

Deposição do radiofósforo em tecidos osseo e dentário demonstrada pela técnica autográfica (*)

por

Antonio Couceiro

(Com 8 figuras no texto)

O uso de radioisótopos em biologia tornou possível acompanhar grande parte dos fenômenos ocorrentes durante o processo de metabolização de alguns elementos, fornecendo critério quantitativo para a avaliação desta metabolização, critério de fidelidade e de precisão muito maiores que a dos demais métodos até então utilizados. Foi o auxílio prestado pelos radioisótopos ainda mais distante, possibilitando, por intermédio da técnica autográfica, a demonstração da maneira pela qual se distribuem no interior dos tecidos após terem sido injetados em seres vivos, apontando assim o destino seguido pelos seus isótopos estaveis, em condições normais.

A técnica autográfica, primeiramente descrita por LACASSAGNE e LATTES (1), que a empregaram para a localização do polônio nos tecidos de animais previamente injetados com esse elemento, e, mais tarde, por HAMILTON, SOLEY e EICHORN (2) localizando o radioiôdo no interior da glândula tireóide, baseia-se na capacidade que tem os elementos radioativos em desintegração de sensibilizarem a emulsão de uma placa fotográfica posta em sua vizinhança. A imagem que se obtem na placa fotográfica é o que os autores primeiro citados chamam de "autoradiografia", e que atualmente se denomina, simplesmente, — autógrafo.

O autógrafo é apenas suficiente para realizar demonstrações regionais, não se prestando para discriminações histológicas, nem intracelulares, nem presta informes sôbre a fração inorgânica, não ligada organicamente, que devido à sua labilidade é facilmente solubilizada e arrastada nos líquidos utilizados para a fixação, inclusão e demais tempos de montagem dos cortes

(*) Trabalho realizado no Laboratório de Biofísica (Fac. Nac. Medicina), dirigido pelo Prof. Carlos Chagas e, em parte, subvencionado por Guilherme Guinle.

* Recebido para publicação a 8 de novembro e dado à publicidade em dezembro de 1944.

histológicos. No presente trabalho nós apresentamos alguns resultados autográficos colhidos com o emprego de uma solução de fosfato, tornada radioativa pela adição do isótopo P^{32} (**).

MATERIAL E TÉCNICA

Camundongos com 24 horas de nascidos, foram injetados por via subcutânea com 0.025 ml de solução de radiofosfato, contendo aproximadamente 67 gramas de fosfato e uma radiotividade que durante nossas experiências decresceu de 42 para 11 microcuries. Os animais foram decapitados após um período de tempo que variou de 2 a 72 horas após a injeção

