EFEITOS SECUNDÁRIOS DE DOSE ÚNICA DE RADIAÇÃO X NA PRODUÇÃO DE MUCINAS E PROLIFERAÇÃO CELULAR NO EPITÉLIO INTESTINAL DE RATOS ADULTOS

Yasmin Fidler (UEPG), Bruno Hartmann, José Rosa Gomes (Orientador), e-mail: 1967jrgomes@gmail.com

Universidade Estadual de Ponta Grossa/Departamento Ciências Biológicas e da Saúde

Área: Biologia Geral

Sub-área: Morfologia: Citologia e Biologia Celular

Palavras-chave: radiação x, efeitos secundários, intestino delgado.

Resumo

O objetivo deste estudo foi avaliar os efeitos colaterais do X-RI na produção de mucinas neutras e ácidas e proliferação celular no epitélio jejunal de ratos adultos. Ratos Wistar machos, com 90 dias de idade, foram separados em dois grupos: grupo controle (não irradiado) e grupo experimental (irradiado). Os animais foram avaliados em cinco tempos diferentes (4, 9, 13 e 25 dias) após serem submetidos aos 15 Gy de raio X na cabeça e no pescoço. Os animais do grupo controle foram avaliados nos mesmos tempos. Para ambos os grupos, 3 animais foram avaliados em cada tempo. Os animais foram injetados com BrdU (100 mg / Kg), anestesiados e sacrificados. Fragmentos do jejuno foram coletados, imersos em paraformaldeído a 2% por 48h, desidratados em álcool e embebidos em parafina para obtenção de seções seriadas e longitudinais de 5 µm. As seções foram submetidas à coloração com PAS e Alcian blue e imunohistoquímica para BrdU. O número de células caliciformes foi estimado nas 10 vilosidades intestinais por animal e cerca de 2500 células positivas para BrdU foram contadas para se obter o índice proliferativo. Os resultados mostraram redução do peso corporal 4 e 9 dias após o X-RI, diminuição na produção de mucinas neutras em todos os tempos e aumento na proliferação celular 4, 9 e 13 dias após o X-RI quando comparado ao o grupo de controle. Concluímos que o X-RI alterou o estado estacionário do epitélio jejunal e também sua funcionalidade.

Introdução

A radioterapia é um tratamento para neoplasias malignas, capaz de destruir células cancerígenas utilizando radiação ionizante direcionada para a área do tumor. Embora seja um tratamento eficaz para muitos tipos de câncer, e exista um cuidado no protocolo de aplicação durante o tratamento, direcionando a radiação para órgão afetado pelo tumor ocorre uma propagação da mesma para outras regiões do corpo cujos órgãos ainda estão intactos. Entretanto pouco se estuda o efeito secundário da radioterapia em orgãos distantes do foco tumoral.

Resultados prévios de nosso laboratório sobre os efeitos da radiação X direcionada para a cabeça de ratos, mostrou que a irradiação se propaga para outros órgão como o intestino resultando em alterações significativas como alteração da morfologia do epitélio e redução do numero de células caliciformes presentes nas vilosidades, e redução da proliferação das células presentes nas glândulas intestinais, sendo protanto, importante o a continuidade desse estudo para a morfofisiologia de cada órgão afetado.

No epitélio intestinal de mamíferos a renovação celular ocorre pela proliferação, diferenciação e migração das células presentes nas glândulas ou criptas intestinais situadas na base das vilosidades.

A vilosidade intestinal é constituída de quatro tipos celulares principais: enterócitos ou células absortivas, células enteroendócrinas e células caliciformes. As células caliciformes podem ser encontradas ao longo dos intestinos delgado e grosso e são responsáveis pela produção e manutenção de uma camada protetora composta por muco, sendo a mucina o principal constituinte (KIM, Y. S. & HO, S. B.; 2010). Alterações nas funções dessas células e consequentemente do muco intestinal provocam uma série de mudanças, como alterações na microbiota local, a qual é em parte responsável pela formação da imunidade inata e adquirida da mucosa e também podem causar desordens intestinais (DEPLANCKE, B. & GASKINS, H. R.; 2001). Pela característica de cinética celular o epitélio intestinal se mostra como um modelo sensível aos efeitos da irradiação (KIM, S. B. et al.; 1994) sendo utilizado neste estudo para avaliar os efeitos secundários da irradiação direcionada na cabeça e pescoço de ratos.

