

*Este exemplar foi  
devolvido conforme  
resolução CCPE/036/83  
de 08 de agosto de 1988  
M. V. G.*

CELSO MAURY ABDALLA

Cirurgião Dentista

ESTUDO HISTOLÓGICO DA GÊNESE E EVOLUÇÃO  
DO TECIDO DE GRANULAÇÃO, SOB EFEITO  
DE BAIXAS DOSES DE RADIAÇÃO X

Tese apresentada à Faculdade de Odontologia de Piracicaba  
da Universidade Estadual de Campinas para obtenção do  
Grau de Mestre em Odontologia, na Área de Radiologia.

PIRACICABA - SP

- 1988 -

Ab31e

9859/BC

UNICAMP  
BIBLIOTECA CENTRAL

Aos Meus Pais, (*in memóriam*)

**SAID ABDALLA e HASSIBA IBRAHIM ABDALLA**

pelo carinho e apoio que sempre me dispensaram,

À Minha Dedicada Esposa,

**NADJA MARIA,**

pela compreensão, estímulo e apoio,

Aos Meus Irmãos,

**ANGEL e ELIAS, LYDIA, LEONOR, NACIB e EDITE,**

**LUIZ e TEREZINHA, ODETE, FLÁVIO,**

**ROBERTO e MARIA DE LOURDES, CLÉSIO e NEIDE,**

**SÉRGIO, CLÁUDIO e VERA REGINA,**

pelo orgulho que para mim representam,

Ao Professor Doutor

**MÁRIO ROBERTO VIZIOLI**

Professor Titular da Área de Patologia do  
Departamento de Diagnóstico Oral da Faculdade  
de Odontologia de Piracicaba - UNICAMP, pela  
orientação segura durante a elaboração deste  
trabalho, o meu reconhecimento e gratidão.

Ao Mestre e Amigo

**PROFESSOR DOUTOR NIVALDO GONÇALVES**

Coordenador do Curso de Pós-Graduação  
em Radiologia, a nível de Mestrado, do Departamento  
de Diagnóstico Oral da Faculdade de Odontologia de  
Piracicaba - UNICAMP, os meus sinceros  
agradecimentos.

## AGRADECIMENTOS

Quero agradecer a todos que, direta ou indiretamente, contribuíram para a realização deste trabalho, e em especial:

. Ao Prof. Dr. **Frab Norberto Bóscolo**, Professor Livre Docente da Disciplina de Radiologia da FOP-UNICAMP, pela sua colaboração e trocas de informações preciosas, tornando possível o desenvolvimento deste trabalho;

. Ao Prof. Dr. **Roberto Abdalla**, Professor Adjunto da Disciplina de Radiologia da Faculdade de Odontologia da PUCCAMP e Professor Adjunto da Disciplina de Radiologia da Faculdade de Odontologia da Universidade São Francisco, o meu eterno reconhecimento e gratidão, pelo aprendizado inicial e acompanhamento seguro até o presente momento na área de Radiologia;

. Ao Prof. Dr. **Élio Giácomo Papaiz**, Professor Titular da Disciplina de Radiologia da Faculdade de Odontologia da Universidade São Francisco, a quem devo o ingresso na Carreira Universitária, os meus agradecimentos;

. Aos Professores e Funcionários da Faculdade de Odontologia de Piracicaba - UNICAMP, pela maneira hospitaleira e amigável com que fui acolhido durante a realização desta pesquisa, o meu reconhecimento e amizade.

. À FAPESP, CAPES e PICD, pela concessão de bolsas, os meus agradecimentos.

## SUMÁRIO

	página
Capítulo I	
INTRODUÇÃO .....	1
Capítulo II	
REVISTA DA BIBLIOGRAFIA .....	5
Capítulo III	
PROPOSIÇÃO .....	14
Capítulo IV	
MATERIAIS E MÉTODOS .....	16
Capítulo V	
RESULTADOS .....	22
Capítulo VI	
DISCUSSÃO .....	40
Capítulo VII	
CONCLUSÕES .....	46
Capítulo VIII	
RESUMO .....	49
Capítulo IX	
SUMMARY .....	52
Capítulo X	
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	55

CAPÍTULO I

INTRODUÇÃO

## INTRODUÇÃO

Devido ao aperfeiçoamento dos aparelhos de raios X, e às pesquisas já realizadas sobre dosimetria, os efeitos produzidos pelas radiações X no organismo animal têm sido estudados com muito interesse. Existe mesmo nos dias de hoje, um padrão razoavelmente bem estabelecido sobre os efeitos das radiações X sobre células germinativas (ENGLER & JAYLE<sup>9</sup>, 1976), tecido ósseo e tecidos conjuntivos de uma maneira geral. Também pesquisas sobre os efeitos de diversas radiações, inclusive os raios Röntgen, em células cancerosas, são bastante numerosas, resultando no que hoje conhecemos como Radioterapia Oncológica.

Por outro lado, é muitíssimo extensa a literatura disponível acerca dos efeitos que os mais variados agentes patogênicos provocam sobre a gênese e evolução do tecido de reparo. Já foram pesquisados, sobre esse assunto, efeitos de agentes patogênicos biológicos (bactérias, vermes, etc.), químicos (medicamentos e outras drogas) e físicos (traumatismos, corrente elétrica).

Entretanto, pouco se conhece acerca dos efeitos provocados pelos raios X sobre o processo de reparo, mais especificamente sobre o tecido de granulação. Sobre esse assunto, destacamos dois trabalhos:

STEIN e cols.<sup>22</sup> (1957) estudaram os efeitos provocados pela radiação X sobre a cicatrização de feridas cirúrgicas e chegaram à conclusão que esses efeitos são bem definidos, constatando alterações do tecido, que foram vistas tanto a olho nũ como ao microscópio, em todos os ani-  
mais irradiados. As alterações de maior interesse foram os efeitos produzidos pela radiação X nos tecidos que estavam em estado de reparação, e que estavam se recompondo após a extração do dente. Assim, os autores puderam observar que a irradiação X no dia da extração do dente, ou mesmo 4 dias após, retardava o processo de cicatrização; quando a irradiação X era feita a partir de 8 dias ela interferia menos, se bem que permanecia retardada; e quando a irradiação X era feita a partir de 12, 20 ou mesmo 30 dias após a extração, a cicatrização tinha uma boa progressão regenerativa, semelhante ao grupo de controle não irradiado.

GRILLO<sup>13</sup>, em 1963, ressaltou o fato de que diversas experiências por ele conduzidas, bem como por outros autores, demonstraram que existe uma diminuição do efeito produzido pela radiação X sobre a proliferação do tecido conjuntivo neoformado, e que esse efeito varia com o tempo de irradiação e com o tempo de desenvolvimento do processo de cicatrização do tecido.

Quanto a este assunto, em específico, quase nada mais existe que mereça ser mencionado, o que não deixa de ser uma lacuna bastante significativa nas pesquisas sobre as radiações X e seus efeitos sobre o organismo animal.

Dentro do campo odontológico, é interessan

te realizar-se uma pesquisa que relacione, dependendo da dose, quais os efeitos que a radiação X pode promover sobre a gênese e a evolução do tecido de granulação. Ressal-te-se, mais uma vez, que não foram encontradas quaisquer referências a trabalhos realizados em processos de reparo, relacionando este mecanismo biológico e as radiações X, em exames radiodontológicos.

Por este motivo, esta pesquisa foi conduzi-da com a finalidade de estudar-se, em animais de laborat<sup>o</sup>rio, os efeitos da radiação X sobre tecidos de granulação em desenvolvimento, e relacionar-se estes efeitos com os aspectos radiológicos da Odontologia.

CAPÍTULO II

REVISTA DA BIBLIOGRAFIA

## REVISTA DA BIBLIOGRAFIA

A preocupação com o perigo das radiações ionizantes, das quais os raios X são um tipo, começou quando surgiram problemas físicos em profissionais que trabalhavam com materiais radiativos, por desconhecerem os malefícios que uma exposição prolongada de radiação causava. Entretanto, mesmo conhecendo esses malefícios, os descuidos por parte dos operadores de aparelhos de raios X continuaram, levando, às vezes, o profissional à morte. Este é o caso de Edmund Kells, que foi um dos primeiros dentistas que se dedicaram à utilização dos raios X. Assim, Edmund Kells foi considerado o primeiro mártir da Radiologia Odontológica, pois em virtude de ter realizado inúmeras pesquisas clínicas, com a aplicação dos raios X, foi vítima dos efeitos biológicos da radiação, sofrendo um total de 37 aplicações.

