

Estudo da influência da aplicação subconjuntival da mitomicina C na reparação de defeito epitelial corneano, em coelhas⁺

Effects of the subconjunctival application of mitomycin C on superficial epithelial corneal healing in rabbits

Décio de Brong Mattar⁽¹⁾
Milton Ruiz Alves⁽¹⁾
Mônica Helena T. da Silva⁽²⁾
Newton Kara José⁽³⁾

RESUMO

Esta investigação compara a influência da aplicação subconjuntival da mitomicina C na concentração de 0,04% com controles, na reparação de defeito epitelial corneano, em coelhas.

Nas condições deste estudo, a aplicação subconjuntival, por 5 minutos, da mitomicina C a 0,04% não influenciou na cicatrização do defeito epitelial corneano.

Palavras-chave: Mitomicina C. Córnea; Lesão epitelial; Cicatrização; Coelhas.

INTRODUÇÃO

O uso de mitomicina C em oftalmologia tem aumentado significativamente em função dos resultados favoráveis demonstrados tanto na prevenção de recidivas pós-operatórias do pterígio¹⁻⁴ como na manutenção de fístulas antiglaucomatosas funcionantes^{5,6} e, mais recentemente, como moduladores em cirurgias refrativas⁷. A melhora dos resultados tem sido creditada ao efeito antiproliferativo dessa droga nas células com maior taxa de mitose por inibição da síntese de DNA, de RNA e de proteínas⁸⁻¹¹. A ocorrência de complicações decorrentes do seu uso tópico como defeitos epiteliais corneanos, irites severas, necrose de córnea e de esclera e endoftalmites, enfatizam a necessidade de estudos voltados para a avaliação da segurança no seu uso oftalmológico¹². O aumento do sucesso das cirurgias fistulizantes e os estudos experimentais demonstrando que o uso intra-operatório da mitomicina C como terapia

adjuvante à cirurgia antiglaucomatosa ocorre por ação seletiva na inibição da proliferação fibroblástica restrita ao local da sua aplicação^{8,9,11} têm incentivado essa forma de uso, também, nas cirurgias de ressecção do pterígio^{13,14}. Na literatura, raros são os estudos clínicos realizados para avaliar a eficácia e a segurança do uso intra-operatório da mitomicina C na cirurgia do pterígio^{14,15}.

O presente estudo avalia a ação do uso subconjuntival da mitomicina C, na reparação de defeito epitelial corneano, em coelhas.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizadas 7 coelhas albinas da raça Nova Zelândia, pesando entre 1700 e 2100 g. Os animais foram anestesiados com injeção intra-muscular 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. Sob anestesia geral, instilou-se em cada olho, 1 gota de colírio de te-

⁺ Trabalho realizado no Biotério do Serviço de Radiologia 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⁾ Médica Adida da Clínica Oftalmológica.

⁽³⁾ Professor Adjunto da Disciplina de Oftalmologia da FMUSP e Professor Titular da Disciplina de Oftalmologia da UNICAMP.

Endereço para correspondência: Dr. Décio de Brong Mattar - Rua Itapeva, 490 conj. 92 - CEP 01332-000 - S. Paulo - Fone (011) 289-2451.

tracaína a 0,5%. Na conjuntiva temporal realizou-se peritomia límbica de 10 mm de extensão, divulsionando-se os tecidos subconjuntivais. Na porção central da peritomia ressecou-se um retalho da conjuntiva, medindo cerca de 5 mm de extensão por 3 mm de largura. Em seguida, uma esponja de celulose, medindo 4 mm por 1 mm, cortada da Weck-Cel (Weck Research Triangle Park, N.C.), embebida com solução de cloreto de sódio a 0,9% para os olhos controles, e com mitomicina C a 0,04% para os olhos medicados, foi aplicada entre a esclera e a conjuntiva. A cada minuto, substituiu-se a esponja por outra nas mesmas condições, perfazendo-se 5 minutos de exposição dos tecidos às medicações. Ao final, essa área foi copiosamente irrigada com cerca de 100 ml de solução de cloreto de sódio a 0,9%. A seguir, demarcou-se com trépano de 7,75 mm, no centro da córnea, a área de epitélio a ser removida. Com o trépano em posição, uma zaragatoa embebida em álcool a 99,99% introduzida pelo seu orifício central, tocou o epitélio por 30 segundos. Retirado o trépano, a ablação epitelial foi complementada com bisturi lâmina 15, obtendo-se assim uma área desprovida de epitélio, central, redonda, uniforme e superficial.

A reparação da área de ablação epitelial foi acompanhada com fotografias obtidas com filtro azul e após a instilação de fluoresceína a 2%, nos tempos 0, 6 e 20 horas após e, a partir daí, a cada 12 horas até a cicatrização. As áreas sem epitélio delimitadas nas fotografias foram quantificadas com o auxílio de um analisador de imagem computadorizado. Para a avaliação da regeneração do epitélio corneano, a área inicial de remoção epitelial foi considerada igual a 100% e áreas percentuais sem epitélio foram calculadas nos tempos anteriormente referidos.

