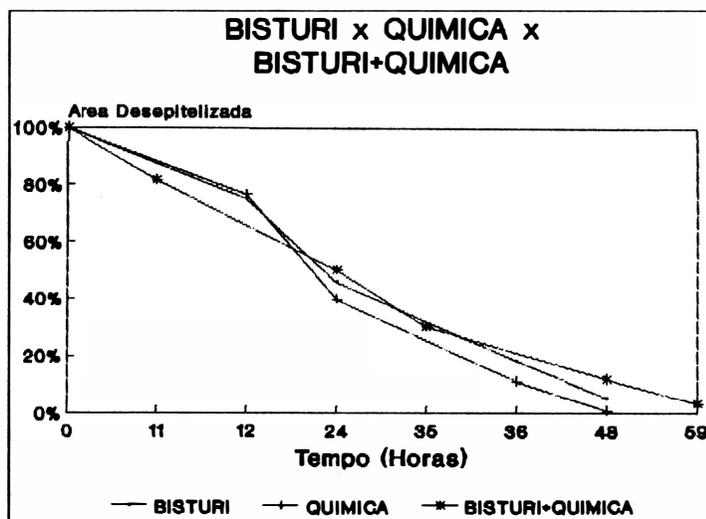
Para a avaliação comparativa da velocidade de regeneração do epitélio corneano, foram calculados, para cada método empregado, os valores das regressões lineares. Os valores do coeficiente angular médio e desvio padrão foram os se-

guintes: $-2,60 \pm 0,42$ (desepitelização química), $-1,85 \pm 0,25$ (química + bisturi) e $-2,19 \pm 0,34$ (bisturi). O resultado da prova de Kruskal-Wallis foi: $K = 5,32$ e $p = 0,0700$. Considerando-se o tamanho da amostragem testada, estes resultados devem ser interpretados com cautela, no entanto, fazem supor que para o nível de significância de 0,05, as velocidades de cicatrização foram comparáveis entre os grupos estudados.

As avaliações do epitélio regenerado, realizadas a cada 24 horas, não identificaram diferenças biomicroscópicas entre os métodos estudados.

DISCUSSÃO

Neste trabalho, as áreas iniciais obtidas por desepitelização química com a utilização de álcool etílico a 95% não foram comparáveis com as obtidas com os outros métodos estudados. No mínimo dois fatores contribuíram para estes achados: a quantidade de álcool etílico carregado pela zaragatoa e o trépano que mantido em posição, impedia o acesso da zaragatoa aos limites extremos da área a desepitelizar. Tal dificuldade poderia ser evitada com a utilização de disco de papel de filtro embebi-



Representação gráfica das variações de porcentagem de área desepitelizada obtidas dos valores médios dos olhos submetidos ao trauma químico, com bisturi e com a associação de ambos; na avaliação inicial e em diversas fases do tempo. Os valores médios das áreas iniciais de cada grupo foram transformados em 100% de área desepitelizada.

do em álcool etílico a 95%, colocado sobre o epitélio por um certo tempo após o que a córnea seria irrigada copiosamente com solução de cloreto de sódio a 0,9%.

Neste estudo, os defeitos superficiais na parte central da córnea foram demarcados com trépano de 7,75 mm. O cálculo teórico da área da superfície corneana com ablação do epitélio corresponde a 47,17 mm². Os valores de área inicial sem epitélio obtidos com desepitelização química + bisturi e com bisturi foram muito próximos desse valor, reforçando a reprodutibilidade desses métodos.

Embora, neste estudo, fosse pequena a amostragem estudada, a velocidade de regeneração do epitélio corneano foi comparável entre os 3 grupos, assim como as avaliações biomicroscópicas dos epitélios em regeneração. Da mesma forma, tem sido relatado velocidades similares de regeneração epitelial após debridamento epitelial por quei-

madura química por NaOH, heptanol ou vapor de iodo ou por debridamento mecânico³.

A opção pela desepitelização química seguida de complementação com bisturi, pareceu-nos tecnicamente mais fácil de realizar do que a desepitelização apenas com o bisturi, porque o álcool torna o epitélio edematoso e frouxo facilitando a sua remoção integral. No entanto, torna-se imperativo um estudo com maior casuística, com seguimento a longo prazo dos animais e com controle histopatológico para afastar lesão da membrana basal do epitélio.

SUMMARY

*The authors evaluated the responses of rabbit corneas to three types of superficial trauma: chemical deepitheliazation, epithelial scraping and the association of both.
Chemical deepitheliazation*

produced different and smaller initial area denuded of epithelium than other methods (the initial area between them was compared). The different experiments have not influenced the velocity of corneal epithelium regeneration.

BIBLIOGRAFIA

- 1 HIRST, L. W.; KENYON, K. R.; FOGLE, J. A.; HANNINEN, L.; STARK, W. J. - Comparative studies of corneal surface injury in the monkey and rabbit. *Arch. Ophthalmol.*, 99: 1066-73, 1981.
- 2 GUIMARÃES, O. - Um método de medida da velocidade de regeneração do epitélio corneano no coelho. *Rev. Bras. Oftalmol.*, 50: 40-6, 1991.
- 3 ORMEROD, D.; GARS, A.; REDDY, C. V.; GOMES, S. A.; ABELSON, M. B.; KENYON, K. R. - Dynamics of corneal epithelial healing after an alkali burn. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.*, 30: 1784-93, 1989.
- 4 BRIK, D.; RAMOS, A. R. B.; COSTA, W. O. - Efeito da aplicação da membrana interna da casca do ovo na cicatrização de feridas superficiais corneanas do coelho. *Rev. Bras. Oftalmol.*, 51: 303-9, 1992.

XXVII INTERNATIONAL CONGRESS OF OPHTHALMOLOGY

June 26-30, 1994 - Toronto, Ontário, Canadá

O Conselho Brasileiro de Oftalmologia, representante do Brasil junto ao INTERNATIONAL CONGRESS OF OPHTHALMOLOGY, vem convidar a todos para participarem do referido Congresso.

MAIORES INFORMAÇÕES PODEM SER OBTIDAS NO CBO OU:

ICO Secretariat,
275 Bay Street,
Ottawa, Canada K1R-5Z5
Tel: (613) 232-8288 - Fax: (613) 236-2727