STONE<sup>24</sup> cita, em 1952, o caso do fabricante de tubos de vácuo Emil Grubbé, que se apresentou ao Hahnemann Medical College de Chicago, para exame de uma dermatite localizada na mão, cuja etiologia foi considerada como excesso de exposição aos raios X.

A partir do próprio descobrimento de Röntgen, várias pesquisas foram realizadas com o intuito de

fornecer subsídios para que pesquisadores, pacientes e profissionais viessem a se proteger dos efeitos danosos das radiações.

STEIN e cols.<sup>22</sup>, em 1957, já diziam: que "se torna óbvio que a radiação tem efeitos definidos sobre a cicatrização em ferida cirúrgica. De maior interesse foi o efeito produzido pela radiação nos tecidos que estavam em reparação e que estavam se recompondo após extração dentária em animais. Alterações dos tecidos neoformados foram observadas tanto a olho nũ como ao microscópio, em todos os animais irradiados, assim como alterações degenerativas no epitélio mascararam o tecido conjuntivo, em todos os animais irradiados. Essas alterações eram comparáveis àquelas da mucosa nos seres humanos, após terapia de radiação. Quando a irradiação iniciava-se no dia das extrações, ou 4 dias após, o processo de cicatrização era extremamente retardado, e a qualidade do tecido conjuntivo jovem era pobre, com menos fibroblastos novos do que os normalmente vistos. A necrose e alterações degenerativas na superfície do alvéolo eram maiores do que nos grupos irradiados em intervalos mais longos após a extração. Alterações vasculares não foram observadas com grande evidência nos animais sujeitos a irradiação, pois não havia aumento nem diminuição na vascularidade. Esta experiência indica que quando as extrações são realizadas em ratos e a irradiação começa imediatamente após, a cicatrização é pobre e vagarosa, deixando a ferida aberta, permitindo infecção nos tecidos; por outro lado, quando a irradiação começa aos 8 dias após a extração, e ainda que a ferida não esteja totalmente fecha

da, os efeitos de radiação são menos marcados nos tecidos neoformados".

GOWGIEL<sup>12</sup>, em 1960, afirmou que uma irradiação fracionada de 4.500 a 11.000 R, produzia radio-osteonecrose nos tecidos dos maxilares. Usando 18 macacos "M-rhesus", submeteu-os à irradiação dos maxilares e observou que o tempo da instalação da necrose e a dosagem de radiação estavam diretamente relacionados entre si, ao passo que a intensidade e a extensão da necrose estavam diretamente relacionadas ao tempo de instalação. A lesão necrótica sempre começava na papila interdental do molar inferior que estava no centro da irradiação e daí estendia-se para envolver a gengiva cervical e a mucosa bucal. Já no maxilar, a necrose tinha início na papila interdental e gengiva cervical, e quando a necrose era muito extensa, ela envolvia o palato. Microscopicamente, a papila interdental foi a primeira área que demonstrou inflamação, que depois estendeu-se pelo ligamento periodontal, com conseqüente necrose. Foram notadas alterações nos vasos sanguíneos sob os efeitos da irradiação, sobretudo produzindo um aumento na espessura das paredes das artérias e arteríolas, ao passo que as veias e capilares não foram afetados e não houve evidência de necrose isquêmica.

Segundo GRILLO<sup>13</sup>, em 1963, "a cicatrização acontece quando o tecido lesado é restaurado em toda a sua extensão até atingir o tecido normal, assim como a reparação da superfície da lesão é completada pela atividade complexa dos tecidos epiteliais e conjuntivos, sendo que esta reparação sempre resulta da fibroplasia".

Em 1979, HORN e cols.<sup>16</sup> procuraram verificar o efeito do tempo de irradiação na cicatrização do alvéolo em ratos; como causa da osteomielite pós-exodontia. Uma combinação de irradiação, trauma e infecção, foi considerada como possível fator etiológico para a radio-osteomielite. Entretanto, de acordo com alguns autores, a irradiação imediata após a exodontia é acompanhada pelo atraso na cicatrização, o que não acontece se a irradiação for feita após alguns dias da exodontia, o que resulta na melhoria da cicatrização. A radio-osteomielite desenvolveu-se nos animais de laboratório que foram submetidos à irradiação antes da extração dos dentes, com uma dose de 1.500 R diretamente no alvéolo dentário, duas semanas antes ou imediatamente após a exodontia; a reabsorção do coágulo foi mais prolongada nos alvéolos irradiados duas semanas antes da extração, quando comparada a ratos irradiados imediatamente após a exodontia.

Também em 1979, BURKE & FRAMME<sup>4</sup> verificaram que poucos relatórios têm sido publicados acerca do efeito da irradiação nos dentes em desenvolvimento. Entretanto, as consequências dependem das doses de radiação e da idade do paciente, podendo haver prejuízo no desenvolvimento do dente, prejudicando o crescimento total da coroa ou da raiz; a cicatrização é incompleta e a erupção é prematura.

BÓSCOLO e cols.<sup>3</sup>, em 1982, demonstraram em sua pesquisa que quando se faz um exame radiográfico intra-bucal de boca toda, o paciente recebe na região da íris e do cristalino a dose de 1,354 R. Nessa pesquisa, os autores trabalharam com pacientes que procuraram o De-

partamento de Diagnóstico Oral da Faculdade de Odontologia de Piracicaba para exames radiográficos, portanto *in vivo*. E para medir essa radiação, foram utilizados dosímetros termoluminescentes de Fluoreto de Lítio 700.

DI HIPÓLITO e cols.<sup>7</sup>, em 1985, também preocupados com os efeitos maléficos da radiação X, determinaram, pelo método de dosimetria termoluminescente, as doses de radiação X incidentes em órgãos críticos, durante a obtenção de radiografias cefalométricas. Os resultados desta pesquisa indicaram que os pacientes submetidos a exames radiográficos cefalométricos, para fins de diagnóstico ortodôntico ou para outros fins, recebem na região da íris e do cristalino do lado direito 7,3 mR na condição de 70 kVp, 15 mA e 1/2 segundo de exposição, enquanto que na região da íris e cristalino do lado esquerdo, para as mesmas condições, foram encontradas 1,63 mR. Entretanto, sabemos que para o grupo ocupacional, a dose máxima permitida é de 5 R por ano, no corpo todo; e para pacientes é 1,5 R, também para o corpo todo. No campo odontológico, com o uso de aparelhos modernos dotados de filtros, colimadores e cones localizadores, para a região específica da cabeça, a dose de eritema seria de 250 R para ocorrer radiodermite de 1º grau nas pessoas mais sensíveis.

Quanto ao processo de reparo à gênese e evolução do tecido de granulação, muitos pesquisadores ocuparam-se do assunto. Citar-se-ão nesta revisão alguns diretamente ligados aos objetivos desta pesquisa.

Em 1973, VIZIOLI<sup>26</sup> descreveu a implantação de esponja de policlorovinil (P.V.C.) introduzida no dorso

de ratos, para verificar a quantidade, em tempos pré-marcados, da formação de tecido de granulação infiltrado na esponja, pois é sabido que o tecido de granulação é obtido tanto pela implantação de corpos estranhos como por meio de injúrias produzidas com a finalidade de se obter subsídios para a melhor compreensão dos mecanismos de cura. A inflamação é um processo homeostático de defesa do organismo, de mecanismo complexo, pois toda vez que o organismo é agredido por um agente qualquer, determina uma lesão celular através de trauma, lesão tecidual, sintomas e sinais inflamatórios que, por sua vez, tem a finalidade de restabelecimento da anormalidade da área atingida. A resposta inflamatória é quase sempre a mesma, independente do agente agressor ou do local onde ocorre, consistindo em uma série de adaptações teciduais, envolvendo principalmente os vasos sanguíneos, os componentes líquidos e celulares do sangue, bem como o tecido conjuntivo.