Após 12 horas da reparação do defeito epitelial, 4 coelhas foram sacrificadas com dose endovenosa letal de

pentobarbital (65 mg/kg de peso). As córneas desses animais foram removidas para estudo histopatológico através da coloração pelo método da hematoxilina-eosina e imuno-histoquímico pelo método da avidina-biotina-peroxidase-PCNA*¹⁶ (4 córneas de olhos medicados com mitomicina C a 0,04% e 4 córneas de olhos medicados com solução de cloreto de sódio 0,9%).

Para a análise estatística dos resultados foram empregados médias aritméticas, desvios-padrão, regressões lineares, Prova de Mann-Whitney e construção de figura com os valores das médias aritméticas.

RESULTADOS

A representação gráfica da curva de cicatrização (% de área sem epitélio pelo tempo) dos olhos controles e dos medicados com mitomicina a 0,04%, está na Figura 1. A cicatrização dos defeitos epiteliais ocorreu entre 56 e 68 horas.

Os valores médios e desvios-padrão dos coeficientes angulares calculados das curvas de cicatrização e os resultados entre os olhos controles e os medicados, pela Prova de Mann-Whitney, estão na Tabela 1.

O uso subconjuntival de mitomicina a 0,04%, em relação aos controles, não influenciou a reparação do defeito epitelial.

Os aspectos histopatológicos e

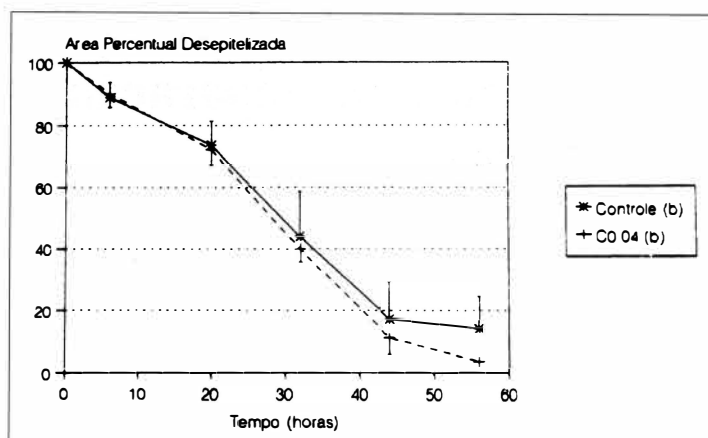


Figura 1 - Representação gráfica das variações de porcentagem de área desepitelizada obtidas dos valores médios dos olhos controles (cloreto de sódio 0,9%) e dos medicados (mitomicina C a 0,04%) na avaliação inicial e em diversas fases do tempo.

imuno-histoquímicos foram semelhantes nas córneas dos olhos controles e medicados com mitomicina C a 0,04%. No epitélio corneano contou-se de três a quatro camadas de células epiteliais, presença de atipia celular discreta e coloração pelo PCNA de 100% das células epiteliais basais e uma célula corada por campo de grande aumento (400X) nas camadas superiores (1 célula em proliferação para 100 células epiteliais basais). No estroma observou-se igualmente faixa estreita de homogeneização das fibras de colágeno e presença de infiltrado inflamatório linfomononuclear discreto no centro das córneas.

COMENTÁRIOS

Os resultados deste estudo mostram que o uso subconjuntival de mitomicina C a 0,04% não influenciou na reparação do defeito epitelial e não induziu a alterações histopatológicas ou imuno-histoquímicas na porção central da córnea, em coelhas. Estes achados reforçam o conhecimento de que a ação da droga fica restrita ao local de sua aplicação^{8,9,11}. A aplicação intraoperatória da droga pode ser tão eficaz quanto o uso na forma de colírio, na prevenção de recidivas pós-operatórias

* PCNA-Dako Corporation, Santa Barbara, CA, USA

Estudo da influência da aplicação subconjuntival da mitomicina C na reparação de defeito epitelial corneano, em coelhas.

TABELA 1

Valores médios (VM) e desvios padrão (dp) dos coeficientes angulares calculados das curvas de cicatrização, número de olhos (N), e os resultados da comparação entre os olhos controles e os medicados pela prova de Mann-Witney (U e p).

Tratamento	VM	± dp	N	Comparação
Cl. de sódio 0,9%	1,93	0,31	7	U = 21
Mitomicina 0,04%	1,99	0,10	7	p = 0,7104

do pterígio^{13,14}. Seu uso intra-operatório não influenciou na sensibilidade tátil corneana, no filme lacrimal e no epitélio córneo-conjuntival de olhos operados de pterígio¹⁵. Estes fatos apontam para o baixo potencial de toxicidade da droga, nesta forma de uso, apesar de ter efeito ionizante, cumulativo e sua ação permanecer por longo tempo após cessado o tratamento¹². Ao contrário do uso tópico pós-operatório, seu uso intra-operatório, como terapia adjuvante à cirurgia do pterígio, permite exposição menor e controlada do paciente à medicação.

