

# Reparo de feridas na língua de camundongos jovens e velhos

## *Healing of wounds in young and aged mice tongue mucosa.*

Dalva Maria Pereira Padilha \*

Júlio César Sanfelice\*\*

Pantelis Varvaki Rados\*\*\*

Francesca Bercini \*\*\*\*

Tais Webber Furlaneto de Azambuja \*\*\*\*\*

### RESUMO

O envelhecimento afeta vários mecanismos e estruturas biológicas. O presente trabalho estudou o reparo da mucosa da língua de camundongos de 2 e 17 meses de vida. As feridas experimentais foram produzidas na língua de 70 camundongos. Foram buscadas diferenças histológicas no processo cicatricial entre os camundongos jovens e velhos. Os resultados mostraram haver diferenças na cicatrização entre os grupos de jovens e velhos. Concluiu-se que a cicatrização se processa de igual modo independente da idade do indivíduo.

### UNITERMOS

Envelhecimento, reparo de feridas, mucosa bucal

### INTRODUÇÃO

O envelhecimento, a sua biologia e as modificações que tem associação ou são causadoras de alterações ao longo de seu curso, tem sido alvo de inúmeras investigações em todos os ramos biomédicos. A mucosa bucal, assim como outros órgãos e sistemas dos organismos vivos tem sido estudada a fim de elucidar possíveis alterações morfológicas ou funcionais ocasionadas pelo envelhecimento. O reparo da mucosa bucal é outro assunto pesquisado e abordado na literatura. O objetivo deste trabalho é descrever e comparar o processo de reparo de feridas produzidas experimentalmente no dorso da língua de camundongos jovens e velhos.

### REVISÃO DA LITERATURA

O reparo é um fenômeno complexo cuja seqüência culmina na neoformação dos tecidos que sofreram injúria, com a restituição da normalidade morfológica e funcional da região atingida.

O curso normal do reparo de feridas envolve uma resposta vascular e celular sendo classicamente dividida em 3 fases que mostram sobreposição: A inflamação, a proliferação e a maturação (Feedar, J. 1994).

Vários fatores podem afetar o curso

normal do reparo. O uso do álcool, fumo e esteróides, a diabetes e a má nutrição, entre outros, têm sido apontados como causadores de retardo ou imperfeições neste processo (Feedar, J., 1994; Prebeer, H, Linder, L., Bergstrom, J. 1995 e Stucki-McCormick, S., Santiago, P. 1996).

O envelhecimento também tem sido apontado como um dos fatores que alteram o processo de reparo (Ward-Booth, P. 1994; Feedar, J. 1994 e Miloro, M., McCormick, S. 1996).

Para Miloro, M.; McCormick, S. (1996), a seqüência normal do reparo está mantida nos indivíduos idosos, porém, observam-se alterações dependentes da idade na seqüência de eventos daquele. Ocorre uma diminuição na resposta inflamatória e proliferativa com um atraso na angiogênese, epitelização e remodelamento. Há diminuição na migração de fibroblastos e diminuição na síntese de colágeno.

O aspecto clínico da mucosa em indivíduos em envelhecimento, também evidencia alterações morfológicas e estruturais que, a tornam mais propícia ao trauma e injúria por seu adelgaçamento, ou demonstram *per se* a diminuição da capacidade de proliferação do epitélio de idosos, geralmente mais del-

gado e com papilas coriárias menos proeminentes (Drummond, J.; Newton, J. e Scott, J. 1994).

Outra característica constante no meio bucal de indivíduos mais velhos é a xerostomia associada com o uso de medicamentos capazes de produzir este efeito colateral. Esta xerostomia pode ser relacionada com alteração e atraso no reparo de feridas da mucosa bucal em idosos, pois segundo Bodner, L., Dayan, D. e Oberman, M. (1992) em experimento realizado em ratos que sofreram remoção das glândulas submandibulares e sublinguais, houve atraso na cicatrização de úlceras realizadas no palato destes animais.

