

# ESTUDO HISTOMORFOLÓGICO DE GLÂNDULAS SUBMANDIBULARES DE RATO SUBMETIDAS A DOSES BAIXAS DE RADIAÇÃO X

Cláudia Maria NAVARRO\*

Carolina CHAN\*\*

Mirian Aparecida ONOFRE\*

Rita de Cássia Loiola CORDEIRO\*\*

Dirceu Barnabé RAVELI\*\*

- RESUMO: Realizou-se estudo histomorfológico de glândulas submandibulares de ratos submetidas a doses baixas de radiação X, tendo em vista o não conhecimento da dose mínima capaz de produzir reações celulares e a escassez de trabalhos na literatura empregando doses consideradas baixas. O corpo dos animais foi recoberto por lâmina de chumbo perfurada na região cervical onde se localizam as glândulas submandibulares, que foram expostas a 1,80 Gy de radiação X em dose única. Após 24, 48, 72 horas, 7, 14 e 21 dias, as glândulas foram removidas e processadas para estudos em microscopia de luz, tendo sido observadas alterações degenerativas discretas e pleomorfismo nuclear, principalmente nos primeiros três períodos experimentais.
- PALAVRAS-CHAVE: Glândulas salivares; radiação; ratos.

## Introdução

O exame radiográfico é fundamental e, na maioria dos casos, indispensável para o diagnóstico em Odontologia. Entretanto, a dose mínima capaz de promover alterações celulares ainda não foi estabelecida. Assim, pesquisadores procuraram padronizar doses de segurança ou a dose máxima permissível.<sup>11,13, 19</sup>

As doses de radiação X empregadas rotineiramente em Odontologia são consideradas baixas quando comparadas às doses antineoplásicas. Mas precisam ser questionadas quanto à relação risco/benefício, visto que seus efeitos podem manifestar-se tardiamente.<sup>4</sup>

\* Departamento de Diagnóstico e Cirurgia – Faculdade de Odontologia – UNESP – 14801-903 – Araraquara – SP.

\*\* Departamento de Clínica Infantil – Faculdade de Odontologia – UNESP – 14801-903 – Araraquara – SP.

Quando usada de maneira correta e criteriosa, a radiação X em doses baixas não causa efeitos nocivos clinicamente evidentes.<sup>12,17</sup> Até o momento, não há relatos comprovando a existência de danos teciduais provocados por doses baixas empregadas corretamente. Isto talvez possa ser explicado pelo fato de que, em doses muito baixas, a regeneração compensa as alterações iniciais; não ocorrendo reações celulares aparentes.<sup>18</sup> Eventuais alterações podem também ocorrer em estruturas situadas fora dos limites do campo irradiado, como glândulas salivares e tireóide. As glândulas submandibulares são corpos arredondados e biconvexos que ocupam quase todo o triângulo digástrico,<sup>8</sup> podendo ser facilmente atingidas pelos raios X em tomadas radiográficas de rotina.

Numerosas modificações morfológicas, histoquímicas e bioquímicas puderam ser detectadas em glândulas salivares de animais de laboratório após aplicação de variadas doses de radiação X.<sup>2,6,8,9,13,14,15</sup> Um dos efeitos da radiação X em doses relativamente elevadas é o decréscimo da função glandular com diminuição do fluxo salivar,<sup>16</sup> decorrente de alterações como necrose celular.

Considerando os fatores citados e a escassez de pesquisas na literatura sobre o emprego de baixas doses de radiação X, é objetivo deste trabalho estudar em microscopia de luz a morfologia das glândulas submandibulares de ratos submetidas à radiação X, empregando dose considerada baixa.

## Material e método

Neste trabalho foram usados 30 ratos (*Rattus norvegicus* Holtzmann) machos, adultos jovens, com peso médio de 140 gramas. Os animais foram mantidos em gaiolas individuais sob as mesmas condições ambientais e alimentados com ração e água *ad libitum*, sendo separados em dois grupos: o experimental, composto por dezoito animais; e o controle, por doze.