Em 1976, VIZIOLI & BOZZO<sup>28</sup> afirmavam que a sequência dos eventos que se estabelecem diante de uma agressão tecidual depende muito mais da intensidade do estímulo do que da natureza do agente agressor. A inflamação é uma reação que se inicia no momento da agressão e só termina com a reparação da área da lesão; por isso é necessário que se tenha em mente que a inflamação não é um estado, mas sim um processo dinâmico de grande importância biológica. A reparação tecidual, seja por cicatrização ou seja por regeneração, deve constituir o estágio final de uma inflamação que atingiu sua finalidade biológica, isto é, restabelecer a normalidade da estrutura atingida.

De uma maneira geral, o processo pode ser dividido em duas partes:

1. Regeneração, que compreende o processo pelo qual o tecido injuriado é repostado por células da mesma origem daquelas que se perderam, restituindo à área lesada a perfeita normalidade, morfológica e funcionalmente; e

2. Cicatrização, que compreende o processo pelo qual o tecido injuriado é repostado por tecido diferente do original, isto é, o tecido de reposição é constituído de tecido conjuntivo fibroso, que é um tecido mais simples que o original, implicando na perda permanente da função fisiológica da região comprometida. Portanto, é importante saber que, com a proliferação de fibroblastos e a multiplicação de pequenos vasos sanguíneos, através de mitoses de células endoteliais, produz-se uma massa avermelhada, altamente vascularizada, que é denominada de tecido de granulação, onde podem ser estudadas a síntese do colágeno e, conseqüentemente, o desenvolvimento do processo de reparo.

Segundo diversos autores, como STEIN & WOLMAN<sup>23</sup>, 1958; ROSS & BENDITT<sup>21</sup>, 1961; KULONEN<sup>18</sup>, 1965; McMINN & PRITCHARD<sup>19</sup>, 1969; VIZIOLI<sup>25, 26</sup>, 1971 e 1973; FEHER e cols.<sup>10</sup>, 1971; VIZIOLI e cols.<sup>30</sup>, 1972; VIZIOLI<sup>27</sup>, 1975; DELAUNAY & BAZIN<sup>6</sup>, 1975; VIZIOLI e cols.<sup>31</sup>, 1976; ANDRADE<sup>1</sup>, 1980; JUNQUEIRA<sup>17</sup>, 1983, a síntese de fibras no processo de reparação começa por volta do 4º dia pós-injúria, atingindo seu ponto máximo de desenvolvimento entre 15 a 20 dias, decaindo progressivamente após a este tempo.

Segundo VIZIOLI<sup>25</sup>, em 1971, da análise des-

ses e de outros trabalhos citados, pode-se deduzir que em tecidos de granulação, a síntese de colágeno é detectável a partir de 4 a 7 dias de desenvolvimento, dependendo do tipo de material empregado na produção do granuloma. A partir desse tempo, a atividade fibroblástica aumenta progressivamente, atingindo o máximo entre 15 a 31 dias de desenvolvimento. Após 3 semanas de evolução, o tecido de granulação está organizado e o colágeno está agregado sob a forma de feixes.

Conforme se depreende do estudo da bibliografia apresentada, pode-se notar que, embora alguns trabalhos abordem o tema dos efeitos de radiação sobre o tecido de reparo, pouco se sabe, no momento, sobre a real extensão desses efeitos.

Desta maneira, esta pesquisa foi conduzida no sentido de se estabelecerem alguns fundamentos sobre o problema.

CAPÍTULO III

PROPOSIÇÃO

## PROPOSIÇÃO

Considerando-se a falta de dados na literatura, sobre os efeitos da radiação X em processos de reparo, propõe-se:

1. Verificar histologicamente os possíveis efeitos de níveis de baixas doses de radiação X sobre o desenvolvimento do tecido de granulação.

2. Verificar histologicamente as possíveis diferenças desses efeitos, quando são usadas dose única e doses alternadas de radiação X, no mesmo modelo experimental.

CAPÍTULO IV  
MATERIAIS E MÉTODOS

## MATERIAIS E MÉTODOS

### 1. SELEÇÃO DE ANIMAIS

Utilizaram-se para esta pesquisa, 23 ratos (*Ratus norvergicus* Albinus, Wistar), adultos jovens (110 dias), machos, pesando entre 160 a 180 gramas, fornecidos pelo Biotério Central da UNICAMP. Os animais foram alimentados com ração balanceada padrão e água *ad libidum* diariamente. Atingida a idade desejada, os 23 ratos foram submetidos aos procedimentos de implantação das esponjas de PVC.

### 2. MATERIAL UTILIZADO

Para a implantação das esponjas, utilizou-se:

- . cânpanula de vidro;
- . mesa cirúrgica para ratos;
- . tesouras de ponta fina e ponta romba;
- . pinças diversas;
- . placas de Petri;
- . porta-agulhas;

- . agulhas de sutura;
- . fios de algodão para sutura;
- . algodão hidrófilo e gaze esterilizada;
- . solução antisséptica (Germ-Hand, Darrow Lab. S/A);
- . éter sulfúrico (Indafarma, Ind. e Com. Prod. Quím.); e
- . fragmentos de esponja de policlorovinil (P.V.C.).

### 3. IMPLANTAÇÃO DAS ESPONJAS

Foram cortados fragmentos de esponja de policlorovinil (P.V.C.), medindo 0,5 x 0,5 x 0,5 cm, esterilizadas em autoclave, e que foram posteriormente implantadas subcutaneamente nos animais, do seguinte modo:

Após anestesia com éter sulfúrico, depilou-se a região dorsal mediana traseira direita e esquerda dos 23 ratos, um a um, e praticou-se uma incisão de aproximadamente 1,0 cm de cada lado, perpendicularmente ao longo eixo da coluna vertebral. Com auxílio de uma tesoura de ponta romba, procedeu-se à divulsão dos tecidos, facilitando, assim, a introdução das esponjas em cada lado, com uma pinça apropriada, tão longe quanto possível do local da incisão, com o objetivo de evitar-se que a formação do tecido de granulação nas esponjas fosse prejudicada pelo processo de cicatrização da incisão. Uma vez implantadas as espon-

jas, as incisões foram suturadas com um ponto de fio de algodão em cada lado. Todos esses procedimentos foram realizados sob a mais rigorosa assepsia. Ressalte-se que foram implantadas duas esponjas em cada rato, dobrando, portanto, a quantidade de material.

#### 4. DISTRIBUIÇÃO DOS GRUPOS EXPERIMENTAIS

Depois da implantação das esponjas em todos os 23 ratos, estes foram separados em três gaiolas, compondo três grupos a saber:

Grupo I - com 7 ratos (grupo controle) sem nenhuma dose de irradiação. Deixaram-se dois ratos para reserva neste grupo.

Grupo II - com 7 ratos (grupo que receberia uma dose única de irradiação). Deixaram-se dois ratos para reserva neste grupo.

Grupo III - com 9 ratos (grupo que receberia doses de irradiação em dias alternados). Deixaram-se quatro ratos para reserva neste grupo.

Por precaução, foram deixados oito ratos para a reserva, distribuídos nos três grupos, de acordo com as doses de radiação X.

## 5. EQUIPAMENTO DE RAIOS X

Foi utilizado um aparelho de Raios X de marca General Electric, modelo GE 1000, no qual foi adaptado no lugar do cone localizador, um colimador metálico especial, idealizado pela Disciplina de Radiologia da Faculdade de Odontologia de Piracicaba-UNICAMP, com 110 mm de comprimento e 20 mm de diâmetro, acoplado no cabeçote por uma rosca plástica, operando com 65 kVp e 10 mA, em uma distância foco/lesão de 20 cm, e com 3 exposições de 4 segundos cada, correspondendo a 5,28 R cada irradiação. Este número 5,28 R foi achado por BÓSCOLO e cols.<sup>3</sup>, em 1982, em pesquisa onde mostraram que a partir desta quantidade de radiação já apareciam as primeiras alterações nos tecidos estudados.