SHIP, J.; LIN, B. e JIBA, N. (1998) discutem a validade do envelhecimento provocar alterações na aparência ou função da mucosa bucal. Para estes autores, os aspectos imunológicos da mucosa bucal sofrem alterações relacionadas com a idade, mas dão maior importância às alterações estruturais e imunológicas causadas por trauma, doenças sistêmicas ou uso de medicamentos e uma nutrição deficiente.

### MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizados nesta pesquisa 70 camundongos (*Mus domesticus*

\* Professora Adjunta da Faculdade de Odontologia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul - Doutora em Estomatologia

\*\* Cirurgião Dentista, Aluno do curso de Mestrado em Patologia Bucal da Faculdade de Odontologia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul

\*\*\* Professor Adjunto da Faculdade de Odontologia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul - Doutor em Patologia Bucal

\*\*\*\* Professora Assistente da Faculdade de Odontologia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul - Mestre em Cirurgia e Traumatologia Bucocomaxilofacial

\*\*\*\*\* Professora Adjunta da Faculdade de Odontologia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul - Mestre em Educação

*domesticus*) fêmeas, da linhagem CF1 - 35 adultos jovens (60 dias de vida) e 35 velhos (17 meses de vida) - divididos em 07 grupos (com subgrupos J representando os jovens e V representando os velhos) de 05 camundongos cada.

Sob anestesia com éter, foi produzida uma excisão circular no dorso sobre a linha média da língua e a aproximadamente 03 mm da ponta da língua utilizando-se um "Punch" de biópsia n.º 3 (03 mm de diâmetro) A manobra com o "punch", aprofundava o corte em 01 mm e após era efetuada a remoção do epitélio com bisturi montado com uma lâmina n.º 12. As operações foram realizadas sob condições de limpeza, mas não assépticas. O instrumental utilizado foi limpo entre cada procedimento com algodão embebido em água destilada. Os camundongos foram alimentados e consumiram água *ad libitum*, durante todo o período do experimento. Os camundongos foram pesados no momento da cirurgia e quando sacrificados.

Os camundongos foram sacrificados no período de 1 hora, 24 horas, 03 dias, 05 dias, 07 dias, 10 dias e 14 dias, contados a partir da realização da ferida. Após o sacrifício dos animais, as línguas foram removidas e fixadas em formalina a 10% por um período não inferior a 24 horas.

Os espécimes eram seccionados, no sentido longitudinal (sentido de inclusão em parafina), fazendo-se o corte no centro da úlcera. O material seguiu procedimento padrão de inclusão em parafina e confecção de lâminas coradas pela hematoxilina e eosina.

Os cortes foram observados sob microscopia óptica, buscando-se identificar as alterações teciduais derivadas do processo cicatricial entre os camundongos jovens e velhos, em bases morfológicas e qualitativas, observando-se os seguintes critérios:

- **Falha epitelial**, caracterizada pela presença de solução de continuidade no epitélio, ou seja, ainda se vê a zona da úlcera;

- **Infiltrado inflamatório**, presente ou ausente, agudo - caracterizado pela presença de hiperemia, exsudato intenso e infiltrado de granulócitos neutrófilos próximo aos vasos sanguíneos - ou crônico, caracterizado pela presença de infiltrado de linfócitos, plasmócitos e macrófagos, fibroplasia e angioplasia.

- **Zona de fibrose**, caracterizada pela presença de fibroplasia no tecido conjuntivo e relacionada à área da ferida;

- **Concavidade superficial**, caracterizada pela presença da depressão no

epitélio decorrente da úlcera, mas já tendo havido a epitelização da região, sem o completo amadurecimento do epitélio;

- **Descontinuidade das papilas filiformes**, caracterizada pela ausência das papilas filiformes neoformadas na região da ferida.

## RESULTADOS

Durante a avaliação microscópica o material foi analisado buscando-se verificar a presença ou a ausência dos itens citados no Material e Métodos.

**Grupo 1** - sacrifício em 01 hora - tanto os animais jovens como os animais velhos tiveram comportamento semelhante quanto aos itens avaliados. Observou-se ausência de epitélio, discreto infiltrado inflamatório agudo - caracterizado pela presença de hiperemia, exsudato intenso e infiltrado de granulócitos neutrófilos próximo aos vasos sanguíneos - sinais de degeneração no tecido conjuntivo, concavidade superficial e descontinuidade das papilas filiformes.

