

## Avaliação da cicatrização de feridas em dorso de ratos tratados com mitomicina C tópica e posterior reforço com injetável

Fernando de Andrade Quintanilha Ribeiro<sup>1</sup>,  
Janaína de Pádua Borges<sup>2</sup>, Lusiele Guaraldo<sup>3</sup>,  
Maria Regina Vianna<sup>4</sup>

## Study of wound healing in rats treated with topical and injected mitomycin-C

Palavras-chave: cicatrização de feridas, injetável, mitomicina C, ratos.  
Keywords: wound healing, topical, mitomycin-C, rats.

### Resumo / Summary

**E**studo experimental em animais. A mitomicina C vem sendo usada como inibidor de fibroblastos, acarretando, com isso, diminuição do processo cicatricial em feridas cirúrgicas. **Objetivo:** Este trabalho visa avaliar o uso de Mitomicina C para diminuir o processo cicatricial, através de seu uso tópico com reforços posteriores injetáveis. **Material e Métodos:** Foi usado um modelo de feridas em dorso de ratos, com retirada circular da pele e cicatrização por segunda intenção. Foram usados 18 ratos, divididos em três grupos: controle; com uso tópico; e com reforço de mitomicina C injetável, mensalmente e por 2 meses. Após 3 meses os animais foram sacrificados e as cicatrizes retiradas cirurgicamente e submetidas a estudo histológico. **Resultados:** Notou-se sob vários critérios que a cicatrização com o uso tópico é menos intensa, mas ao se usar o reforço injetável os parâmetros voltam a ser comparados ao do grupo controle. **Discussão:** Acreditamos que a administração injetável de mitomicina C nas cicatrizes, pela sua elevada característica tóxica, acarreta destruição tecidual e neoformação cicatricial. **Conclusões:** A mitomicina C diminui o processo cicatricial quando usada topicamente, mas acarreta aumento da cicatrização quando nestas feridas são feitos reforços injetáveis.

**E**xperimental study in animals. Introduction: Mitomycin C has been used as a fibroblasts inhibitor, thus reducing the scarring process in surgical wounds. **Aim:** This paper aims at assessing the use of Mitomycin C to reduce the scarring process through its topical use and later injected reinforcements. **Materials and Methods:** We used a model of a creating a wound in the dorsum of rats, removing a circular piece of skin and letting it heal by itself. We used 18 rats, divided in three groups. The first group - Control, the second with topical use, and a third group with injected mitomycin C reinforcement, monthly for 2 months. After 3 months the animals were slaughtered and the scars were surgically removed and sent for histology study. **Results:** We noticed, under different criteria, that healing with topical mitomycin is less intense; however, when it was injected, the parameters were again comparable to those from the control group. **Discussion:** We believe that injected mitomycin C in the scar, since it is highly toxic, it destroys tissue and brings about scar neoformation. **Conclusions:** Mitomycin C reduces the scarring process when used topically; however, it increases scar tissue formation when injected in these wounds.

<sup>1</sup> Prof. Adjunto do Departamento de Otorrinolaringologia da Faculdade de Ciências Médicas da Santa Casa de São Paulo.

<sup>2</sup> Mestrado pelo Dep. de Farmacologia da USP, Farmacêutica da técnica cirúrgica da Faculdade de Ciências Médicas da Santa Casa de São Paulo.

<sup>3</sup> Prof. Adjunto do Departamento de Ciências Fisiológicas da Faculdade de Ciências Médicas da Santa Casa de São Paulo.

<sup>4</sup> Prof. Dra. pela USP. Anatomopatologista do Hospital Alemão Oswaldo Cruz.

Departamento de ORL da Faculdade de Ciências Médicas da Santa Casa de São Paulo.

Endereço para correspondência: Rua Itapeva 500 10B Bela Vista São Paulo SP 01332-000.

Este artigo foi submetido no SGP (Sistema de Gestão de Publicações) da RBORL em 13 de janeiro de 2007. Cod. 3597.

Artigo aceito em 4 de agosto de 2007.

## INTRODUÇÃO

A Mitomicina C é amplamente usada como quimioterápico<sup>1</sup>, mas ultimamente, e cada vez mais, sua característica como inibidora de fibroblastos<sup>2</sup> a faz ser usada para conter o processo cicatricial, principalmente em cirurgias onde seqüelas como estenoses ou aderências podem ocorrer. Muitos trabalhos na literatura mostram este efeito em cirurgias, vários deles dentro da área da otorrinolaringologia<sup>3-7</sup>. Trabalhos em modelos animais também têm sido feitos<sup>8,9</sup>, mas um consenso a este respeito ainda não foi proposta e há evidências contraditórias quanto a sua real eficácia. Como há trabalhos demonstrando que o uso apenas tópico da mitomicina C pode não surtir os efeitos esperados<sup>10</sup>, foi proposto o uso injetável desta droga para fazer um reforço seqüencial nas cicatrizes e com isso diminuir ainda mais a fibrose cirúrgica<sup>11-13</sup>.