Os animais do grupo experimental foram anestesiados por inalação de éter etílico e expostos à radiação X, em dose única equivalente a 1,80 Gy, direcionada sobre as glândulas submandibulares no sentido ventre-dorsal. Para este procedimento os animais foram imobilizados em mesa cirúrgica na posição supina e os seus corpos recobertos por lâmina de chumbo perfurada o suficiente para que apenas a região das glândulas ficasse exposta.

Como fonte de radiação foi usado aparelho de RX dental\* devidamente calibrado\*\* com filtragem total de 2,7 mm de alumínio, gerando 402 C/kg por minuto de exposição no ar. Os fatores usados para exposição dos ratos à irradiação foram 90 Kvp, 10 mA e distância foco-estrutura de 10 cm. Para os animais do grupo controle foram simulados todos os procedimentos sem, no entanto, receber radiação.

\* G.E. Mobile 100-15.

\*\* SAPRA - Serviço de Assessoria e Proteção Radiológica - Rua Orlando Damiano, 2160 - CEP 13560-922 - São Carlos - SP - Brasil.

Pela inalação de éter etílico, os animais foram anestesiados e imobilizados em mesa cirúrgica, sendo removidas as glândulas submandibulares de ambos os lados,<sup>6</sup> nos períodos de 24, 48, 72 horas, 7, 14 e 21 dias após a irradiação. Foram fixadas em fluido de Helly por 3 horas e posteriormente submetidas aos procedimentos laboratoriais de rotina. O tecido incluído foi submetido à microtomia, obtendo-se cortes semi-seriados de 5 mm de espessura e corados pela técnica do Tricrômico de Masson.

## Resultado

Decorridas 24 horas após a irradiação X, as glândulas submandibulares exibiram as células acinares com núcleos aumentados, alguns com hiper cromatismo, cariorrexe e pleomorfismo. Algumas glândulas mostraram inversão de polaridade nuclear. Os ductos estriados apresentaram moderado pleomorfismo celular, núcleos picnóticos e hiper corados, nucléolos evidentes e alterações de polaridade celular (Figura 1). Visualizaram-se, ainda, granulações, vacuolizações citoplasmáticas e algumas figuras de mitose, e que, em parte da amostra, os citoplasmas eram eosinófilos e hiper corados com eventuais figuras de mitose. Nos dois períodos subseqüentes (48 e 72 horas após a irradiação X), observou-se os mesmos fenômenos citados (Figuras 2 e 3), porém em grau mais acentuado e acrescidos de vacuolizações citoplasmáticas nas células acinares, notando-se eventualmente a presença de espaços vasculares aumentados contendo hemácias em grande quantidade.

Nos períodos de 7, 14 e 21 dias após a irradiação, as células acinares mostraram discreto pleomorfismo nuclear e nucléolos bastante evidentes. Os ductos estriados exibiram pleomorfismo e picnose nuclear, nucléolos bastante evidentes, granulações e vacuolizações citoplasmáticas, citoplasma hiper corado eosinofílicamente e alguns espaços vasculares ingurgitados de hemácias, além de áreas hemorrágicas discretas, em relação aos três grupos anteriores. A partir do sétimo dia, a intensidade das alterações descritas diminuiu progressivamente (Figuras 4, 5 e 6).

## Discussão

A dose de radiação X utilizada no presente trabalho (1,80 Gy) é considerada baixa quando comparada às doses empregadas com finalidade terapêutica e àquelas estudadas na literatura, que podem variar de 4 a 70 Gy. A resposta tecidual talvez fosse diferente da observada neste estudo se, em vez de dose única, utilizássemos dose equivalente, porém fracionada, o que poderá vir a ser verificado em futuros estudos comparativos.

A aplicação de 1,80 Gy sobre as glândulas submandibulares de ratos provocou algumas alterações morfológicas, que foram mais numerosas nos períodos de 24, 48 e 72 horas após a irradiação glandular do que as modificações visualizadas nos períodos mais longos, ou seja, 7, 14 e 21 dias. Este fato provavelmente indique que nestes períodos finais possa ocorrer a reparação dos danos teciduais provocados pela irradiação.