**Grupo 2** - sacrifício em 24 horas - neste período experimental notou-se nas línguas dos animais jovens a ulceração com típico processo inflamatório crônico - caracterizado pela presença de infiltrado de linfócitos, plasmócitos e macrófagos, fibroplasia e angioplasia - além de grande número de neutrófilos e presença de exsudato fibrinoso. Foi possível observar alteração da camada basal de células do epitélio nos limites da úlcera - as células se encontram desorganizadas, não mantém o alinhamento da camada basal dando a impressão de terem sido jogadas para a camada espinhosa do epitélio. Nos animais de 18 meses (subgrupo V) observa-se processo inflamatório com características agudas, representadas por infiltrado de granulócitos neutrófilos, intenso exsudato e hiperemia.

**Grupo 3** - sacrifício em 03 dias - nos dois subgrupos (J e V) a úlcera ainda é visível mas praticamente epitelizada. Nos animais de 18 meses (subgrupo V) observa-se o início da zona de fibrose. O infiltrado inflamatório se apresenta já com características de um infiltrado crônico.

**No Grupo 4** - sacrifício em 05 dias - Nos animais jovens observa-se epitélio hiperplásico, hiperemia, início da reconstituição da camada

muscular sub epitelial e a presença de um infiltrado inflamatório nitidamente crônico, porém escasso. Nos animais velhos, observa-se epitélio com acantose. A regeneração muscular ainda não é visualizada. A regeneração epitelial está completa podendo-se já observar todas as camadas epiteliais, embora ainda com uma espessura não igual às áreas adjacentes à área da ferida. O que se vê bem estruturado na região da ferida são as papilas conjuntivas. O infiltrado inflamatório apresenta-se com aspecto crônico.

**No Grupo 5** - sacrifício em 07 dias - Nos espécimes provindos dos animais jovens observa-se as mesmas características do tempo experimental anterior (Grupo de 05 dias), ou seja, epitélio hiperplásico, hiperemia, início da formação da camada muscular sub epitelial e a presença de um infiltrado inflamatório nitidamente crônico. No grupo de animais de 18 meses (subgrupo V), nota-se fibrose sub epitelial e epitélio acantótico. Na maioria (4/5) dos espécimes jovens e velhos a maturação final do epitélio não estava completada, pois não se via a formação das papilas filiformes.

**No Grupo 6** - sacrifício em 10 dias - Em ambos os subgrupos observa-se epitélio acantótico e fibrose. No subgrupo jovens há ausência de processo inflamatório, enquanto no subgrupo velhos vê-se ainda inflamação na maioria dos espécimes.

**No Grupo 7** - sacrifício em 14 dias - No subgrupo dos animais jovens observam-se zonas de fibrose. Em alguns espécimes do subgrupo velhos (subgrupo b) observa-se ausência de papilas coriais no epitélio e inflamação residual. Em outros espécimes do subgrupo V (animais velhos) porém é possível observar zonas de fibrose e a reconstituição do epitélio já esta completa com aparecimento das papilas filiformes.

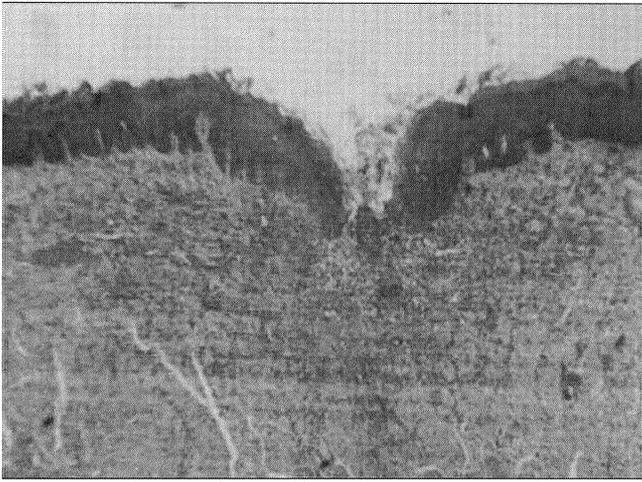


Figura 1 - Fotomicrografia da área da ferida em mucosa lingual de camundongo jovem, 03 dias.