## 6. DOSES DE IRRADIAÇÃO

Logo após a implantação das esponjas e separação dos Grupos, iniciou-se a irradiação do seguinte modo:

O Grupo I, ou grupo controle, não recebeu nenhuma irradiação.

O Grupo II recebeu somente uma dose de irradiação (5,28 R).

O Grupo III recebeu doses de irradiação (5,28 R) em dias alternados, isto é, de 48 em 48 horas, nos 14 primeiros dias, e de 96 em 96 horas, nos últimos 14 dias, perfazendo um total de 11 irradiações de 5,28 R e um total geral de 58,08 R de irradiação acumulada.

## 7. SACRIFÍCIO DOS ANIMAIS

Todos os animais foram sacrificados após inalação com éter sulfúrico, 1 de cada grupo, aos 4, 7, 14, 21 e 28 dias após a implantação das esponjas.

Logo após o sacrifício dos animais, foi removida a esponja com tecido de granulação de cada animal e de cada grupo, sendo que as peças foram lavadas rapidamente em solução fisiológica e fixadas em formol neutro a 10% durante 24 horas, à temperatura ambiente. Em seguida, foram feitas duas trocas de 2 horas cada em álcool absoluto, para depois colocar-se as peças em xilol puro até a diafanização. Finalmente, colocaram-se as peças em parafina a 70° durante 1h30 minutos. Após a inclusão em parafina, as peças foram cortadas no micrótomo, com espessura de 7  $\mu$ , e montadas em lâminas de vidro.

## 8. COLORAÇÃO COM HEMATOXILINA-EOSINA

As peças foram coradas pelo método de HE (Hematoxilina-Eosina), empregando-se a técnica de rotina. As preparações foram examinadas ao microscópio óptico "ZEISS-POL 01", onde também foram obtidas as fotomicrografias.

CAPÍTULO V

RESULTADOS

## RESULTADOS

Como se sabe, em condições normais, a reação provocada pela esponja de PVC é uma reação inflamatória de corpo estranho, ou seja, uma reação eminentemente proliferativa, daí a razão de utilizar-se este tipo de implante nesta pesquisa, o que provoca a formação de uma cápsula de fibras de colágeno envolvente, que circunda completamente a esponja. A partir dessa cápsula fibrosa, os elementos celulares migram para o interior da esponja, através de seus poros, e começam a proliferar.

Reação inflamatória de corpo estranho é aquela provocada pela introdução, no organismo, de quaisquer materiais não pertencentes a ele, como, neste caso, a esponja de PVC. Ressalte-se que essa esponja é:

- a) inerte;
- b) esterilizada;

portanto, provoca uma reação inflamatória eminentemente proliferativa.

A reação inflamatória acima citada, que se desenvolve nas primeiras horas pós-implantação, é composta principalmente por granulócitos neutrófilos, e monócitos em menor quantidade. A partir do 39 dia, os elementos celulares característicos da inflamação aguda diminuem sensi-

velmente, sendo substituídos por células fibrogenéticas e macrófagos, bem como por elementos celulares primitivos, responsáveis pela formação de paredes de vasos sanguíneos.

O tecido de granulação, formado a partir desse mecanismo, evolui até à maturação, que se dá, em média, entre duas e três semanas (início da maturação até a organização final do tecido). Após esse período, o fibrosamento se estabelece, produzindo uma cicatriz que assinala o final do processo de reparo.

A sequência da proliferação do tecido de granulação dos três grupos estudados, nos dias de desenvolvimento observados, foi a seguinte:

#### . 4 DIAS

Grupo I (Controle) - da cápsula fibrosa envolvente, já perfeitamente delineada, o tecido de granulação ainda incipiente começou a proliferar através da divisão de um grande número de fibroblastos e capilares neoformados. Na massa ainda frouxa de tecido conjuntivo, notou-se a presença de vasos neoformados, de variados calibres. O tecido esteve presente somente nas paredes internas da cápsula fibrosa, sendo que todo o centro da esponja estava ocupado apenas por fibrina e células inflamatórias (Fig. 1).

Grupo II (dose única, 5,28 R) - o grupo que recebeu dose única de radiação X exibiu aspecto histológico diferente, em qualidade e em quantidade, do aspecto exibido pelo Grupo Controle. O tecido de granulação mostrou-se

mais frouxo ainda, a proliferação foi menor, e as células predominantes não eram as formadoras de tecido, mas as células inflamatórias da fase aguda (Fig. 2). A evolução do tecido de granulação foi, portanto, retardada em relação ao controle.

**Grupo III** (doses alternadas, 10,56 R) - este grupo, irradiado em doses alternadas, não apresentou ainda proliferação do tecido de granulação, sendo o espaço todo no interior da esponja ocupado por células inflamatórias da fase aguda e fibrina (Fig. 3). A evolução do tecido de granulação foi retardada em relação ao Grupo II e mais ainda em relação ao Grupo I.

## . 7 DIAS

**Grupo I** (Controle) - o tecido de granulação evoluiu de maneira tal, que o tecido neoformado aumentou em quantidade, embora ainda longe de preencher todo o espaço da esponja. Um número muito grande de fibroblastos e angioblastos foi notado e os vasos sanguíneos, na sua maioria, já se mostraram funcionais. Alguns feixes de colágeno, produzidos pelos fibroblastos, já se mostraram em início de agregação (Fig. 4).

**Grupo II** (dose única, 5,28 R) - neste grupo, a evolução do tecido foi menor, em qualidade e em quantidade, à evolução do controle. O tecido ocupou menor espaço e ainda se notaram muitas células inflamatórias em meio à proliferação. Não houve sinal de formação de feixes fi-

brosos e nem de vasos em estado funcional (Fig. 5).

**Grupo III** (doses alternadas, 21,12 R) - o atraso da evolução do tecido de granulação, neste grupo, foi patente, mesmo quando comparado ao grupo anterior. O tecido evoluiu muito menos e sua aparência histológica foi ainda incipiente, com um acentuado infiltrado inflamatório (Fig. 6).

#### . 14 DIAS

**Grupo I** (Controle) - o tecido de granulação do Grupo Controle atingiu, aos 14 dias, um desenvolvimento tal que preencheu quase completamente os espaços da esponja. O tecido mostrou-se com aspecto bastante fibrosado, sendo que o número de células fibrogenéticas diminuiu bastante. Os vasos do tecido de granulação completamente funcionais, também diminuíram em número, visto que as necessidades energético-nutritivas do tecido decresceram (Fig. 7).

**Grupo II** (dose única, 5,28 R) - neste grupo, o tecido mostrou uma evolução bem menor que o grupo anterior, com um número de células fibrogenéticas bastante grande, e exibindo ainda vasos neoformados, sem aspecto funcional. O fibrosamento foi ainda incipiente (Fig. 8). O tecido de granulação apresentou-se ainda relativamente distante de preencher a totalidade dos espaços da esponja.

**Grupo III** (doses alternadas, 36,96 R) - o tecido de granulação deste grupo apresentou-se muito atrasado em sua evolução qualitativa e quantitativa, quando

comparado ao controle e mesmo ao grupo irradiado uma única vez. Os indícios de fibrosamento foram muito poucos e ainda persistiu um pequeno infiltrado de células inflamatórias (Fig. 9).

## . 21 DIAS

Grupo I (Controle) - o tecido de granulação do Grupo Controle mostrou o aspecto típico de tecido completamente amadurecido, com fibrosamento compacto e preenchendo completamente os espaços da esponja (Fig. 10).

Grupo II (dose única, 5,28 R) - o tecido de granulação do grupo irradiado em dose única mostrou, neste estágio, um desenvolvimento mais acentuado, embora ainda atrasado em relação ao controle. O fibrosamento do tecido foi relativamente grande, embora o número total de células do tecido seja superior ao do Grupo Controle. Outro aspecto digno de nota foi o preenchimento total dos espaços da esponja (Fig. 11).

Grupo III (doses alternadas, 47,52 R) - o grupo irradiado com doses alternadas mostrou-se atrasado em relação aos outros dois grupos, embora seu aspecto tenha sido bastante semelhante, quantitativamente, ao aspecto do tecido do Grupo II (Fig. 12).