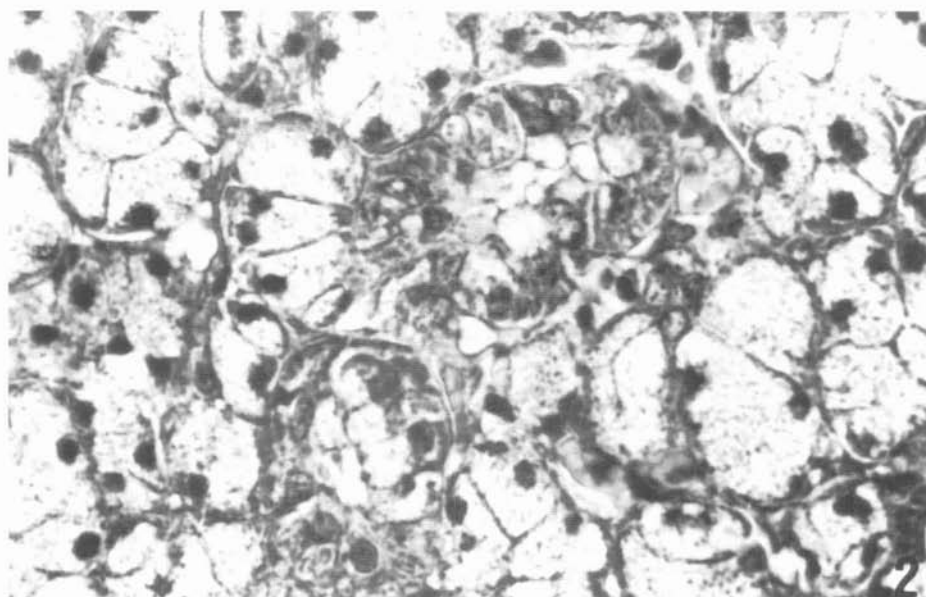
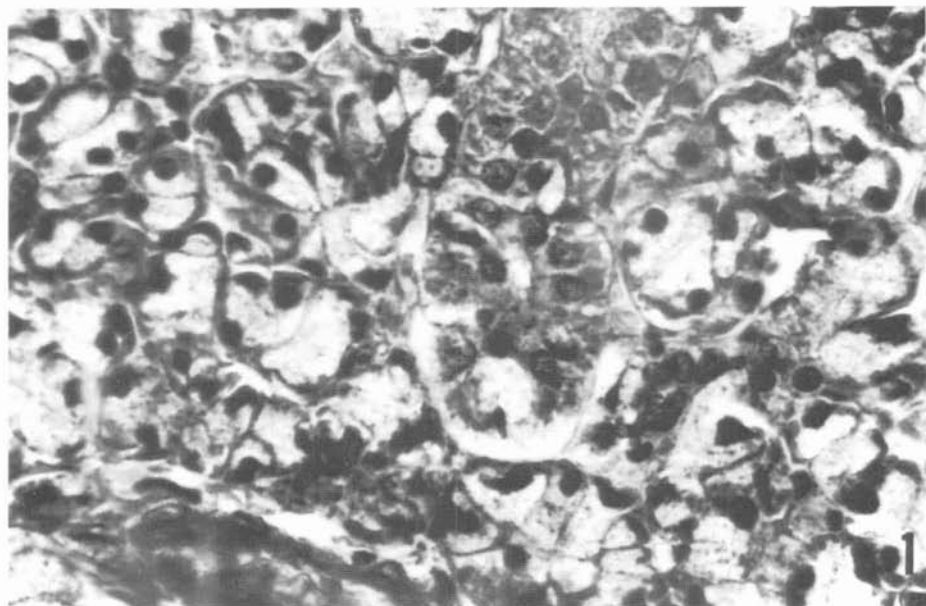


FIGURA 1 - Glândula submandibular de rato 24 horas após a irradiação X (1,80 Gy) localizada, mostrando pleomorfismo das células acinares e das células do ducto (ao centro) com alteração de polaridade, cariorrexe e pleomorfismo (Tricrômico de Masson, 400x).