Materiais e Métodos

Os animais foram distribuídos em 5 grupos: um grupo controle e quatro grupos tratados distribuídos nos diferentes tempos: 4, 9, 14, 25 e 60 dias após a aplicação da radiação. Para ambos os grupos, 3 animais foram avaliados em cada tempo. Os animais do grupo controle foram avaliados nos mesmos tempos. Os animais foram anestesiados, via intramuscular com 1,0 ml/kg de Cloridrato de Ketamina e 1,5 ml/kg de Cloridrato de Xylasina. Os animais receberam doses de raios X de 1537 gray, na região de cabeça e pescoço e o cinco foram considerados controles. Os animais foram sacrificados após 4, 9, 14, 25 e 60 dias de irradiação por deslocamento crânio cervical, após serem sedados com halotano. Os intestinos foram coletados e fixadas por 48 horas em paraformadeido a 2%. Os segmentos intestinais foram desidratados em séries ascendentes de álcool etílico, diafanizados em xilol, incluídos em parafina e cortes semi seriados longitudinais de 5 µm foram montados em lâmina e submetidos à técnica de Ácido Periódico de Schiff (PAS), a qual é uma citoquímica para a detecção de carboidratos neutros (marcador das células caliciformes) e contracorados com hematoxilina. Outra técnica usada foi a coloração de Alciam Blue o qual é usado para colorir polissacarídeos ácidos tais como glicosaminoglicanos e mucopolissacarídeos. Para verificar a possível regeneração de morfofuncionalidade das células do intestino foram realizados testes com imunohistoquímica para BrdU para evidenciar células marcadas.

As contagens das células caliciformes foram realizadas em 10 vilosidades da região intestinal do duodeno para cada animal. As contagens foram realizadas a partir da junção vilosidade/cripta até o ápice da vilosidade, em porções dos cortes

que estavam bem orientadas. Os dados obtidos foram submetidos à análise de significância ($p<0,05$) pelos testes de ANOVA e teste *t*.

Resultados e Discussão

Os resultados mostraram redução do peso corporal 4 e 9 dias após o X-RI, diminuição na produção de mucinas neutras em todos os tempos e aumento na proliferação celular 4, 9 e 13 dias após o X-RI quando comparado ao o grupo de controle.

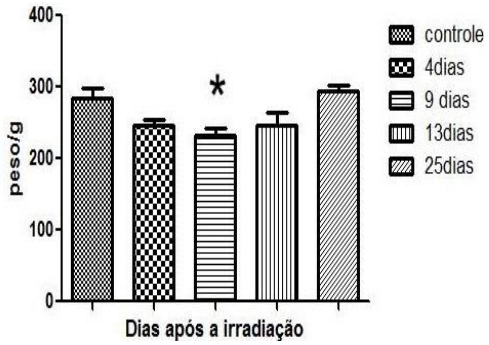


Figura 1 – O peso dos ratos diminuiu até o dia 13 com uma diferença significativa no dia 9 em comparação ao grupo controle.

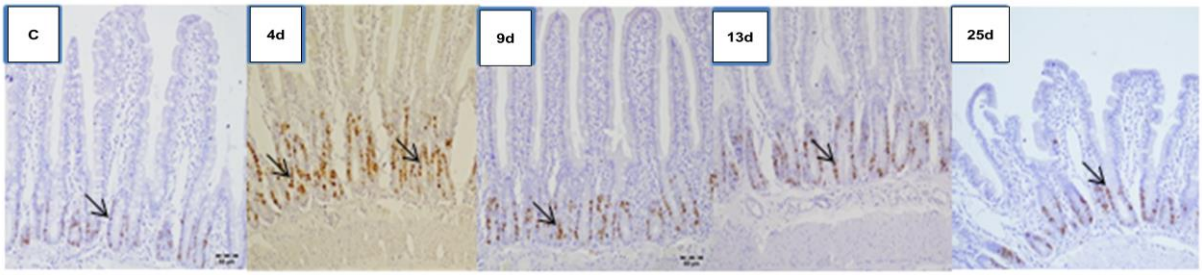


Figura 2 –Houve um aumento significativo na proliferação celular do epitélio intestinal em 4, 9 e 13 dias em relação ao grupo controle