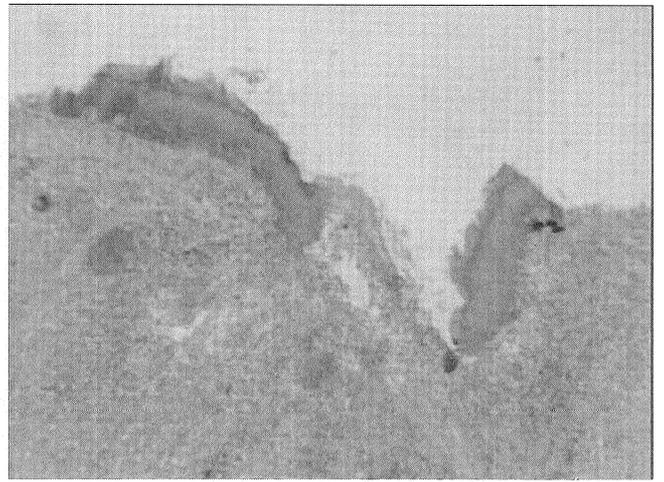


Figura 2 - Fotomicrografia da área da ferida em mucosa lingual de camundongos velhos, 03 dias.

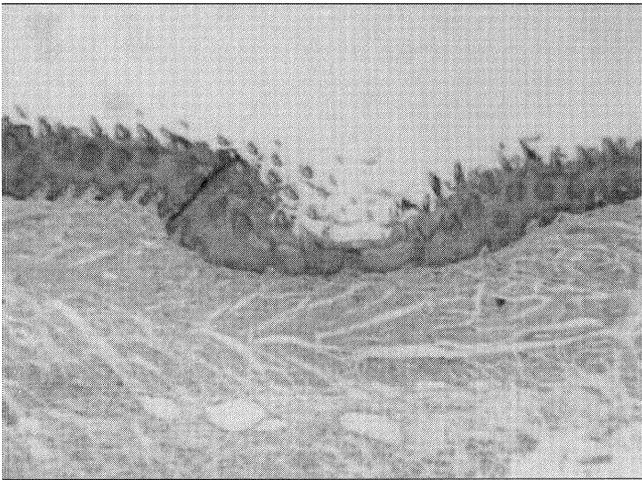


Figura 3 - Fotomicrografia da área da ferida em mucosa lingual de camundongos jovens, 07 dias.

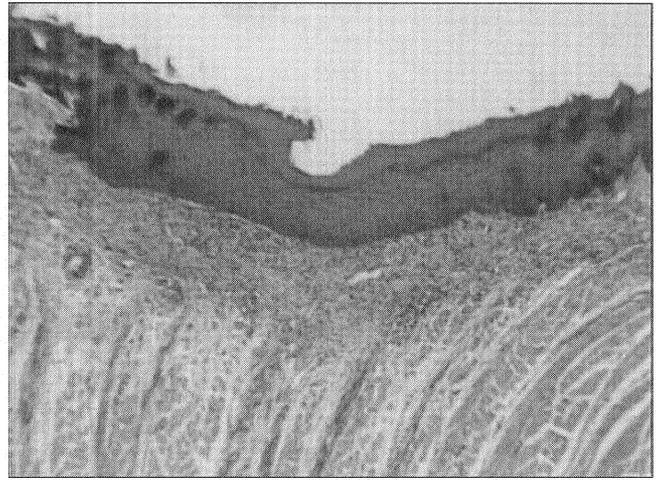


Figura 4 - Fotomicrografia da área da ferida em mucosa lingual de camundongos velhos, 07 dias.