. 28 DIAS

Grupo I (Controle) - o tecido de granulação apresentou aspecto bastante fibrosado, com diminuição sensível de células de todos os tipos, e também de vasos, indicando o início do processo de cicatrização (Fig. 13).

Grupo II (dose única, 5,28 R) - embora um pouco retardado em relação ao Grupo Controle, o tecido de granulação mostrou-se bem fibrosado, indicando maturação quase completa (Fig. 14).

Grupo III (doses alternadas, 58,08 R) - o tecido de granulação do Grupo III apresentou-se ainda retardado na sua maturação, quando comparado aos dois grupos anteriores. No entanto, esse atraso foi quantitativa e qualitativamente menor, sendo que as diferenças entre o tecido de granulação deste grupo e os demais são menos sensíveis (Fig. 15).

FOTOMICROGRAFIAS

## AOS 4 DIAS

Figura 1 - Grupo I (Controle) - nota-se a cápsula fibrosa, já delimitada, e o tecido de granulação ainda incipiente prolifera-se na sua periferia.  
(HE, 160x).

Figura 2 - Grupo II (dose única, 5,28 R) - nota-se que a proliferação do tecido de granulação foi menor do que no grupo controle.  
(HE, 160x).

Figura 3 - Grupo III (doses alternadas, 10,56 R) - nota-se a quase inexistência da proliferação do tecido de granulação, apenas células inflamatórias da fase aguda e fibrina, ocupando o espaço no interior da esponja.  
(HE, 160x).

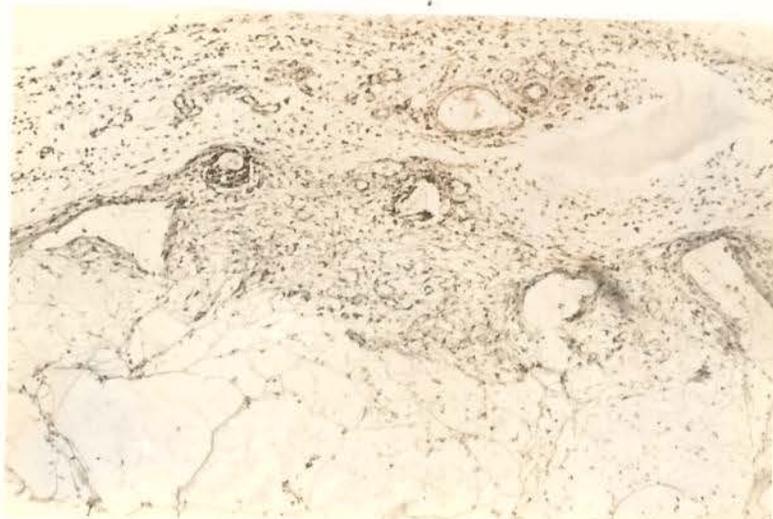


Figura 1 - Grupo I - 4 dias

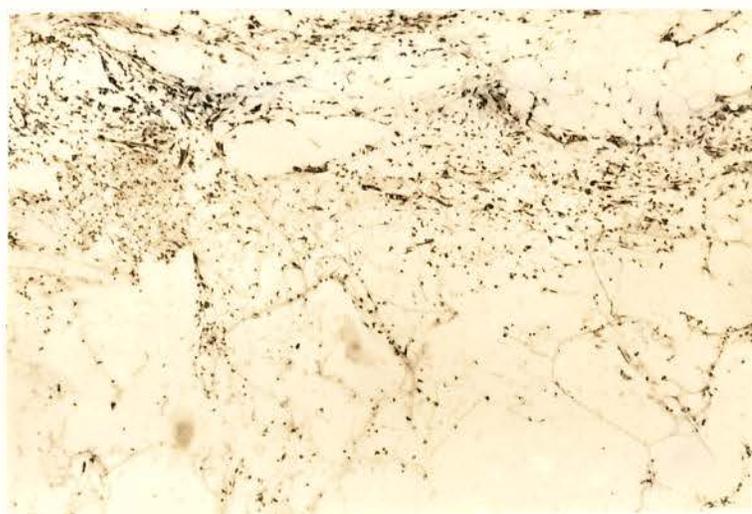


Figura 2 - Grupo II - 4 dias



Figura 3 - Grupo III - 4 dias

## Aos 7 DIAS

**Figura 4** - Grupo I (Controle) - nota-se o aumento da evolução quantitativa do tecido de granulação, e um número grande de fibroblastos. Os vasos sanguineos já apresentam circulação no seu interior. (HE, 160x).

**Figura 5** - Grupo II (dose única, 5,28 R) - nota-se que a evolução do tecido de granulação foi menor tanto em quantidade como em qualidade em relação ao grupo controle. (HE, 160x).

**Figura 6** - Grupo III (doses alternadas, 21,12 R) - nota-se que a evolução do tecido de granulação foi muito menor em relação ao Grupo II, tanto quantitativa quanto qualitativamente. (HE, 160x).

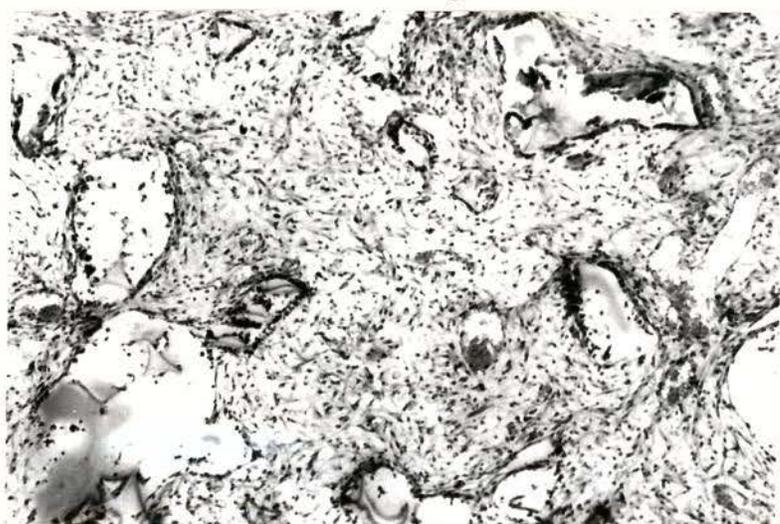


Figura 4 - Grupo I - 7 dias

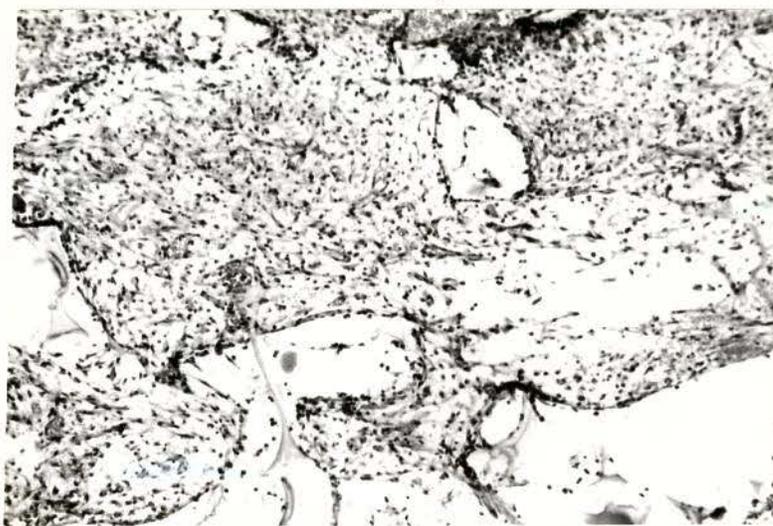


Figura 5 - Grupo II - 7 dias

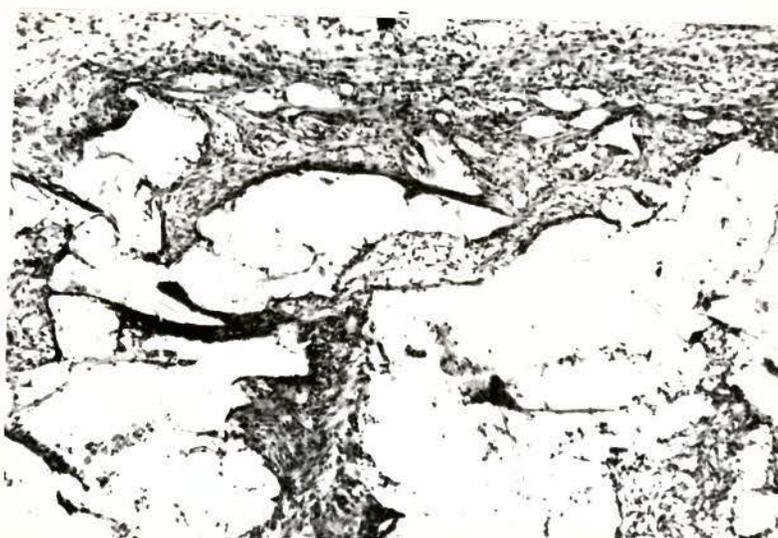


Figura 6 - Grupo III - 7 dias

## Aos 14 DIAS

Figura 7 - Grupo I (Controle) - observa-se que houve um grande desenvolvimento no tecido de granulação, que preencheu todos os espaços da esponja, e com aspecto bem fibrosado.  
(HE, 160x).

