

EFEITOS DA RADIAÇÃO ELETROMAGNÉTICA NA GLÂNDULA SUBMANDIBULAR DE FETOS DE RATO

EFFECTS OF RADIOFREQUENCY RADIATION ON SUBMANDIBULAR GLAND OF RAT FOETUS

Antonio Carlos Marconi STIPP
Faculdade de Odontologia de Bauru - USP.

Sissiane Aparecida Tovo ABUD
Faculdade de Odontologia de Lins.

José Enrique Rodas DURAN
Faculdade de Filosofia Ciências e Letras de Ribeirão Preto - USP.

A radiação eletromagnética (REM) na faixa de rádio-frequência (rf) que ocupa de 300 KHz a 300 MHz é utilizada atualmente para inúmeros fins industriais, médicos e científicos. A REM ao interagir com materiais biológicos pode ser transmitida, absorvida e refletida em vários graus, podendo resultar tanto em efeitos benéficos medicinais quanto em danos biológicos. Esse trabalho teve o objetivo de estudar morfometricamente os possíveis efeitos da radiofrequência e de gradientes de campos magnéticos em glândulas submandibulares de fetos de ratos. Para tal, foram irradiadas fêmeas com rf de 20 MHz, 7,4 mW de potência e SAR=30 mW/kg (Specific Absortion Rate), durante 10 minutos diários, até o 20^o dia de gestação, após o qual foram sacrificadas. Seus fetos foram retirados e processados para análise em microscópio de luz. Foram feitas avaliações morfométricas da densidade de volume, volume absoluto e relação núcleo-citoplasma das células de túbulos terminais, vasos sanguíneos e tecido conjuntivo da glândula submandibular. A comparação dos resultados pela análise de variância demonstrou ocorrer um significativo aumento da densidade de volume e volume absoluto nuclear e citoplasmático das células dos túbulos terminais do grupo irradiado em relação ao controle. Em relação as células de ductos não houve diferença estatística significativa. A densidade de volume de tecido conjuntivo foi maior no controle. Em base a esses dados é possível pressupor que radiações eletromagnéticas mesmo as de baixa intensidade podem promover alterações volumétricas de células dos túbulos terminais.

Unitermos: Radiação, efeitos; Glândula submandibular; Ratos.

INTRODUÇÃO

A radiação eletromagnética (REM) na faixa de radiofrequência (rf) entre 300 KHz e 300 MHz é amplamente utilizada na indústria e medicina. Uma das aplicações mais recentes é a técnica de obtenção de imagens por ressonância magnética nuclear⁴.

Defeitos físicos ao nascimento e retardamento no desenvolvimento pós-natal de crianças de mães expostas a altas intensidades de radiação de radiofrequência e microondas em tratamento diatérmico são relatadas a partir da década de 50^{3,5,9}.

Outros efeitos danosos descritos foram irregularidade no ciclo menstrual e decréscimo de lactação em humanos, e catarata em coelhos e cães. Em ratos foram observadas alterações morfológicas na glândula tireóide, aumento da incidência de câncer em glândulas endócrinas, além de malformação em fetos de ratas prenhas irradiadas¹. Entretanto, é descrito um aumento de capacidade de regeneração hepática de ratos parcialmente hepatectomizados submetidos a campos eletromagnéticos¹¹.

Por outro lado, existem controvérsias sobre o assunto sob a alegação de que as alterações causadas pela radiação eletromagnética deve-se a seus efeitos diatérmicos. Para se evitar esses efeitos pesquisa-se, atualmente, a influência das radiações de baixo nível de rf que não promovem o aumento de temperatura. Assim, TOFANI et al.¹²(1986) irradiaram ratas prenhas continuamente na faixa de 27,12 MHz e baixa potência (0,1 mW) observando alterações na ossificação cranial dos fetos.

No presente estudo buscou-se verificar possíveis alterações em base numérica, na glândula submandibular de fetos de ratas submetidas a radiação de rf de baixa intensidade durante a prenhez através de métodos morfométricos.