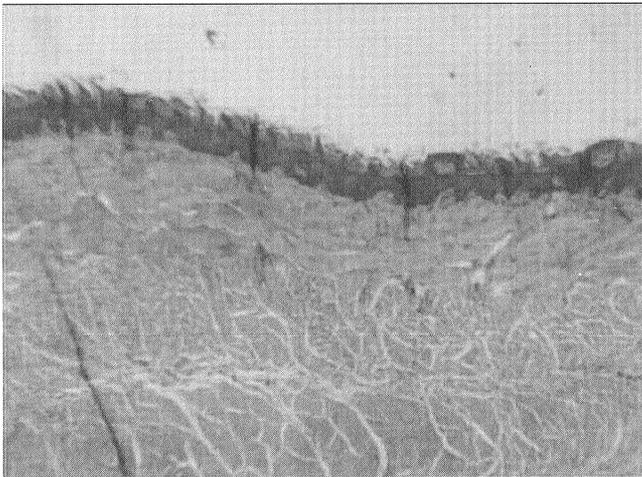


Figura 5 - Fotomicrografia da área da ferida em mucosa lingual de camundongos jovens, 14 dias.

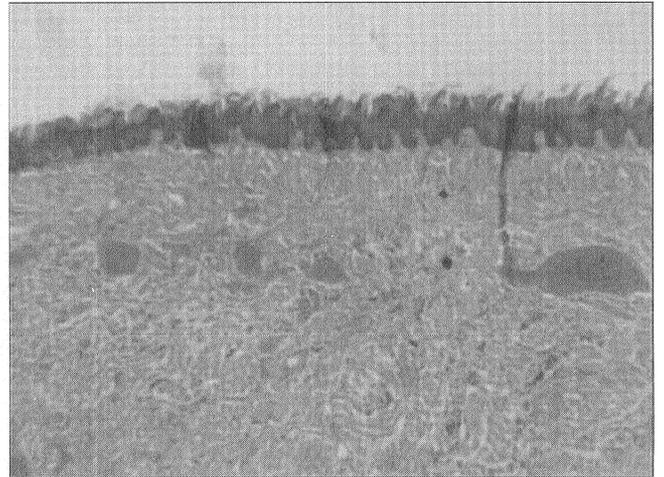


Figura 6 - Fotomicrografia da área da ferida em mucosa lingual de camundongos velhos, 14 dias.

## DISCUSSÃO

Este estudo buscou comparar o ritmo de reparo de feridas em línguas de camundongos de 2 e 18 meses. Neste experimento foi possível observar que a seqüência de eventos do reparo processou-se de igual forma em ambos os grupos. Como este mecanismo é complexo, diferenças entre indivíduos foram observadas. Porém, a seqüência de reparo descrita por FEEDAR, J. (1994) foi observada neste trabalho independentemente do fator idade.

Em algumas fases deste experimento o fator idade parece ter interferido no processo quando alguns espécimes provenientes do grupo de 18 meses se apresentaram com algum atraso em relação aos jovens, o que confirma as observações de WARD-BOOTH, P. (1994), FEEDAR, J. (1994) e MILORO, M., McCORMICK, S. (1996). Estes autores apontam o envelhecimento como um dos fatores que alteram o processo de reparo. Entretanto o envelhecimento não foi capaz de provocar mudanças morfológicas, principalmente quando considerado o processo final de reparo, pois ao fim de 14 dias tanto no grupo de animais jovens quanto no grupo de animais velhos o reparo estava praticamente completo.

Os achados deste estudo são confirmados por MILORO, M. e McCORMICK, S. (1996), ao afirmarem que a seqüência normal do reparo é mantida nos indivíduos idosos. As alterações dependentes da idade, citadas por estes autores, também foram observadas neste estudo. A diminuição da resposta inflamatória nos animais mais velhos, neste estudo, pode ser observada pelo atraso no início da resposta inflamatória crônica que, nos animais jovens pôde ser observada já nas primeiras 24 horas. Os animais velhos, nesta etapa, apresentavam processo inflamatório em fase aguda na zona da úlcera. Além disso, nos animais velhos do grupo sacrificado aos 10 dias ainda era possível observar infiltrado inflamatório crônico na maioria dos espécimes. O remodelamento entretanto iniciou-se mais precocemente no grupo mais jovem onde aos 5 dias, observou-se o início da formação da camada muscular subepitelial. Aos 14 dias em alguns espécimes do grupo dos animais velhos observa-se ausência de zonas de fibrose, achado que concorda com a descrição de MILORO, M. e McCORMICK, S. (1996) que apontam nos indivíduos velhos uma diminuição na síntese de colágeno.