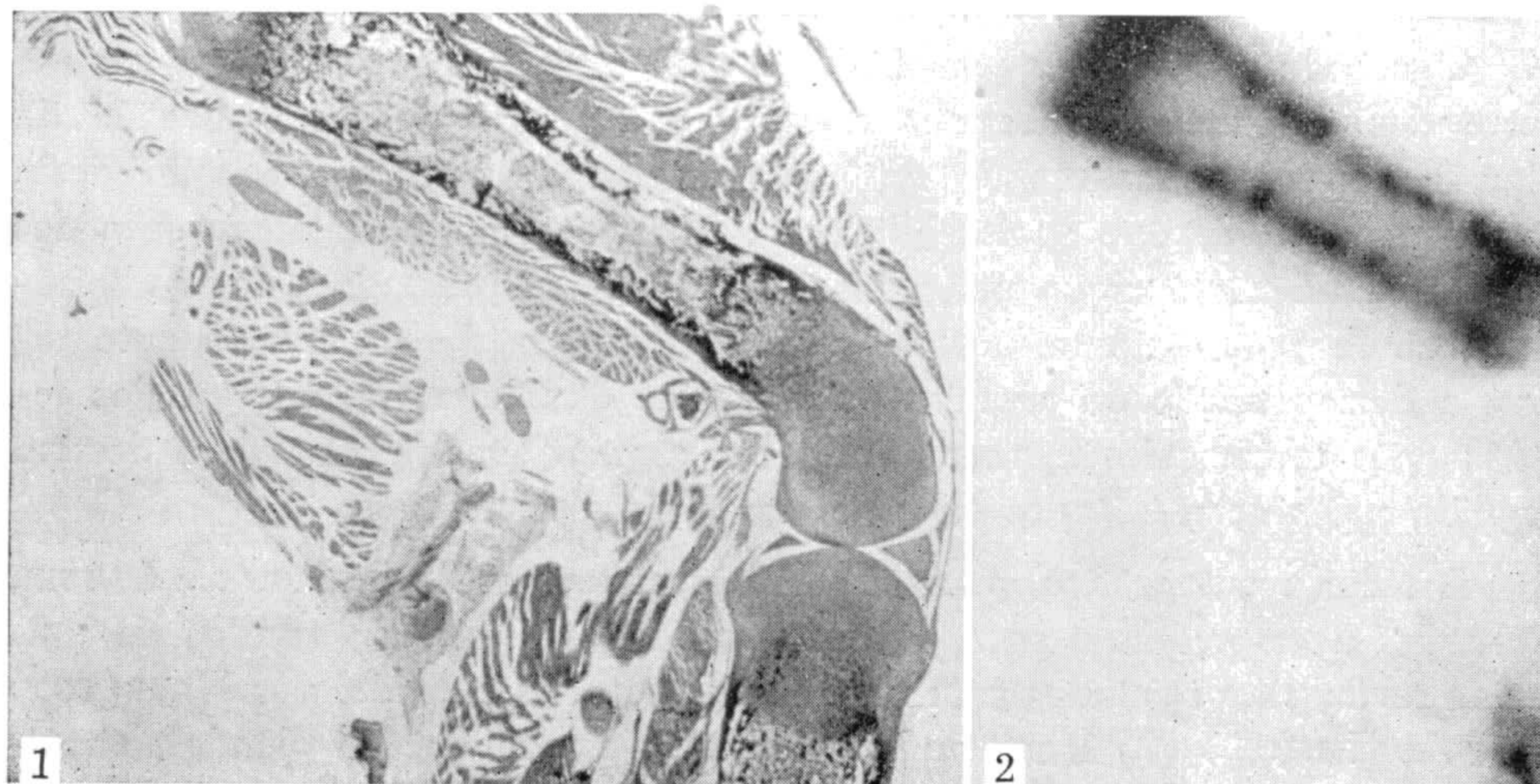


Fig. 1 — Camundongo 13 D. — Corte histológico. Femur. Coloração pelo nitrato de prata e pela H. E. Aumento 2x10

Fig. 2 — Mesmo corte anterior. Autografado 48 horas após a injeção de P^{32} . Aumento 2x10

de radiofosfato. Imediatamente foram retirados o sternum, femur, maxilar inferior, coluna vertebral e uma pata. A fixação se fez em formol do comercio a 10%, neutralizado. Inclusão em parafina, cortes de 10 micra de espessura. Supercolagem com solução de colódio a 0,5%. Em camara escura os cortes são colocados em contacto com placas fotográficas, cuidando-se para que a face da lâmina contendo o preparado histológico fique em imediato contacto com a face emulsionada da placa fotográfica. Placa e lâmina, bem juntas, são deixadas na câmara escura por um período de tempo

(**) O radiofósforo utilizado nesta pesquisa nos foi gentilmente enviado pelo Prof. R. D. Evans, do Massachusetts Institute of Technology.

variavel com a intensidade radiotiva da solução de fosfato empregada, e que deve ser determinado para cada série de autografias. A revelação e a fixação das placas fotográficas são feitas da maneira costumeira. O corte histológico é tratado por alguns minutos por um banho AgNO_3 , solução a 2%, e, posteriormente, por água destilada, pirogalol a 1%, água destilada, tiosulfato a 5%, e água em abundância. Em seguida se realiza a coloração pela hematoxilina-eosina e se comparam as imagens autográfica e histológica.