MATERIAL E MÉTODOS

Fêmeas de ratos albinos com idade aproximada de 4 meses e aproximadamente 180 gramas de peso corpóreo foram acasaladas com machos da mesma linhagem na proporção de 4 fêmeas para cada macho em final de tarde. Constatado o coito pelo esfregaço vaginal, as fêmeas eram pesadas e separadas para a experimentação, constituindo-se dois grupos de cinco animais (grupo controle e irradiado).

As fêmeas do grupo irradiado foram expostas a rf em 20 MHz e potência eletromagnética de 7,4 mW

diariamente, no mesmo horário, durante 20 dias de gestação, num sistema de irradiação composto basicamente por geradores de ondas HP 3310A e bobinas de rf e de Maxwell. O grupo controle foi submetido ao método de contenção da mesma maneira que o grupo irradiado, porém com os aparelhos desligados.

No 20º dia de gestação, as fêmeas de ambos os grupos foram sacrificadas por inalação de éter sulfúrico e os fetos retirados e fixados em líquido de Bouin por 12 horas. As cabeças dos fetos seccionadas transversalmente na região mediana foram desidratadas e incluídas em parafina. Dos blocos obteve-se cortes semi-seriados com 7 µm de espessura posteriormente corados pelo método tricrômico de Masson.

A densidade de volume dos núcleos e do citoplasma das células dos túbulos terminais e ductos da glândula submandibular, bem como de vasos sanguíneos e tecido conjuntivo foi realizada pelo método de Chalkley, segundo as indicações de WEIBEL¹³(1966), pelo qual:

$$V_{vi} = \frac{P_{pi}}{P}$$

onde,

V_{vi} = densidade de volume;

P_{pi} = n^0 de pontos coincidentes com a estrutura considerada;

P = n^0 total de pontos.

Para a contagem de pontos (P_{pi}) em 25 campos por amostra, utilizou-se de uma ocular Kpl 8x Zeiss acoplada a um retículo de 100 pontos e objetiva 100x de imersão (Zeiss). A sobrestimativa da densidade de volume (efeito Holmes) do núcleo foi corrigida pela fórmula:

$$K_0 = 1 + \frac{3t}{2D}$$

onde,

K_0 = fator de correção;

t = espessura do corte;

D = diâmetro médio do núcleo.

O volume absoluto dos núcleos, considerados esféricos, foi calculado pela fórmula geométrica da esfera:

$$V = 4/3 \pi r^3$$

onde,

r = raio médio do núcleo

O raio médio foi calculado à partir de medidas diretas dos diâmetros ortogonais na altura do equador do núcleo,

com uma ocular 10x Olympus de filamento deslocável e objetiva 100x Zeiss. Os valores obtidos das medidas de 25 núcleos por amostra foram convertidos em micrometros e o raio calculado através da média geométrica dos diâmetros ortogonais:

$$r = \sqrt{D_1 \cdot D_2 / 2}$$

Conhecendo-se o volume absoluto do núcleo e as densidades de volume do núcleo e citoplasma, calculou-se o volume absoluto do citoplasma por regra de tres simples, e por somatória o volume absoluto celular.

Os dados obtidos foram submetidos a análise de variância segundo as indicações de Gomes (1970).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A faixa de rf (20 MHz) e potência de 7,4 mW corresponde a uma SAR de 30 mW/kg (Taxa de Absorção Específica), cujo valor dá uma idéia da quantidade de absorção da radiação e é diretamente proporcional a potência e inversamente proporcional ao peso. Para esse cálculo, utilizou-se do peso médio obtido dos pesos inicial

e final de cada fêmea irradiada e no decorrer da experimentação.

A energia (E = P . t) absorvida pela fêmea por sessão de radiação foi em média de 1,06 cal. Segundo dados da literatura¹² a SAR empregada neste trabalho é extremamente baixa e como consequência, insuficiente para gerar efeitos diatérmicos; assim, quaisquer tipos de alterações que porventura fossem observados, seriam devidos a própria radiação e não a respostas tissulares por aumento de temperatura.