Experimentos clínicos, são planejados, freqüentemente, com casuística suficiente apenas para determinar a eficácia de um tratamento. Desafortunadamente, tais amostras são comumente insuficientes para detectar complicações que ocorrem a taxas muito pequenas¹². Dessa forma o uso de antimetabólicos deve levar em conta as relações risco-benefício e custo-benefício que devem ser comparadas com as de outros procedimentos realizados sem o emprego dessas drogas. Para avaliar a segurança no uso da mitomicina C intra-operatório como adjuvante à cirurgia do pterígio, ainda são necessários estudos clínicos, multicêntricos, randomizados, com

casuística grande e seguimento de longo prazo.

SUMMARY

This study was carried out to evaluate the effects of the subconjunctival application of mitomycin C for 5 minutes on superficial epithelial corneal healing in rabbits. Mitomycin C in concentration 0.04 % has not influenced reepithelialization of corneal defects.

Key words: *Mitomycin C; Cornea; Epithelial injury; Healing; Rabbits.*

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. SINGH, G.; WILSON, M. R.; FOSTER, C. S. - Mitomycin eye drops as treatment for pterygium. *Ophthalmology*, **95**: 813-21, 1988.
2. SINGH, G.; WILSON, M. R.; FOSTER, C. S. - Long-term follow-up study of mitomycin eye drops as adjunctive treatment for pterygia and its comparison with conjunctival autograft transplantation. *Cornea*, **9**: 331-4, 1990.
3. ROSENTHAL, G.; SHOAHAM, A.; LIFSHTIZ, T.; BIEDNER, B.; YASSUR, Y. - The use of mitomycin in pterygium surgery. *Ann. Ophthalmol.*, **25**: 427-8, 1993.
4. CARDILLO, J. A.; KARA JOSÉ, N.; ALVES, M. R.; POTÉRIO, M. B.; COELHO, R. P.; AMBRÓSIO, L. E. - Instilação do colírio de mitomicina C no pós-operatório do pterígio primário. (Em publicação).

5. PALMER, S. S. - Mitomycin as adjunct chemotherapy with trabeculectomy. *Ophthalmology*, **98**: 317-21, 1991.
6. COSTA, V. P.; MOSTER, M. R.; WILSON, R. P.; SCHIMIDT, C. M.; GANDHAM, S.; SMITH, M. - Effects of topical mitomycin C on primary trabeculectomies and combined procedures. *Brit. J. Ophthalmol.*, **77**: 693-7, 1993.
7. TALAMO, J. H.; GOLLAMUDI, S.; GREEN, R.; DE LA CRUZ, Z.; FILATOV, V.; STARK, W. J. - Modulation of corneal wound healing after laser keratomileusis using topical mitomycin C and steroids. *Arch. Ophthalmol.*, **109**: 1141-6, 1991.
8. YAMAMOTO, T.; VARANI, J.; SOONG, H. K.; LICHTER, P. R. - Effects of 5-fluorouracil and mitomycin C on cultured rabbit subconjunctival fibroblasts. *Ophthalmology*, **97**: 1204-10, 1990.
9. JAMPEL, H. D. - Effect of brief exposure to mitomycin C on viability and proliferation of cultured human Tenon's capsule fibroblasts. *Ophthalmology*, **99**: 1471-6, 1992.
10. ANDO, H.; IDO, T.; KAWAI, Y.; YAMAMOTO, T.; KITAZAWA, Y. - Inhibition of corneal epithelial wound healing. *Ophthalmology*, **99**: 1809-14, 1992.
11. KHAW, P. T.; DOYLE, J. W.; SHERWOOD, M. B.; GRIERSON, I.; SCHULTZ, G.; MCGORRAY, S. - Prolonged localized tissue effects from 5-minute exposures to fluorouracil and mitomycin C. *Arch. Ophthalmol.*, **111**: 263-7, 1993.
12. SUGAR, A. - Who should receive mitomycin-C after pterygium surgery? *Ophthalmology*, **99**: 1645-6, 1992.
13. MARTINELLI NETO, G.; SOUTO, A. C.; FIGUEIREDO, R. S. - Mitomicina C como adjuvante à cirurgia do pterígio. *Arq. Bras. Oftal.*, **56**: 180, 1993.
14. CARDILLO, J. A.; ALVES, M. R.; TRANJAN NETO, A.; KARA JOSÉ, N.; CAMARGO, J. C. F.; SERPA, J.; AMBRÓSIO, L. E. - Eficácia da mitomicina C na prevenção de recidivas pós-operatórias do pterígio: aplicação subconjuntival intra-operatório versus uso tópico pós-operatório. (Em publicação).
15. CARDILLO, J. A.; ALVES, M. R.; TRANJAN NETO, A.; KARA JOSÉ, N.; POTÉRIO, M. B.; COELHO, R. P. - Estudo dos efeitos do uso intra-operatório da mitomicina C na sensibilidade tátil corneana, no filme lacrimal e no epitélio córneo-conjuntival de olhos operados de pterígio. (Em publicação).
16. CELIS, J. E.; BRAVO, R.; LARSEN, P. M.; FEY, S. J. - A nuclear protein whose level correlates directly with the proliferative state of normal as well transformed cells. *Leuk. Res.*, **8**: 143-57, 1984.