## OBJETIVO

Este trabalho visa avaliar, em modelo de feridas em dorso de ratos, o efeito comparativo entre o uso apenas tópico e o com reforço mensal injetável.

## MATERIAL E MÉTODOS

Este trabalho foi aprovado pela comissão de ética em pesquisa animal da instituição, protocolo nº 10 de 14/05/2002. Foram utilizados 18 ratos adultos machos jovens, todos da linhagem Wistar, com pesos entre 355 e 400g, que foram acomodados em gaiolas individuais no biotério da Unidade de Técnica Cirúrgica da Instituição. Estes ratos foram anestesiados com Quetamina (Francotar®) 10ml na concentração de 100mg/ml na dose de 0,5 ml/rato e Xilasina (Rompun®) 10ml na concentração de 20mg/ml na dose de 0,1ml/rato. Sob anestesia geral foram feitas, em seus dorsos, feridas circulares idênticas de 2cm de diâmetro. Os 18 ratos foram numerados de 1 a 18 e divididos em três grupos de 6. No grupo controle as feridas foram tratadas topicamente com gaze embebida em soro fisiológico por 5 minutos. Nos dois outros grupos foram colocadas em suas feridas gazes embebidas em 1ml de mitomicina C na concentração de 0,5ml/mg por 5 minutos e depois lavadas com 10ml de soro fisiológico. No grupo de número 3, a cada 30 dias, e por duas vezes, foi injetada na cicatriz uma solução de mitomicina C na concentração de 0,01mg/ml. O mesmo volume de soro fisiológico foi injetado como controle nos outros dois grupos. A concentração tópica foi usada baseando-se no que usualmente é relatado na literatura<sup>10,13</sup>. A escolha da concentração injetada foi baseada em trabalho anterior onde a mesma foi a única que não apresentou necrose tecidual no dorso dos ratos<sup>11</sup>. Houve perda de dois ratos do grupo controle no ato anestésico. Os ratos foram sacrificados após 90 dias (KCl 19,1% intracardíaco, após

anestesia geral), suas cicatrizes retiradas cirurgicamente e encaminhadas para exame histológico. As peças foram renumeradas aleatoriamente, sem o conhecimento do anatomopatologista que as examinou, emblocadas, cortadas e coradas com hematoxilina-eosina. As lâminas foram avaliadas sobre o grau de fibrose, proliferação vascular, número de fibroblastos e de fibrócitos.

## RESULTADOS

O material foi observado e cada parâmetro recebeu o grau de +, ++ ou +++, de acordo com a intensidade avaliada. Estes resultados são observados no Quadro 1.

ratos	Fibrose	Proliferação vascular	fifroblasto	fibrócito	
1	+	+++	+++	+	Controle
2	++	++	+++	++	
3	+++	+	+	+++	
4	++	++	++	+	
5	+	+++	+++	+	Tópico
6	+	+++	+++	++	
7	+	+++	+++	+	
8	+	+++	++	+	Tópico + injetável
9	+	+++	+++	++	
10	++	+	++	+++	
11	++	+	++	+++	
12	+	+++	+++	+	
13	+++	+	++	+++	
14	+++	++	+	+++	
15	+++	+	+	+++	
16	+++	+	+	+++	

**Quadro 1.** Avaliação nos ratos, em +, quanto aos parâmetros de fibrose, proliferação vascular, número de fibroblastos e número de fibrócitos.

## DISCUSSÃO

### Quanto ao grau de fibrose

Podemos caracterizar a intensidade de um tecido cicatricial pelo seu grau de fibrose constituída.

### Quanto à proliferação vascular

Esta se faz mais presente em tecidos cicatriciais menos definidos ou evoluídos.

### Quanto ao número de fibroblastos

O maior número de fibroblastos caracteriza um processo cicatricial menos maduro e menos constituído.

### Quanto ao número de fibrócitos

Seu maior número caracteriza uma cicatriz mais antiga e intensa.

Como podemos notar, o grupo 2, referente ao uso apenas tópico da mitomicina C é o que tem um quadro cicatricial menos intenso e mais jovem. O grupo 3, tópico mais injetável, que deveria ser ainda menos intenso, pois houve o reforço a cada 30 dias de mitomicina C injetável, se mostra com grau de cicatrização mais intensa. Isto talvez se deva às características altamente tóxicas e necrosantes da mitomicina C. Assim, a cada 30 dias uma nova agressão se fazia no tecido em cicatrização, o que retomava o processo. Talvez a concentração de 0,01ml/mg, mesmo muito baixa, possa ser diminuída, com resultados melhores. O fator mecânico da injeção foi descartado, pois os outros grupos também foram injetados na mesma quantidade e pelas mesmas vezes, com soro fisiológico.