MILORO, M. e McCORMICK, S. (1996) citam ainda uma diferença no processo de epitelização e remodelamento, em nosso estudo entretanto, não observamos esta diferença de epitelização pois a falha epitelial estava recuperada em todos os espécimes, jovens e velhos, aos 5 dias.

As observações descritas por

DRUMMOND, J.; NEWTON, J. e SCOTT, J.. (1994) em relação ao tecido epitelial, relatam um padrão mais delgado e papilas coriáceas menos proeminentes no epitélio do indivíduo velho. Estes achados não foram observados nos animais velhos utilizados neste experimento. Encontramos o epitélio da mucosa da língua semelhante nos animais jovens e velhos, tanto na zona experimental como nas zonas adjacentes.

Os achados deste experimento confirmam as observações de SHIP, J., LIN, B. e JIBA, N. (1998) quando questionam a possibilidade do envelhecimento causar alterações na aparência ou função da mucosa bucal. Em nosso estudo o reparo não apresentou alterações significativas nem diferenças morfológicas foram observadas entre os dois grupos de animais estudados. Para estes autores a cicatrização pode estar alterada por efeitos concomitantes à idade como doenças, nutrição deficiente ou uso de medicamentos. Estas observações justificam os achados similares deste estudo onde foram utilizados animais saudáveis e com padronização de alimentação e condições ambientais para ambos os grupos.

## CONCLUSÕES

Com base nos resultados obtidos e através da metodologia empregada foi possível concluir:

- O reparo ocorre de maneira similar em feridas na mucosa da língua em animais jovens e velhos.
- Foram observadas diferenças individuais e na velocidade de ocorrência dos eventos examinados nos grupos experimentais, principalmente na ocorrência de infiltrado inflamatório e fibrose.
- Nos momentos finais do experimento os achados morfológicos se equivalem nos dois grupos etários.

## SUMMARY

Ageing affects several biological structures and mechanisms. The present work studied wound healing in 2 months old and 17 months old mice. Experimental wound in the tongue of 70 mice were performed. Histological differences or similarities in healing of young and aged mice were search. The results have shown that there were no significant differences on wound healing between young and aged groups. It was concluded that wound healing processes at the same rate independently of group age.

## KEYWORDS

Aging, wound healing, oral mucosa

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. BODNER, L; DAYAN, D; OBERMAN, M; Healing of experimental wounds

in sialadenectomized rat *J. Clin. Periodontol., Copenhagen*, v. 19, p. 345-347, 1992

2. DRUMMOND, J.; NEWTON, J.; SCOTT, J. OROFACIAL AGEING In: BARNES, I., WALLS, A. *Gerodontology*. Oxford: Wright Oxford, 1994. 212p.
3. FEEDAR, J. The wound healing model in clinical applications. *Topics in Geriatric rehabilitation, Rehabilitation, Gaithersburg*, v.9 n.4, p.8-16, 1994.
4. MILORO, M; McCORMICK, S. Wound healing and Immunity *Oral Maxillofac. Surg. Clin. North. Am.*, Philadelphia, v.8, n.2, p.159-170, 1996.
5. PREBEER, H; LINDER, L; BERGSTROM, J; Periodontal healing and periopathogenic microflora in smokers and non-smokers. *J. Clin. Periodontol., Copenhagen*, v. 22, p.946-952, 1995.
6. SHIP, J; LIN, B; JIBA, N. GERIATRIC DENTISTRY. In: DAYAI, P. *Textbook of oral medicine*. Nova Delhi: Jaypee Brothers, 1998. p.147.
7. STUCKI-McCORMICK, S; SANTIAGO, P; The metabolic and physiologic aspects of wound healing *Oral Maxillofac. Surg. Clin. North. Am.*, Philadelphia, v.8, n.2, p. 467-476, 1996.
8. WARD-BOOTH, P. Oral surgery for the older patient. In: Barnes, I., *Gerodontology*. Oxford: Wright Oxford, 1994. 212 p.

**Endereço para Correspondência:**

**E-mail: dpadilha@pro.via-rs.com.br**