FIGURA 2 - Glândula submandibular de rato 48 horas após a irradiação X (1,80 Gy) localizada. Observam-se células acinares com perda de polaridade, cariorrexe, pleomorfismo (ao centro) apresentam-se com perda de polaridade nuclear, vacuolização, hiperchromatismo nuclear e pleomorfismo (Tricrômico de Massom, 400x)

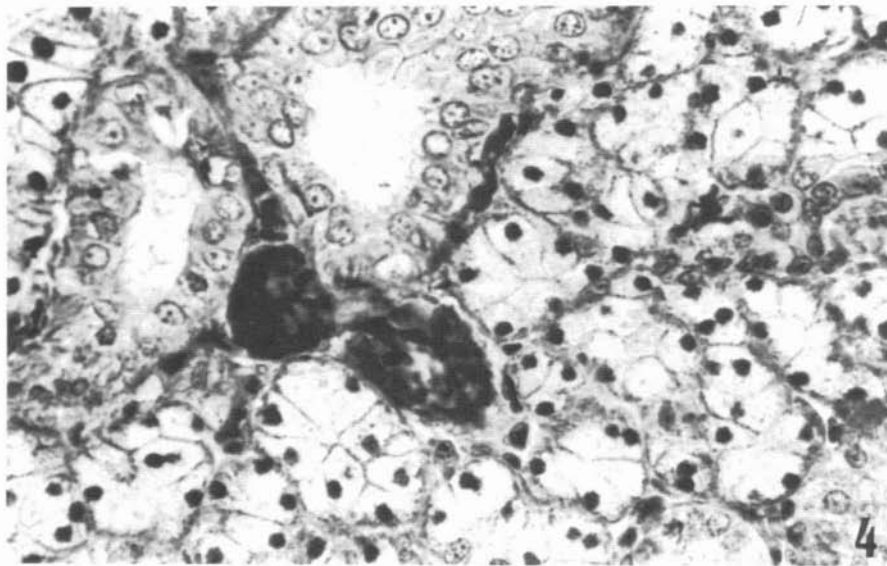
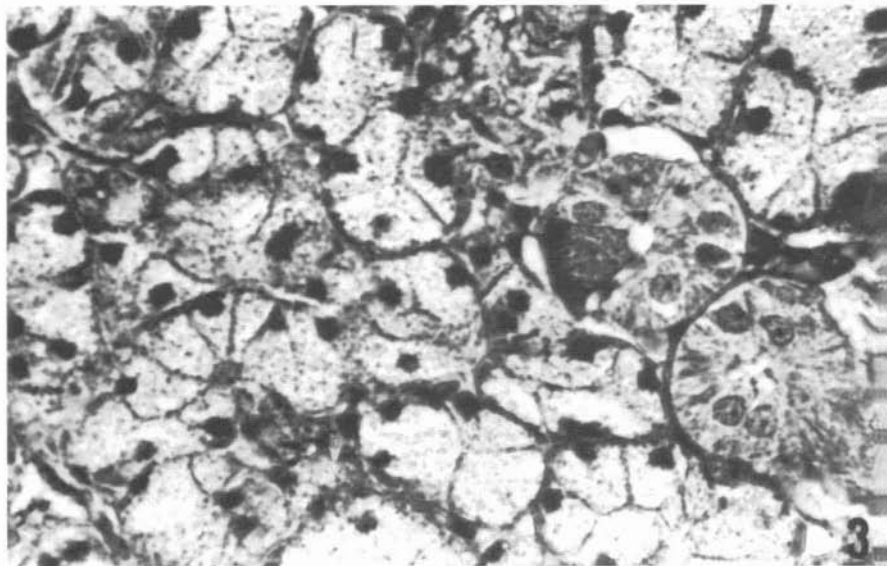


FIGURA 3 - Glândula submandibular de rato 72 horas após a irradiação X (1,80 Gy) localizada, mostrando células acinares com pleomorfismo celular e granulação citoplasmática evidente. Os ductos (à direita) exibem células com perda de polaridade, pleomorfismo e, em algumas áreas, a presença de cariorrexe e hiperchromatismo (Tricrômico de Masson, 400x).