Figura 8 - Grupo II (dose única, 5,28 R) - o tecido de granulação mostrou uma evolução menor do que o grupo controle e, principalmente no que tange ao fibrosamento, bem menor.  
(HE, 160x).

Figura 9 - Grupo III (doses alternadas, 36,96 R) - nota-se um fibrosamento muito pequeno e a persistência de células inflamatórias. O tecido de granulação mostrou-se muito atrasado em sua evolução, em comparação aos grupos anteriores.  
(HE, 160x).



Figura 7 - Grupo I - 14 dias



Figura 8 - Grupo II - 14 dias



Figura 9 - Grupo III - 14 dias

## Aos 21 DIAS

Figura 10 - Grupo I (Controle) - nota-se o tecido de granulação já amadurecido, com um fibrosamento denso e preenchendo todos os espaços da esponja. (HE, 160x).

Figura 11 - Grupo II (dose única, 5,28 R) - o tecido de granulação mostra um desenvolvimento mais acentuado, preenchendo os espaços da esponja, embora menos fibrosado do que o grupo controle. (HE, 160x).

Figura 12 - Grupo III (doses alternadas, 47,52 R) - observa-se que o tecido de granulação deste grupo é bastante semelhante, em todos os aspectos, ao tecido de granulação do grupo II, embora um pouco menos fibrosado. (HE, 160x).

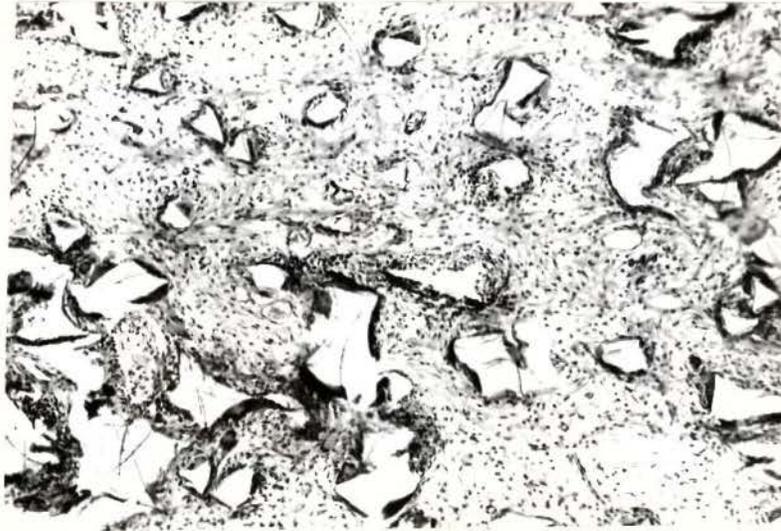


Figura 10 - Grupo I - 21 dias



Figura 11 - Grupo II - 21 dias

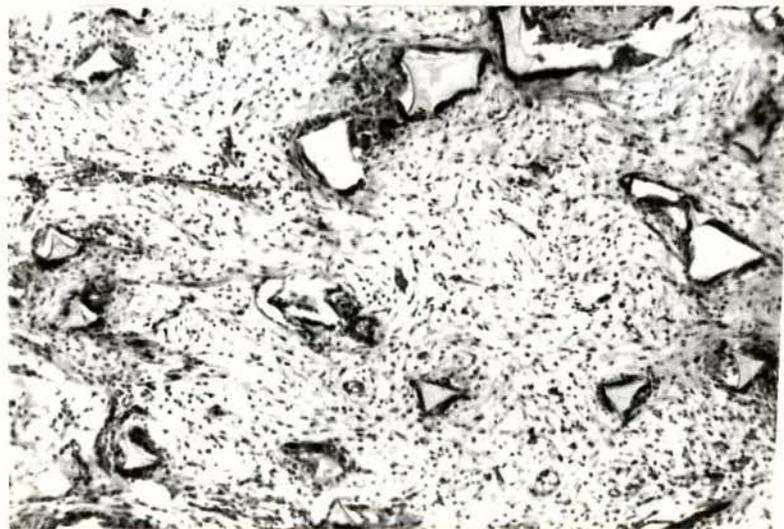


Figura 12 - Grupo III - 21 dias

## Aos 28 DIAS

Figura 13 - Grupo I (Controle) - nota-se o início do processo de cicatrização, com uma diminuição de células de todos os tipos e fibrosamento acentuado.

(HE, 160x).

Figura 14 - Grupo II (dose única, 5,28 R) - o tecido de granulação mostrou-se bem fibrosado, o que indica uma maturação quase completa, porém ainda retardado em relação ao grupo controle.

(HE, 160x).

Figura 15 - Grupo III (doses alternadas, 58,08 R) - pode-se observar que o tecido de granulação apresentou-se ainda retardado na sua maturação em relação aos grupos anteriores, embora muito semelhante ao tecido do grupo II.

(HE, 160x).



Figura 13 - Grupo I - 28 dias



Figura 14 - Grupo II - 28 dias

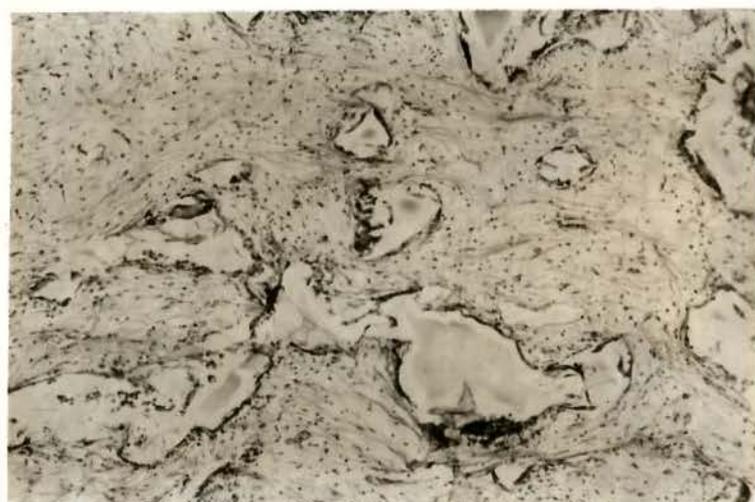


Figura 15 - Grupo III - 28 dias

CAPÍTULO VI

DISCUSSÃO

## DISCUSSÃO

Segundo a pesquisa realizada por VIZIOLI<sup>27</sup>, 1975, a formação de tecido de granulação no interior da esponja de PVC tem seu início entre o 3º e 4º dias após a implantação da esponja, através de migração de células fibrogenéticas e totipotentes originárias da cápsula fibrosa reacional, com conseqüente proliferação desses elementos celulares até aproximadamente 15 a 30 dias de evolução, quando então a fase proliferativa termina, estabelecendo a organização e maturação do tecido. Esses resultados estão também de acordo com diversos autores como: GRINDLEY & WAUGH<sup>14</sup>, 1951; DUNPHY E UDUPA<sup>8</sup>, 1955; CHVAPIL<sup>5</sup>, 1967; HICKS<sup>15</sup>, 1969; FEHER e cols.<sup>10</sup>, 1971; FUKUHARA<sup>11</sup>, 1972; PEDERSEN & VII-DIK<sup>20</sup>, 1972; DELAUNAY & BAZIN<sup>6</sup>, 1975; ANDRADE<sup>1</sup>, 1980; JUNQUEIRA<sup>17</sup>, 1983; e outros.