Como foi observado em ratas prenhes submetidas a radiações de radiofrequência de baixa intensidade durante a gestação, geraram fetos à termo que apresentaram espessamento no epitélio da mucosa palatina e epiderme da região plantar, notadamente na camada basal; hipoteticamente, por alteração morfológica ou de orientação do eixo maior das células dessa camada¹.

No presente trabalho também observou-se alterações, como podem ser verificadas na tabela de resultados, na qual também consta o desvio padrão calculado para cada parâmetro analisado e a indicação das amostras que

apresentaram diferenças estatísticas significantes a nível de 1% e 5% de probabilidade.

A análise dos resultados obtidos mostra que a densidade de volume celular, nuclear e citoplasmático, bem como o volume celular absoluto das células dos túbulos terminais apresentam valores maiores nos fetos irradiados em comparação ao grupo controle, com significância estatística a nível de 0,01 e 0,05 de probabilidade. Essa hipertrofia celular pode ser devida exclusivamente a rf, já que se descarta os efeitos diatérmicos pela baixa potência utilizada. A relação núcleo/citoplasma menor nos animais irradiados é consequente a um marcante aumento do volume citoplasmático.

TABELA - Resultados morfométricos da glândula submandibular de fetos de rato à termo submetidos à radiações de radiofrequência (rf)

Tipo Celular	Tratado	Controle
TÚBULO TERMINAL		
Densidade de vol. célula	* 0,421 ± 0,0471	0,309 ± 0,0567
Densidade de vol. nuclear	**0,223 ± 0,0258	0,176 ± 0,0266
Dens. vol. citoplasmático	* 0,198 ± 0,0251	0,133 ± 0,0309
Relação núcleo/citopl.	***1,132 ± 0,1083	1,345 ± 0,1548
Volume da célula (µm ³)	**139,663 ± 13,8874	132,680 ± 13,9590
Volume nuclear (µm ³)	74,155 ± 7,3734	76,100 ± 9,7260
Vol. citoplasmático(µm ³)	65,508 ± 6,5140	56,580 ± 7,2330
DUCTO		
Densidade de vol. célula	0,024 ± 0,0202	0,049 ± 0,0286
Densidade de vol. nuclear	0,012 ± 0,0101	0,029 ± 0,0169
Dens. vol. citoplasmático	0,012 ± 0,0088	0,020 ± 0,0117
Relação núcleo/citopl.	1,314 ± 0,9564	1,392 ± 0,1033
Volume da célula (µm ³)	166,166 ± 25,1108	130,745 ± 13,326
Volume nuclear (µm ³)	94,356 ± 14,2587	76,087 ± 7,7544
Vol. citoplasmático(µm ³)	71,810 ± 10,8520	54,658 ± 5,7140
ESTROMA		
Dens. vol. vasos sanguíneos	0,052 ± 0,0349	0,048 ± 0,0289
Dens. vol. tec. conjuntivos	**0,503 ± 0,0407	0,595 ± 0,0331

* amostras estatisticamente # a nível de 1% (p<0,01)

** amostras estatisticamente # a nível de 5% (p<0,05)

± desvio padrão

No compartimento dos ductos, observou-se que a densidade de volume foi maior no controle para todos os parâmetros, enquanto que para o volume absoluto os valores foram maiores para os tratados, o que poderiam indicar também uma hipertrofia das células deste compartimento; entretanto, os testes estatísticos empregados não demonstraram haver significância, devido a baixa frequência dessas estruturas, ou seja, menos de 5% do volume da glândula. Os valores obtidos para o estroma refletem as diferenças observadas nos compartimentos ductular e túbulo terminal.

Tendo como base os resultados obtidos no presente trabalho fica reforçada a hipótese já aventada nos trabalhos de TOFANI et al.¹²(1986) e ABUD¹(1992) de que ondas de radiofrequência de baixa intensidade causam alterações celulares em diferentes tipos de tecidos durante o desenvolvimento pré-natal. Os mecanismos que levam a estas alterações não são conhecidos, entretanto, em se sabendo ser a molécula da água polarizada, esta vibra sob ação de ondas eletromagnéticas proporcionalmente a potência da radiação gerando o efeito diatérmico. Desta maneira, pode-se supor que as radiações de rf de baixa potência apesar de não promover um aumento de temperatura considerável, podem interferir no transporte de água acarretando o seu acúmulo intracelularmente que se refletiria nas aparentes alterações volumétricas observadas neste trabalho.