FIGURA 4 - Glândula submandibular de rato 7 dias após a irradiação X (1,80 Gy) localizada, apresentando discreto pleomorfismo de células acinares e com células dos ductos (canto superior esquerdo) com perda de polaridade nuclear, nucléolos evidentes e vacuolizações citoplasmáticas. Os vasos sanguíneos adjacentes aos ductos apresentam-se com tamanho aumentado e ingurgitados de hemácias (Tricrômico de Masson, 400x).

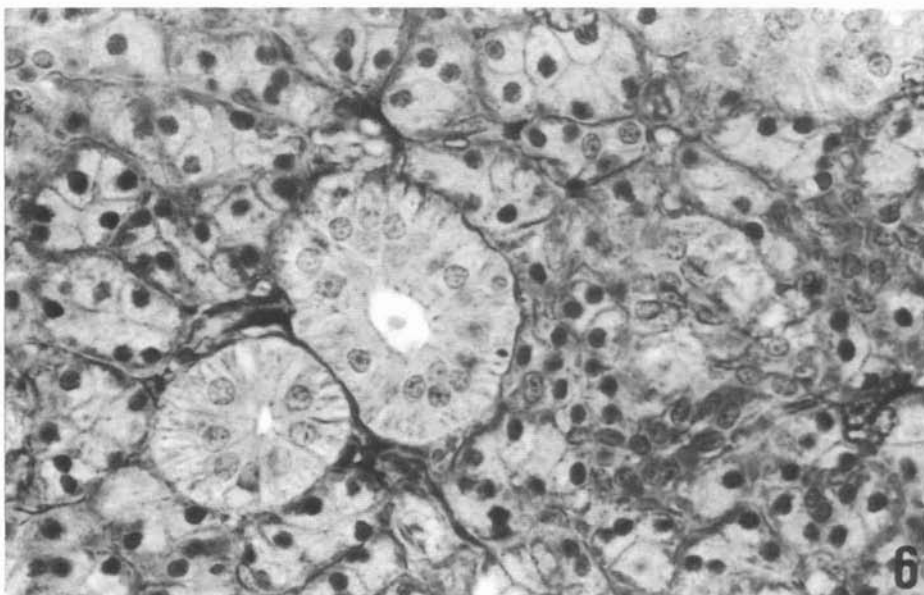
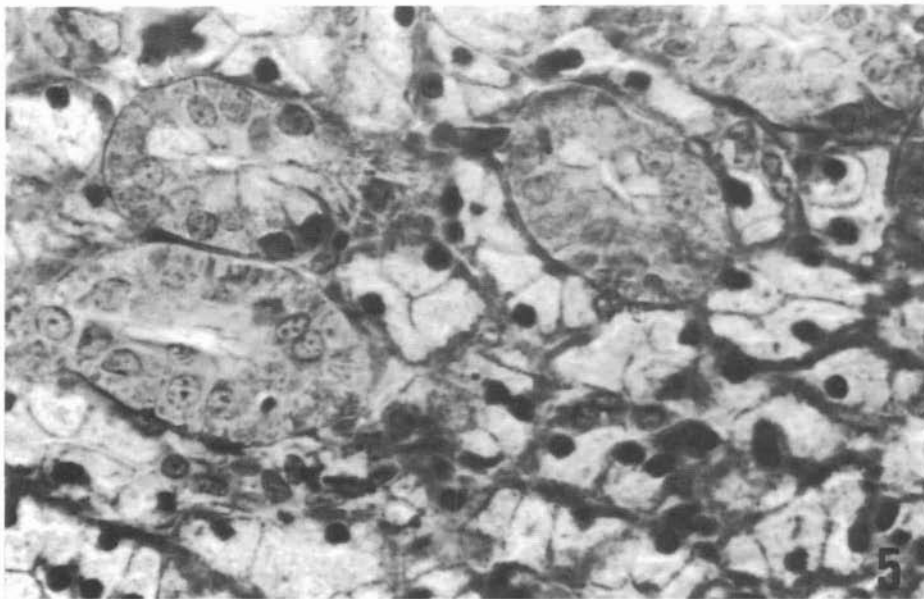


FIGURA 5 - Glândula submandibular de rato 14 dias após a irradiação X (1,80 Gy) localizada, com pleomorfismo e hiper cromatismo dos núcleos das células acinares, havendo também nos ductos alteração de polaridade, cariorexe e hiper cromatismo nuclear (Tricrômico de Masson, 400x).

