
MORFOLOGIA DO TIMO DE COELHOS NOVA ZELÂNDIA BRANCO TRATADOS COM GENTAMICINA

SILVA, Matheus Henrique Magalhães¹
PACHECO, Maria Rita²
GIRARDI, Annita Moraes³
BARALDI-ARTONI, Silvana Martinez⁴

Recebido em: 2012-09-15

Aprovado em: 2013-05-07

ISSUE DOI: 10.3738/1982.2278.816

RESUMO: Considerando-se a importância do timo para o sistema imunológico e o potencial imunodepressor da gentamicina, este estudo objetivou avaliar os efeitos deste aminoglicosídeo sobre a histologia do timo de coelhos da raça Nova Zelândia Branco. Para isto, utilizou-se 20 coelhos adultos, 10 machos e 10 fêmeas, com peso médio de 2,5 kg, hígidos, da raça Nova Zelândia Branco, os quais foram divididos em dois grupos (controle e tratado) com cinco machos e cinco fêmeas cada. Após sete dias de tratamento diário com 4,4 mg/kg de gentamicina por via subcutânea, no oitavo dia, os animais foram sacrificados e seus timos, após coletados, foram fixados em solução de Bouin por 24 horas e processados, rotineiramente, para a inclusão em parafina. Após a microtomia semi-seriada, à espessura de 5 µm, com intervalos de 1000 µm, os cortes histológicos foram corados pelas técnicas do Tricrômico de Masson. Analisou-se, por meio de microscopia de luz, as características morfológicas da cortical e medular dos lóbulos tímicos individualizados destes cortes. Não foram observadas diferenças histológicas entre os sexos ou entre os grupos controle e tratado. Os resultados demonstraram que este antibiótico, utilizado em dose terapêutica e pelo período recomendado, não alterou a morfologia tímica dos animais tratados.

Palavras-chave: Aminoglicosídeo. Antibiótico. Histologia. Imunodepressão.

MORPHOLOGY OF THE THYMUS OF NEW ZEALAND WHITE RABBITS TREATED WITH GENTAMICIN

SUMMARY: Considering the thymus importance for the immune system and the immunodepressive potential of gentamicin, this study aimed to evaluate the effects of this aminoglycoside on the thymus histology of New Zealand White rabbits. For this, it were used 20 adult rabbits, 10 males and 10 females with a mean weight of 2.5 kg, healthy, of the New Zealand White breed, which were divided into two groups (control and treated), with five males and five females each. After seven days of daily treatment with 4.4 mg/kg of gentamicin by subcutaneous injection, on the eighth day the animals were sacrificed and their thymuses, after collected, were fixed in Bouin solution for 24 hours and processed routinely for embedded in paraffin. After the semi-serial microtome with thickness of 5 µm at intervals of 1000 µm, the histological sections were stained using Masson's Trichrome techniques. It were analyzed, by light microscopy, the morphological characteristics of cortical and medullary of thymic individualized lobes of these sections. It was not observed histological differences between sexes or between control and treated groups. The results showed that this antibiotic, used in therapeutic dosage and by the recommended period, did not alter the morphology of the thymus of treated animals.

Keywords: Aminoglycoside. Antibiotic. Histology. Immunodepression

¹ Mestrando em Clínica Médica Veterinária, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias de Jaboticabal, UNESP Univ Estadual Paulista.

² Professor Assistente Doutor, Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias de Jaboticabal, Universidade Estadual Paulista.

³ Doutoranda em Clínica Médica Veterinária, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias de Jaboticabal, Universidade Estadual Paulista. Autor para correspondência. e-mail: annitamgirardi@gmail.com

⁴ Professor Adjunto, Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias de Jaboticabal, Universidade Estadual Paulista.

INTRODUÇÃO

O timo é um órgão do sistema imune formado por lóbulos organizados em região cortical e medular, ambas formadas por linfócitos T (em maior quantidade na cortical), células reticulares epiteliais (em concentração maior na medular) e macrófagos. Suas principais funções são o desenvolvimento de linfócitos T imuno competentes a partir dos precursores da medula óssea, a proliferação de células T maduras não ativadas para a circulação sanguínea e tecidos periféricos, o desenvolvimento da auto tolerância imunológica, a secreção de hormônios e de outros fatores que regulam a proliferação e maturação das células T (YOUNG; HEATH, 2001). Os corpúsculos de Hassal são redemoinhos concêntricos de células reticulares acidófilas e achatadas, que podem ficar intumescidas, queratinizadas e calcificadas centralmente encontrados na região medular do timo (BACHA JUNIOR.; BACHA, 2003).