Além da constatação visual tentamos uma avaliação estatística, mas o n se mostrou pequeno para tanto. Assim consideramos, também, uma avaliação por escores de +. Para cada rato avaliado somamos ou diminuimos as cruzes dependendo do parâmetro avaliado quanto ao grau de cicatrização. Demos sinais (+) para fibrose e fibrócito e (-) para proliferação vascular e fibroblasto. Assim, os ratos tiveram os seguintes dados:

- 1: +1-3-3+1 = - 4
- 2: +2-2-3+2 = -1
- 3: +3-1-1+3 = + 4
- 4: +2-2-2+1 = - 1
- 5: +1-3-3+1 = - 4
- 6: +1-3-3+2 = - 3
- 7: +1-3-3+1 = - 4
- 8: +1-3-2+1 = - 3
- 9: +1-3-3+2 = - 3
- 10: +2-1-1+3 = + 3
- 11: +2-1-2+3 = + 2
- 12: +1-3-3+1 = - 4
- 13: +3-1-2+3 = + 3
- 14: +3-2-1+3 = + 3
- 15: +3-1-1+3 = + 4
- 16: +3-1-1+3 = + 4

Somando os escores dos ratos do número 1 ao 4 (controle) obtivemos-2

Somando os escores dos ratos do número 5 ao 10 (Tópico) obtivemos-14

Somando os escores dos ratos do numero 11 ao 16 (Tópico+injetável)+12

Mesmo retirando o resultado mais discrepante de cada grupo (número 3 no controle, 10 no tópico e 12 no tópico +injetável), obtivemos os resultados:

- Controle - 6
- Tópico- 17
- Tópico+injetável+ 16

Assim, considerando que a cicatrização possa ser avaliada como mais intensa quanto ao grau de fibrose e

número de fibrócitos (+) e menos intensa quanto ao grau vascularização e número de fibroblastos (-), notamos que após 90 dias, e comparativamente, o grupo de uso apenas tópico da Mitomicina C tem um grau de cicatrização menor que o controle, mas o grupo de uso tópico mais injetável tem um grau de cicatrização muito maior.

Devemos observar que o grande número de fibroblastos e de proliferação vascular no grupo de uso tópico lhe confere a característica de cicatrização mais frouxa ou delicada neste momento (90 dias), mas se faz necessário estudo a prazo ainda maior para averiguar se estas características perduram.

## CONCLUSÕES

A mitomicina C se mostrou, após um prazo de 90 dias, um fator de controle do processo cicatricial mais eficiente se usada apenas topicamente. Quando usados 2 reforços injetáveis, 1 a cada 30 dias a cicatrização se tornou mais intensa que no grupo controle.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Bradner WT. Mitomycin C: a clinical update. *Cancer Treat Rev* 2001; 27(1):35-50.
2. Hu D, Sires BS, Tong DC, Royack GA, Oda D. Effect of brief exposure to mitomycin C on cultured human nasal mucosa fibroblasts: *Ophthalmol Plast Reconstr Surg* 2000; 16(2):119-25.
3. Ingrams DR, Volk MS, Biesman BS, Pankratov MM, Shapshay SM. Sinus surgery: does mitomycin-C reduce stenosis? *Laryngoscope* 1998;108:883-6.
4. Spector J E, Werkhaven J A, Spector N C, Huang S, Page RN, Baranowski B, Luther M, McGehee B, Reinisch L. Preservation of function and histologic appearance in the injured glottis with topical mitomycin C. *Laryngoscope* 1999;109:1125-9.
5. Jassir D, Buchman CA, Gomez-Marin O. Safety and efficacy of topical mitomycin C in myringotomy patency. *Otolaryngol Head Neck Surg* 2001; 124(4):368-73.
6. Estrem SA, Batra PS. Preventing myringotomy closure with topical Mitomycin C in rats. *Otolaryngol Head Neck Surg* 1999;120(6):794-8.
7. Yazawa Y, Suzuki M, Kitano H, Kitajima K. Intraoperative mitomycin-C in endolymphatic sac surgery for Ménière's disease: a pilot study: *ORL J Otorhinolaryngol Relat Spec* 1999;61:188-94.
8. Sampaio MW, José NK, Alves MR. Efeitos do uso tópico da Mitomicina C em olhos de ratas. *Arq Bras Oftalmol* 1995;58:56-9.
9. Mattar DB, Alves MR, Silva MHT, José NK. Estudo da influência da aplicação subconjuntival da Mitomicina C na reparação de defeito epitelial corneano, em coelhas. *Arq Bras Oftalmol* 1995;58:65-7.
10. Ribeiro FAQ, Guaraldo L, Borges JP, Zacchi FFS, Eckley CA. Clinical and Histological Healing of Surgical Wounds Treated with Mitomycin C. *Laryngoscope* 2004;114:148-52.
11. Ribeiro FAQ, Borges JP, Zacchi FFS, Guaraldo L. O Comportamento clínico e histológico da pele do rato submetida ao uso tópico e injetável de Mitomicina C. *Rev Bras Otorrinolaringol* 2003; 69(2):151-8.
12. Ferguson B, Gray SD, Thibeault S. Time and dose effects of mitomycin C on extracellular matrix fibroblasts and proteins. *Laryngoscope* 2005; 115(1):110-5.
13. Gray SD, Tritle N, Li W. The effect of mitomycin on extracellular matrix proteins in a rat wound model. *Laryngoscope* 2003 ;113(2):237-42.