Os resultados da presente pesquisa, com respeito ao Grupo I (animais que serviram de controle), estão perfeitamente de acordo com os autores acima citados, com pequenas variações decorrentes de algumas modificações inerentes aos tipos de metodologia empregados por cada um.

Da análise dos resultados obtidos dos animais do Grupo II (animais que receberam dose única de radiação, 5,28 R) e do Grupo III (animais que receberam doses

alternadas de radiação, 58,08 R), tornou-se evidente que a radiação X, dentro das condições empregadas nesta pesquisa, produziu alterações até certo ponto notáveis nos tecidos de granulação, quando comparados àqueles não irradiados do Grupo I (controle).

Essas alterações tornaram-se evidentes logo a partir de 5 dias de evolução, quando se observou que o tecido de granulação dos animais do Grupo II, muito frouxo, mostrou células inflamatórias da fase aguda (monócitos e neutrófilos) e pouquíssimos fibroblastos, o que, por si só, indicou que o tecido de granulação teve uma evolução retardada. No entanto, os resultados mais drásticos foram notados nos animais do Grupo III que, recebendo maior quantidade de radiação no mesmo espaço de tempo, não tiveram, praticamente, nenhuma síntese de tecido, mas apenas um quadro de inflamação aguda bem delineado. Esses resultados, tanto do Grupo II quanto do Grupo III, estão de acordo com as observações de STEIN e cols.<sup>22</sup>, 1957, que relataram que o processo de cicatrização alveolar era extremamente retardado, com necrose e alterações degenerativas, quando os alvéolos eram irradiados no dia das extrações (situação análoga aos animais do Grupo II) ou mesmo 4 dias após a extração.

Do mesmo modo, o trabalho de GRILLO<sup>13</sup>, 1963, também indicou que a radiação X produziu efeitos inibitórios sobre o tecido de granulação que crescia em ferimentos cutâneos de animais de laboratório, mesmo em se levando em consideração que tanto a dosagem de radiação quanto as condições experimentais não foram exatamente semelhantes àque

las da presente pesquisa.

Já HORN e cols.<sup>16</sup>, 1979, verificaram que somente ocorria atraso na cicatrização alveolar quando o alvéolo era irradiado imediatamente após a exodontia, e que, quando irradiado após alguns dias de extração, isso não acontecia. Embora os resultados desta pesquisa concordem, em parte, com HORN e cols.<sup>16</sup>, ficou evidente que a dose única de radiação ainda produziu efeitos de retardamento no processo de reparo, até os 28 dias, embora se tenha podido notar que as diferenças na evolução dos tecidos de granulação dos Grupos I e II se tornaram cada vez menos acentuados. Isso indica, sem sombra de dúvida, que irradiação do tecido de granulação na dosagem indicada nesta pesquisa, numa única aplicação, pode produzir problemas na cicatrização de feridas quando o processo de reparo ainda é incipiente. À medida que o tempo passa, os efeitos deletérios da radiação X diminuem bastante.

Quanto ao Grupo III, como seria de se esperar, o atraso na evolução do tecido de granulação ficou parenteado, mesmo em relação ao Grupo II. Apesar disso, conforme se pode depreender dos resultados do Grupo III aos 21 e 28 dias de evolução, os efeitos da radiação X, mesmo quando aplicada em doses consecutivas, tendem a se minimizar à medida que o tecido evolui. Não houve, em nenhum caso, problemas de necrose tecidual, conforme indicaram os trabalhos de GOWGIEL<sup>12</sup>, 1960, e HORN e cols.<sup>16</sup>, 1979, possivelmente porque, no caso dos pesquisadores acima citados, a necrose pós-irradiação instalou-se no osso jovem do alvéolo em processo de reparação. Como no tecido de granulação

tal fato não ocorreu, poder-se-ia sugerir que a baixa dose usada nesta pesquisa, não causou necrose tecidual. Também é importante o fato de que as dosagens usadas por STEIN e cols.<sup>22</sup>, GOWGIEL<sup>12</sup> e HORN e cols.<sup>16</sup> foram, em todos os casos, muito superiores às doses utilizadas no presente trabalho.

BERGONIE & TRIBONDEAU<sup>2</sup>, em 1906, após extensas pesquisas sobre o efeito das radiações em testículos de ratos, formularam o seguinte princípio de radiosensibilidade ainda válido nos dias de hoje: "O efeito das radiações é maior nas células menos diferenciadas e em grande atividade reprodutora". Resumindo, a radiosensibilidade celular é diretamente proporcional à atividade mitótica e inversamente proporcional ao grau de diferenciação. Entretanto, a radiosensibilidade pode ser modificada por vários fatores além da atividade mitótica e grau de diferenciação celular, evocados pelos autores acima, tais como o metabolismo celular aumentado e a vascularização.

Estas considerações explicam, ao menos em parte, o porque das alterações ocorridas com a evolução do tecido de granulação irradiado, pois o tecido de granulação possui grande atividade reprodutora celular, com consequente metabolismo celular aumentado, além de exigir grande vascularização (VIZIOLI & EL-GUINDY<sup>29</sup>, 1976).

Entretanto, o fato comprovado nesta pesquisa, da parcial inibição na evolução do tecido de granulação, mesmo em se tratando de dose única (Grupo II), demonstra que, mesmo em pequenas doses, a radiação X interfere no processo de reparo.

Conforme indicado por BURKE & FRAMME<sup>4</sup> (1979), as consequências das radiações X sobre tecidos e órgãos em desenvolvimento dependem em muito da dosagem empregada e do tempo de exposição. É necessário, portanto, que se tenha em mente que os resultados obtidos neste trabalho são válidos para as dosagens e tempo de exposição empregados, bem como para o aparelhamento utilizado.

Convém salientar-se ainda que dosagens de radiação X menores que aquelas utilizadas na presente pesquisa podem, eventualmente, produzir algum tipo de efeito sobre tecidos vivos, como assinalado por BÓSCOLO e cols.<sup>3</sup> (1982) e DI HIPÓLITO e cols.<sup>7</sup> (1985).

CAPÍTULO VII

CONCLUSÕES

## CONCLUSÕES

Baseando-se na discussão dos resultados obtidos e dentro das condições experimentais da presente pesquisa, pode-se concluir que:

1) A radiação X, aplicada nas condições da presente pesquisa, produz efeitos deletérios sobre a evolução do tecido de granulação induzido pela implantação de esponjas de PVC em ratos;

2) o tecido de granulação irradiado com dose única de radiação X (5,28 R), imediatamente após a implantação de esponja de PVC em ratos, apresentou um retardo de sua evolução, em relação ao grupo controle, não irradiado;

3) o tecido de granulação irradiado com doses alternadas de radiação X (5,28 R de 2 em 2 dias, durante 14 dias, e de 4 em 4 dias, dos 14 aos 28 dias) também apresentou retardo em sua evolução, quando comparado com o grupo controle;

4) o retardo da evolução do tecido de granulação irradiado com doses alternadas é mais acentuado que aquele verificado no tecido de granulação irradiado com dose

se única;

5) os efeitos de retardamento na evolução dos tecidos irradiados de ambos os grupos (II e III) são mais notáveis nas fases precoces do desenvolvimento, diminuindo à medida que os tecidos de granulação evoluem.

CAPÍTULO VIII

RESUMO

## RESUMO

O presente trabalho teve como objetivo o estudo dos efeitos de baixos níveis de irradiação X sobre o desenvolvimento do tecido de granulação induzido por implantação de esponjas de PVC, em ratos.

Utilizaram-se 21 ratos, divididos nos seguintes grupos:

Grupo I - 07 ratos, que foram submetidos à implantação de esponjas de PVC e sacrificados aos 4, 7, 14, 21 e 28 dias pós-implante. Foram reservados 2 animais para prevenir-se eventuais problemas de infecção do tecido mole ou morte do animal. Este grupo serviu como controle.