A menos que se prove o caráter actínico da rf, ou seja, a capacidade de exercer ação química sobre certas substâncias, as lesões a ela atribuídas podem ser devidas aos efeitos diatérmicos no caso da alta potência ou a essa possível alteração de transporte de água nas radiações de baixa potência.

ABSTRACT

The electromagnetic radiation (EMR) in radiofrequency (rf) band between 300 KHz/300 MHz has been a large utilization in industrial, medical and scientific areas. EMR when applied to biological material can be transmitted, absorbed and reflected in various degrees, and to result in beneficial or maleficent effects. The present work had an objective of studying morphometrically the submandibular gland of rats foetus, whose mothers were exposed to radiofrequency radiation of 20th MHz frequency; that females were irradiated 10 minutes daily, from the 1st to 20th day of pregnancy. The electromagnetic power applied was of 7,4 mW and (Specific Absorption Rate) SAR = 30 mW/kg, considered being low intensity

radiation. The morphometric analysis demonstred that the cells of terminal tubules had significant growth of absolut volume and volume density in the treated group. The are no difference statistically significant in other glandular structures, except the connective tissue density that presented greatest in the control group. This data suggest that electromagnetic radiation of low intensity can be promoted volumetric alterations in terminal tubules cells.

UNITERMS: Radiation, effects; Submandibular gland; Rats.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1- ABUD, S.A.T. Efeitos da radiofrequência e gradientes de campos magnéticos na mucosa palatina e tecido epitelial da planta do pé de fetos de rato. Ribeirão Preto, 1992. Tese (Mestrado) - Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo.
- 2- BASSET, C. A. L. Low energy pulsing eletromagnetic fields modify biomedical processes. *Bio Essays*, v. 6, p. 36-42, 1987.
- 3- COCOZZA, G. et al. Remarks on short wave embriopathy. *Pediatrics rivista d'igirme med e chir. dell'infanzia*, v. 68, p. 7-23, 1960.
- 4- EDWARDS, M. J. Congenital defects due to hyperthermia. *Adv. Vet. Sci. Comp. Med.*, v. 22, p. 29-52, 1978.
- 5- GHETTI, A. Short wave embriopathy: experimental clinical contribution. *Minerva Nipiol.*, v. 5, p. 7-12, 1955.
- 6- GOMES, F. P. *Curso de estatística experimental*. 4. ed. Piracicaba, Ed. Nobel, 1970.
- 7- LARY, J. M.; CONOVER, D. L. Teratogenic effects of radiofrequency radiation. *IEEE Engineering in Medicine and Biology Magazine*, v.12, p. 42-6, 1987.
- 8- MANSFIELD, P.; MORRIS, P. G. N.M.R. *Imaging in biomedicine: advances in magnetic resonance*. London, Academic Press, 1982. Supplement 2.
- 9- MARCHESE, G. S. Premature birth and multiple congenital malformations due to short waves. *Minerva Nipiol.*, v.3, p. 100, 1953.
- 10- MICHAELSON, S. M. Health implications of exposure to radiofrequency microwave energies. *Br. J. Ind. Med.*, v. 39, p. 105-19, 1982.
- 11- OTTANI, V. Influence of pulsed electromagnetic fields on regenerating rat liver after partial hepatectomy. *J. Anat.*, v. 139, p. 253-63, 1984.

- 12- TOFANI, S. et al. Effects of continuous low-level exposure to radiofrequency radiation on intrauterine development in rats. **Health Physics**, v. 51, n. 4, p. 489-99, 1986.
- 13- WEIBEL, E. R. et al. Practical stereological methods for morphometric cytology. **J. Cell. Biol.**, v. 30, p. 23-38, 1966.