As propriedades imuno modulatórias dos antibióticos podem ter implicações importantes, particularmente em pacientes com comprometimento do sistema imune (IBRAHIM *et al.*, 1988). Os amino glicosídeos, grupo de antibióticos que inclui a gentamicina, podem produzir graves efeitos tóxicos relacionados à dose e à duração do tratamento (RANG *et al.*, 2004). Alguns autores relatam efeitos imunodepressores da gentamicina como diminuição no título de aglutininas séricas (ALEKSEEV, 1976), supressão da resposta imune (EXON *et al.*, 1989; ARTSIMOVICH *et al.*, 1991), decréscimo da quimiotaxia de neutrófilos (KHAN *et al.*, 1979; BURGALETA *et al.*, 1982), depressão da atividade de macrófagos, neutrófilos e linfócitos (DE SIMONE *et al.*, 1984; MELBY e QUIE, 1984; VILLA *et al.*, 1986; ARIONE *et al.*, 1987; METCALF e WILSON, 1987; BANERJEE *et al.*, 1991; APRIKIAN *et al.*, 1992; SHCHERBAKOVA *et al.*, 1979; PAAPE *et al.*, 1990; SACHA *et al.*, 1999; RAHMAN e MAZUMDER, 2001) e interferência no sistema complemento (NUBILE *et al.*, 1985; LABRO, 2000). Especificamente quanto aos efeitos da gentamicina sobre o timo, Silva *et al.* (2010) não detectaram alterações morfométricas tímicas em coelhos tratados com este aminoglicosídeo.

Assim, considerando-se a importância do timo para a imunidade do organismo e o potencial imunodepressor dos antibióticos, em especial a gentamicina, este trabalho objetivou pesquisar a ocorrência de alterações histológicas tímicas pelo uso deste aminoglicosídeo em coelhos da raça Nova Zelândia Branco.

MATERIAL E MÉTODOS

Para este estudo utilizou-se 20 coelhos adultos, 10 machos e 10 fêmeas, com peso médio de 2,5 kg, hípidos, da raça Nova Zelândia Branco, os quais foram divididos em dois grupos (controle e tratado) com cinco machos e cinco fêmeas cada. Estes animais foram mantidos em gaiolas metálicas individuais, dotadas de comedouros fixos e bebedouros automáticos, com água e ração para manutenção *ad libitum*, alojados no biotério do Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – UNESP, Campus de Jaboticabal.

Após sete dias de tratamento diário com 4,4 mg/kg de gentamicina por via subcutânea, no oitavo dia, os animais foram sacrificados e seus timos, após coletados, foram fixados em solução de Bouin por 24 horas e processados, rotineiramente, para a inclusão em parafina. Após a microtomia semi-seriada, à espessura de 5 µm, com intervalos de 1000 µm, os cortes histológicos foram corados pelas técnicas do Tricrômico de Masson (TOLOSA *et al.*, 2003) e observados à microscopia de luz para a análise morfológica.

Este estudo foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – UNESP Campus de Jaboticabal, protocolo n° 25472/05.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

As características histológicas do timo estão ilustradas nas Figuras 1 a 4. Em todos os grupos experimentais, este órgão mostrou-se envolvido por uma cápsula de tecido conjuntivo denso que originou septos, dividindo o parênquima em lóbulos contínuos e individualizados, formados por uma região periférica fortemente corada, a cortical e por uma região central mais clara, a medular (Figura 1). Os septos inter lobulares de tecido conjuntivo denso apresentaram estruturas como arteríolas, vênulas e vasos linfáticos, morfologicamente normais (Figura 2). Na região medular estavam presentes os corpúsculos de Hassal, característicos do timo e constituídos por células reticulares epiteliais achatadas dispostas em camadas concêntricas (Figuras 3 e 4). Essas evidências estão em conformidade com as descrições de Bacha Júnior, Bacha (2003), Junqueira e Carneiro (2008).

FIGURA 1. Fotomicrografias do timo de coelhos da raça Nova Zelândia Branco, dos grupos tratados com gentamicina (**A**) e controle (**B**), indicando: lóbulos individualizados por septo de tecido conjuntivo denso (seta), região cortical (**RC**) e região medular (**RM**). Tricrômico de Masson