FIGURA 6 - Glândula submandibular de rato 21 dias após a irradiação X (1,80 Gy) localizada, com discreto pleomorfismo acinar e ductos estriados de aspecto normal (Tricrômico de Masson, 400x)

Os danos não foram severos em nenhum grupo, e as modificações celulares observadas variaram de discretas a moderadas, não ocorrendo destruição aparente ou diminuição na quantidade de ácinos serosos; a arquitetura do parênquima glandular permaneceu relativamente inalterada, não sendo observadas áreas nem de necrose nem de fibrose até o 21º dia após a irradiação, o que é comumente descrito quando se utilizam doses elevadas de radiação X.<sup>1,6,8,9,10</sup> Essas observações sugerem que as alterações celulares ocorridas nos períodos iniciais tenderam a se regenerar a partir do sétimo dia.

A vacuolização celular observada nos ductos estriados indica que as células provavelmente sofram processos degenerativos. Porém, como não foram observadas morte celular ou áreas de necrose em nenhum período, pode-se supor que ocorra alteração reversível das células, com posterior regeneração destas. Provavelmente, após a remoção do agente agressor, as células retornem à normalidade fisiológica.

Em algumas glândulas, os vasos sanguíneos mostraram-se hiperêmicos. Alterações vasculares também foram observadas em estudos em que se utilizaram elevadas doses de radiação X, sendo também comum a observação de descamação epitelial, aumento da densidade capilar e trombose vascular.<sup>13</sup>

Pode-se observar, neste trabalho, que as modificações morfológicas iniciais ocorreram de forma mais intensa principalmente nos ácinos, enquanto as modificações das células dos ductos ocorreram mais tardiamente perdurando por tempo mais prolongado, sendo visíveis ainda nos períodos finais (14 e 21 dias). Este fato talvez se deva ao possível metabolismo mais ativo das células acinares e, conseqüentemente, à sua maior rapidez para regeneração em relação às células dos ductos; no entanto, estas suposições necessitam de outros estudos para seu esclarecimento.

Sabe-se que alterações na morfologia celular devido à irradiação X podem ser acompanhadas ou precedidas por mudanças de natureza molecular, detectáveis por técnicas de análise histoquímica e/ou bioquímica.<sup>2, 3, 5</sup>

Além da análise morfológica em microscopia de luz, métodos histoquímicos, bioquímicos e morfométricos em nível de microscopia de luz e eletrônica de transmissão, entre outros, poderiam ser bem aplicados em trabalhos em que se utilizam doses baixas de radiação X, pois são bastante sensíveis, possibilitando a detecção de várias modificações ainda que muito discretas ou precoces.

## **Conclusão**

Inicialmente, houve modificações mais intensas nas células acinares, enquanto no compartimento de ductos elas ocorreram mais tardiamente. As principais alterações observadas foram pleomorfismo e perda de polaridade nuclear, tanto nas células acinares como nos ductos. Houve regeneração progressiva desses compartimentos, ocorrendo o restabelecimento da normalidade morfológica da glândula. Concluimos, portanto, que a dose de radiação X usada neste trabalho causou modificações morfológicas temporárias e reversíveis.

NAVARRO, C. M. et al. Histomorphological study of submandibular glands of rat submitted to low dosage of x-radiation. *Rev. Odontol. UNESP (São Paulo)*, v.25, n.2, p.259-267, 1996.