Grupo II - 07 ratos, nas mesmas condições de implantação e sacrifício, que foram submetidos à irradiação X de 5,28 R, em dose única, no local do implante.

Grupo III - 07 ratos, nas mesmas condições de implantação e sacrifício, submetidos a doses de 5,28 R a cada 2 dias pós-implante, durante 14 dias, e a cada 4 dias até completarem-se 28 dias.

Os resultados mostraram que a radiação X em níveis baixos produz efeitos de retardamento na evolução do tecido de granulação, efeitos esses verificados tanto no grupo II quanto no grupo III, quando comparados aos con

troles. Observou-se ainda que o retardo na evolução do te  
cido de granulação é mais acentuado nos animais do grupo  
III.

Foi também observado que os efeitos danosos  
da radiação X são mais intensos nas fases iniciais da evo  
lução do tecido.

CAPÍTULO IX

SUMMARY

## SUMMARY

The purpose of this work is the study of the effects of low levels of X-irradiation on the development of the granulation tissue induced by PVC sponge implantation in rats.

21 rats were used, divided into the following groups:

**Group I** - 7 rats, which were submitted to the PVC sponge implantation, and sacrificed at 4, 7, 14, 21 and 28 days after being implanted. Two animals were reserved to avoid eventual tissue infection problems or the animal's death. This group served as control.

**Group II** - 7 rats, in the same conditions of implantation and sacrifice, which were submitted to 5,28 R of X irradiation, in a single dose, on implanting.

**Group III** - 7 rats, in the same conditions of implantation and sacrifice, submitted to 5,28 R dose each 2 days after implanting, during 14 days and each 4 days, until completing 28 days.

The results showed that low levels of X irradiation, produces delayed effects which are seen both in the Group II and in the Group III, when compared to the control. It was observed that the delay of the granulation

tissue is more marked in animals of the Group III.

It was observed that the dangerous effects of X irradiation are more intense about the initial phase of the tissue evolution.

CAPÍTULO X  
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ANDRADE, E.D. Estudo histológico e histofotométrico do tecido de granulação de ratos em condições normais e sob a ação de drogas antiinflamatórias. Piracicaba, 1980. 48p. [Tese (Mestrado) - FOP-UNICAMP].
2. BERGONIÉ & TRIBONDEAU. Apud FREITAS, A.; ROSA, J.E.; SOUZA, I.F. Radiologia Odontológica. São Paulo, Artes Médicas, 1984. capítulo 6, p. 68.
3. BÓSCOLO, F.N.; GONÇALVES, N.; DI HIPÓLITO Jr., O.; MONTEBÉLO FILHO, A. Contribuição ao estudo da quantidade de radiação que atinge os órgãos críticos do paciente durante um exame radiográfico. Revta paul. Odont., IV(4): 20-31, 1982.
4. BURKE, F.J.T. & FRAMME, J.W. The effect of irradiation on developing teeth. Oral Surg., 47(1): 11-3, 1979.
5. CHVAPIL, M. Physiology of connective tissue. London, Butter-worths, 1967. p. 206-58, 302-4.

6. DELAUNAY, A. & BAZIN, S. Reparation du tissue conjonctif. Archs Ophthal., 35: 115-26, 1975.
7. DI HIPÓLITO Jr., O.; GONÇALVES, N.; BÓSCOLO, F.N.; MONTEBELO FILHO, A. Determinação, pelo método da dosimetria termoluminescente, das doses de radiação incidentes em órgãos críticos, durante a tomada de radiografias cefalométricas. Revta Ass. paul.Cirurg.dent., 39(2): 68-76, 1985.
8. DUNPHY, J.E. & UDUPA, H.N. Chemical and histochemical sequences in the normal healing of wounds. New Engl. J. Med., 253: 847-52, 1955.
9. ENGLER, R. & JAYLE, M.F. Glycoproteines plasmatiques et processus granulomateux. Annls Anat. path., 21: 45-58, 1976.
10. FEHER, J.; JENNINGS, E.H.; RANNIE, I. Histological study of fibrogenesis in experimental inflammation with special reference to elastic tissue formation. BR. J. exp. Path., 52: 621-6, 1971.
11. FUKUHARA, M. Modifications of collagen and non fibrillar proteins and cathepsin activity in the carrageenin granuloma. Path. Biol., 20: 887-93, 1972.

12. GOWGIEL, J.M. Experimental radio-osteonecrosis of the Jaws. J. dent. Res., 39(1): 176-97, 1960.
13. GRILLO, H.C. Origen of fibroblasts in wound healing: an autoradiographic study of inhibition of cellular proliferation by local X-irradiation. Ann. Surg., 157(1): 453-67, 1963.
14. GRINDLEY, J.H. & WAUGH, J.M. Plastic sponge which acts as a framework for living tissue. Arch. Surg., 63: 288-93, 1951.
15. HICKS, R. The evaluation of inflammation induced by material implanted subcutaneously in the rat. J. Pharm. Pharmac., 21: 581-8, 1969.
16. HORN, Y.; SELA, M.N.; SHLOMI, B.; ULMANSKY, M.; SELA, J. Effect of irradiation-timing on the initial socket healing in rats. Int. J. Oral Surg., 8(6): 457-61, 1979.
17. JUNQUEIRA, M.E.R. Estudo histológico dos efeitos de drogas anti-inflamatórias (betametasona, papaína e piroxicam) sobre a evolução do tecido de granulação induzido em ratos. Piracicaba, 1983. 67p. [Tese (Mestrado) - FOP-UNICAMP].

18. KULONEN, E. Research work on the structure and metabolism of collagen. Final report on the project UR-E 8 (60)-3. Turku, Kirjapaino Polytipos, 1965.
19. Mc MINN, R.M.H. & PRITCHARD, J.J. Tissue repair. London, Academic Press, 1969. p. 14-40.
20. PEDERSEN, P. & VIIDIK, A. Maturation of collagen in healing wounds in young and old rats. Scand. J. plast. reconstr. Surg., 6: 16-23, 1972.
21. ROSS, R. & BENDITT, E.P. Wound healing and collagen formation. J. biophys. biochem. Cytol., 11: 677-82, 1961.
22. STEIN, M.; BRADY, L.W.; RAVEN-TOS, A. The effects of radiation on extraction wound healing in the rat. Cancer, 10: 1167-81, 1957.
23. STEIN, O. & WOLMAN, M. A histo-chemical study of wound healing in scorbutic guinea pigs. Br. J. exp. Path., 39: 418-23, 1958.
24. STONE, R.S. The concept of maximum permissible exposure. Radiology, 58(5): 639-60, 1952.
25. VIZIOLI, M.R. Macro molecular organization of rat sponge-induced granulation tissue as revealed by dichroism. Acta anat., 80: 73-81, 1971.

26. VIZIOLI, M.R. Dynamics of fibrillar components in rat sponge-induced granulation tissue. Acta anat., 85: 368-77, 1973.
27. VIZIOLI, M.R. Relação entre fosfomonoesterases e a síntese de colágeno e mucopolissacarídeos ácidos no tecido de granulação. Piracicaba, 1975. 65p. |Te se (Livre Docência) - FOP-UNICAMP|.
28. VIZIOLI, M.R. & BOZZO, L. Patologia Geral. Piracicaba, Faculdade de Odontologia de Piracicaba-UNICAMP, 1976. 235p. (Apostila).
29. VIZIOLI, M.R. & EL-GUINDY, M.M. Histochemical investigation on Adenosine-Triphosphatase activity in rat sponge-induced granulation tissue. Ann. Histochem. (Paris), 21: 329-34, 1976.
30. VIZIOLI, M.R.; BOZZO, L.; VALDRIGHI, L. Alkaline phosphatase activity and the development of rat sponge-induced granulation tissue. Acta anat., 83: 60- 9, 1972.
31. VIZIOLI, M.R.; BLUMEN, G.; EL-GUINDY, M.M. Granulation tissue: histophotometric and radioautographic observations on blycosaminoglycans and collagen synthesis and their relation with alkaline phosphatase. Annls Histochem., 21: 237-45, 1976.