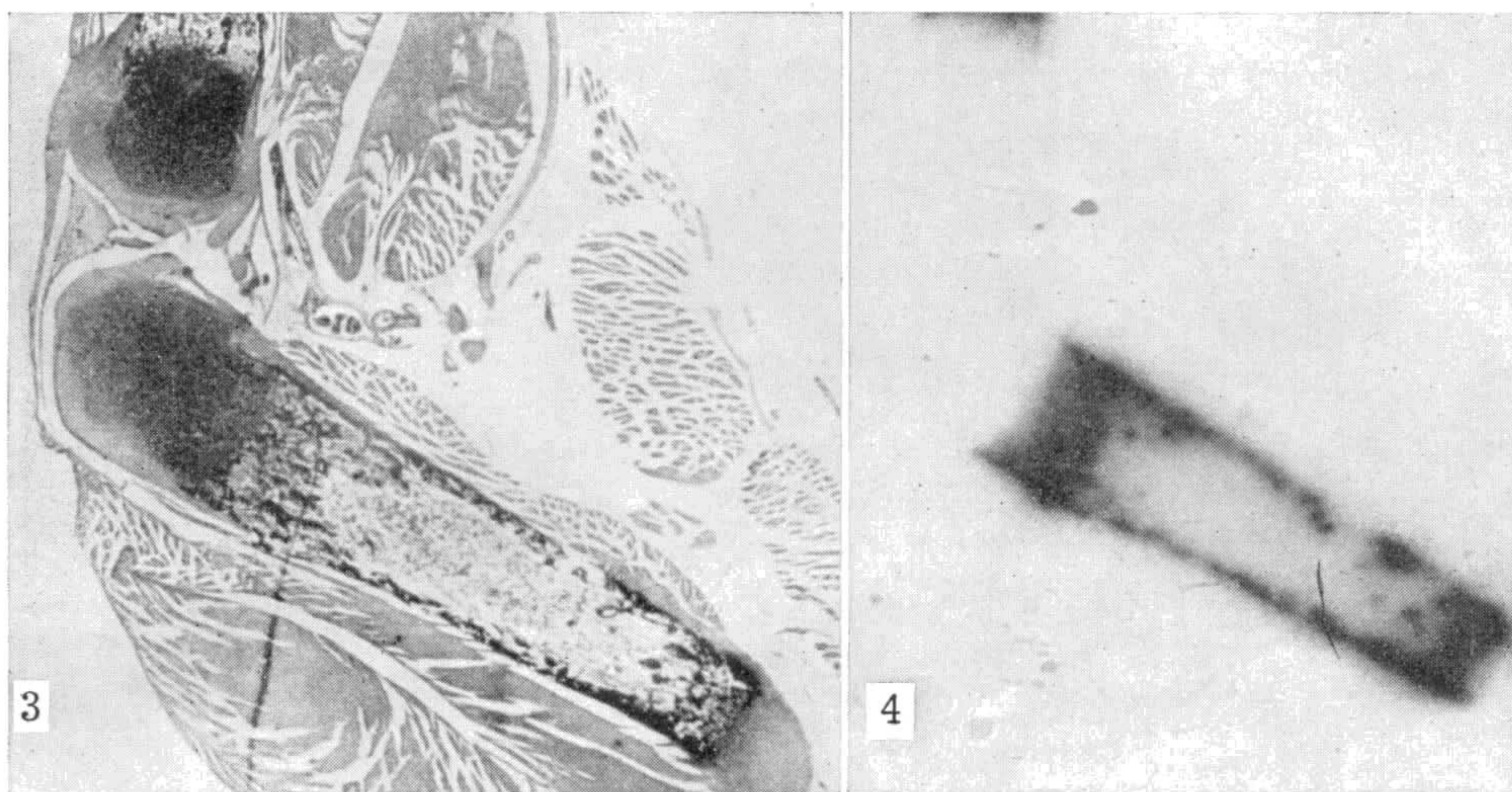


Fig. 3 — Camondongo 13 F. — Corte histológico. Femur. Impregnação pelo nitrato de prata e coloração pela H. E. Aumento 2x10