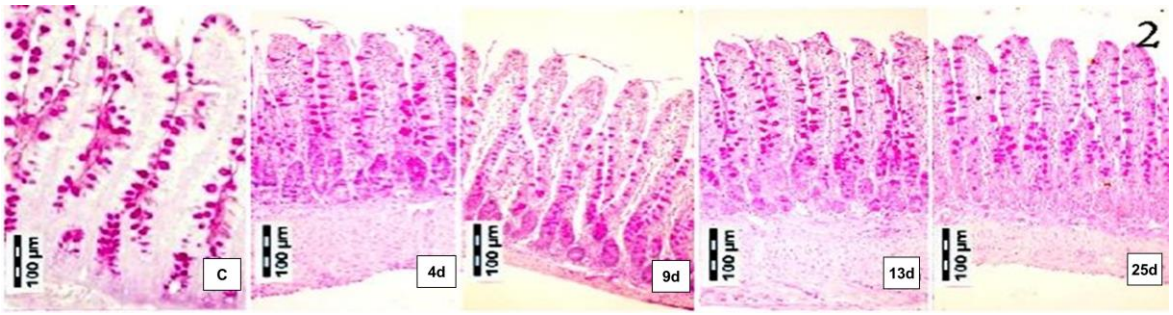


Figura X – A coloração de PAS para mucinas neutras demonstrou significativamente a redução das células caliciformes em todos os tempos avaliados após X-RI.

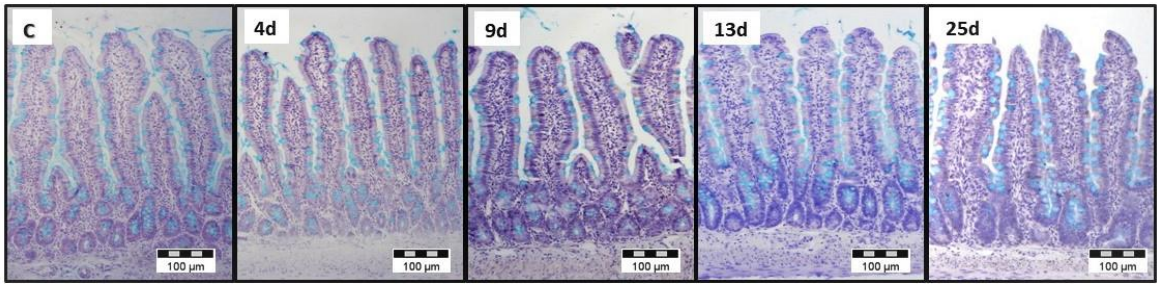


Figura 3 – Para a coloração de Alciam Blue, embora o número de células caliciformes produzindo a mucina ácida foi reduzido em 9, 13, 25 dias, não foi significativamente diferente entre o grupo controle e os tempos avaliados

Conclusões

Os efeitos secundários da irradiação, em dose única aplicada na cabeça e pescoço, sobre o epitélio intestinal avaliado por meio da contagem de células caliciformes foram significativos na região jejunal, indicando que a diminuição de células caliciformes pode acarretar efeitos na produção de muco e consequentemente alterações na fisiologia dessas regiões intestinais. Concluímos que o X-RI alterou o estado estacionário do epitélio jejunal e também sua funcionalidade.

Agradecimentos

Ao professor Dr. José Rosa Gomes, pela orientação e apoio. Ao CNPq pela bolsa fornecida ao realizador dos experimentos deste projeto. Ao biotério pela disponibilidade. Ao laboratório de técnicas histológicas m 60.

Referências

DEPLANCKE, B.; GASKINS, H.R. Microbial modulation of innate defense: goblet cells and the intestinal mucus layer. **The American Journal of Clinical Nutrition**, San Diego, v. 73, p. 1131-1141, 2001.

JHAM, B.C.; FREIRE, A. R. S. Complicações bucais da radioterapia em cabeça e pescoço. **Revista Brasileira de Otorringolaringologia**, Belo Horizonte, v. 72, n. 5, p. 704-708, 2006.

KIM, Y.S.; HO, S.B. Intestinal Goblet Cells and Mucins in Health and Disease: Recent Insights and Progress. **Current Gastroenterology Reports**, San Francisco, v. 12, p. 319-330, 2010.

KIM, S.B. et al. Morfologia e morfometria da parede do íleo terminal de camundongos expostos aos raios x. **Acta Cirúrgica Brasileira**, São Paulo, v. 9, n. 4, p. 174-182, 1994.

WALTHALL, K T. et al. Postnatal Development of the Gastrointestinal System: A Species Comparison. **Wiley-Liss, Inc. Birth Defects Research** (Part B) 74:132–156, 2005.