- **ABSTRACT:** *The minimal dosage of X-ray that is likely to induce cellular alterations is unknown and there are just a few reports with low dosage in odontologic literature. The authors developed a histomorphological analysis of the submandibular glands of rat that received low dosage of X-radiation. The body of the animals was covered with a lead lamin leaving the cervical area uncovered. The submandibular glands were exposed to 1,80 Gy of X-radiation in a single dose. After 24, 48, 72 hours, 7, 14 and 21 days the glands were excised, fixed and prepared for analysis in light microscopy. Mild degenerative changes and nuclear pleomorfism, mainly on the first three experimental periods were observed.*
- **KEYWORDS:** *Salivary glands; radiation; rats.*

## Referências bibliográficas

- 1 BAKER, D. G. The radiobiological basis for tissues reactions in the oral cavity following therapeutic X-irradiation. *Arch. Otolaryngol.*, v.108, p.21-4, 1982.
- 2 BECCIOLINI, A. et al. Radiation effects on the parotid gland of mammals (Part 4 – biochemical and morphological changes after local irradiation). *Strahlentherapie*, v.156, p.69-72, 1980.
- 3 BECKER, L. Ação de três diferentes níveis de radiação X em germes dentários de camundongos. Resultados morfológicos e enzimáticos. *Rev. Assoc. Paul. Cir. Dent.*, v.36, p.34, 1982.
- 4 BENGTTSSON, G. Maxillo-facial aspects of radiation protection focused a recent research regarding critical organs. *Dentomaxillofac. Radiol.*, v.7, p.5-14, 1978.
- 5 BURNSTONE, M.S. A histochemical study of normal and irradiated salivary gland in the mouse. *Anat. Rec.*, v.115, p.543-57, 1953.
- 6 CHERRY, P., GLUCKSMANN, A. Injury and repair following irradiation of salivary glands in male rats. *Br. J. Radiol.*, v.32, p.596-608, 1959.
- 7 CHEYNE, V. D. A description of the salivary glands of the rat and a procedure for their extirpation. *J. Dent. Res.*, v.18, p.457-68, 1939.
- 8 CREMONINI, D. et al. Radiation effects on the parotid gland mammals. Part: modification on the morphology and uptake on elimination after <sup>14</sup>C-leucine administration. *Strahlentherapie*, v.155, p.508-11, 1979.
- 9 FAJARDO, L. F., BERTHRONG, M. Radiation injury in surgical pathology. Part III – salivary glands, pancreas and skin. *Am. J. Surg. Pathol.*, v.5, p.279-96, 1981.
- 10 HARWOOD, T. R. et al. Histopathology of irradiated and obstructed submandibular salivary glands. *Arch. Pathol. Lab. Med.*, v.96, p.189-91, 1973.
- 11 RICHARDS, A. G. The production of erythema of the skin by exposure to X-ray radiation. *J. Dent. Res.*, v.34, p.100-3, 1955.



- 12 RICHARDS, A. G., MICH, A. A. How hazardous in dental roentgenography. *Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol.*, v.14, p.40-51, 1961.
- 13 SHOLLEY, M. M., SODICOFF, M., PRATT, N. E. Early radiation injury in the rat parotid gland. Reaction of acinar cells and vascular endothelium. *Lab. Invest.*, v.31 p.340-54, 1974.
- 14 SODICOFF, M., PRATT, N. E., SHOLLEY, M. M. Ultrastructural radiation injury of rat parotid gland: a histopathologic dose-response study. *Radiat. Res.*, v.58, p.196-208, 1974.
- 15 SPOSTO, M. R. *Considerações estruturais e histoquímicas da glândula parótida de ratos adultos (Holtzmann) submetida à exposição aos raios X*. Araraquara, 1988. Tese (Doutorado em Odontologia) – Faculdade de Odontologia, Universidade Estadual Paulista.
- 16 TATUM, R. C., DANIELS, R. The correlation of radiotherapy to salivary gland reduction and increased caries incidence a caries control method. *Quintessence Int.*, v.13, p.9-11, 1982.
- 17 WACHSMANN, F. Las doses pequeñas, son peligrosas in realidad? *Electromedica*, v.55, p.86-90, 1987.
- 18 WARREN, S. Effects of radiation on normal tissues. In: HOLLAENDER, A. Radiation biology. New York: *Mc Graw-Hill*, 1954. p.443-50.
- 19 WUERMANN, A. H. *Radiation protection in dentistry*. St. Louis: Mosby, 1960. p.37-93.

Aceito para publicação em 23.5.1996.