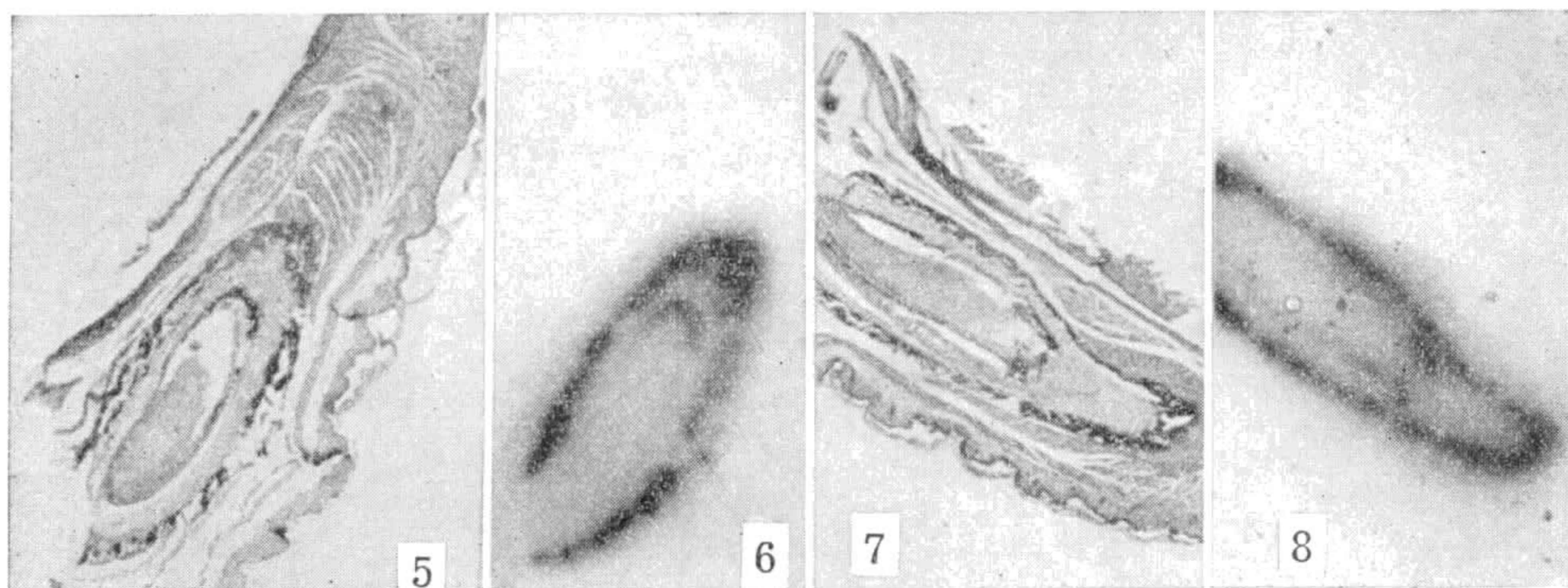
Fig. 4 — Autografado do corte anterior. 24 horas após a injeção do P^{32} . Aumento 2x10

COMENTÁRIOS

O exame de algumas dezenas de autógrafos obtidos com o emprego de radiofósforo nos possibilitou constatar uma deposição praticamente igual em autógrafos realizados com períodos de tempo após a injeção do radiofósforo muito variáveis: de 2 a 72 horas. Isto nos aponta um rápido equilíbrio no mecanismo de trocas minerais entre os tecidos osseo e dentario e o meio circulante. A deposição de radiofósforo é mais intensa no tecido osseo mas devemos encontrar a explicação deste fato na maior irrigação deste tecido e, conseqüentemente, uma maior área em contacto com o P^{32} da corrente sanguínea e, deste modo, uma maior superfície de absorção. Contudo em cortes em que se encontram tecido osseo e tecido dentário, este se mostra mais au-

tografado que aquele. Cremos que o fósforo existente no tecido dentário, dentina e esmalte, se encontra mais ligado organicamente, menos sujeito às correntes de difusão, capaz portanto de resistir mais que o tecido osseo às manipulações histológicas.

As imagens autográficas por nós obtidas e, algumas delas, aqui divulgadas, são praticamente idênticas àquelas obtidas com a impregnação argêntica. Os nossos resultados foram colhidos em animais muito jovens ainda não totalmente calcificados, e não temos, no momento, elementos para garantir que esta identidade se mantenha quando se comparem autógrafos e



Figs. 5 e 6 — Camondongo 13 D. Corte histológico e autografia do dente incisivo. O corte foi corado pelo nitrato de prata e pela H. E. Aumento 2x10. Autografia realizada 48 horas após a injeção de radiofosforo

Figs. 7 e 8 — Camondongo 13 F. Corte histológico e autografo do dente incisivo. Coloração pela prata e pela H. E. Aumento 2x10. Autografia 24 horas após administração do radiofósforo

cortes histológicos de tecidos totalmente ossificados. E' porém fora de dúvida a importância do método autográfico no estudo da embriologia, patologia e processos de recalcificação osseas. Em trabalho subsequente compararemos os resultados autográficos com os fornecidos pelo método de GOMORRI.

SUMMARY

The A. presents some autographs showing the localization of phosphorus in osseous and dental tissues. The method has furnished a good histological location, absolutely identical to the one obtained with silver impregnation. Autographs were made as soon as two hours after radiophosphate administration, pointing to a fast mineral equilibrium.

BIBLIOGRAFIA

1. — LACASSAGNE, A. e LATTES, J.
1924. Mise en évidence par l'autoradiographie des organes, des localizations histologiques du polonium injecté dans l'organisme. Bull. d'Histol. Appl. 1 : 279-283.
 2. — HAMILTON, J. G., SOLEY, M. H. e EICHORN, K. B.
1940. Deposition of radioactive iodine in human thyroid tissue. Univ. of Calif. Publ. Pharmac 1 : 339-344.
-