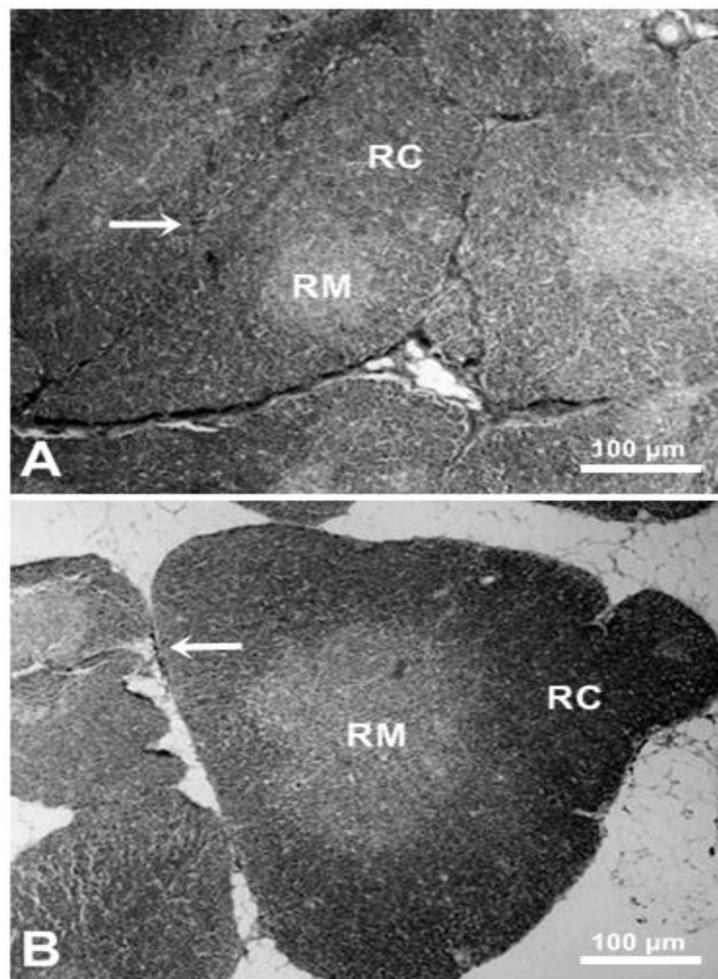


FIGURA 2. Fotomicrografias do timo de coelhos da raça Nova Zelândia Branco, dos grupos tratado com gentamicina (A) e controle (B), indicando: septo interlobular de tecido conjuntivo denso (seta) com arteríola (AR), vênula (VN), vaso linfático (VL) e região cortical (RC). Tricrômico de Masson

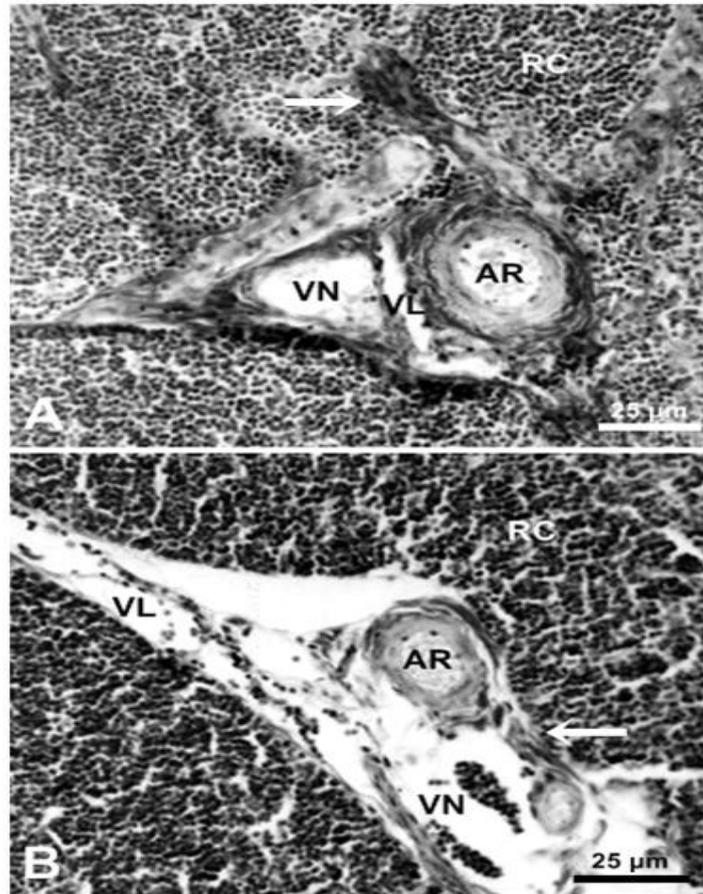


FIGURA 3. Fotomicrografias do timo de coelhos da raça Nova Zelândia Branco, dos grupos tratado com gentamicina (**A**) e controle (**B**), indicando: corpúsculo de Hassal (▶), região medular (**RM**) e região cortical (**RC**). Tricrômico de Masson

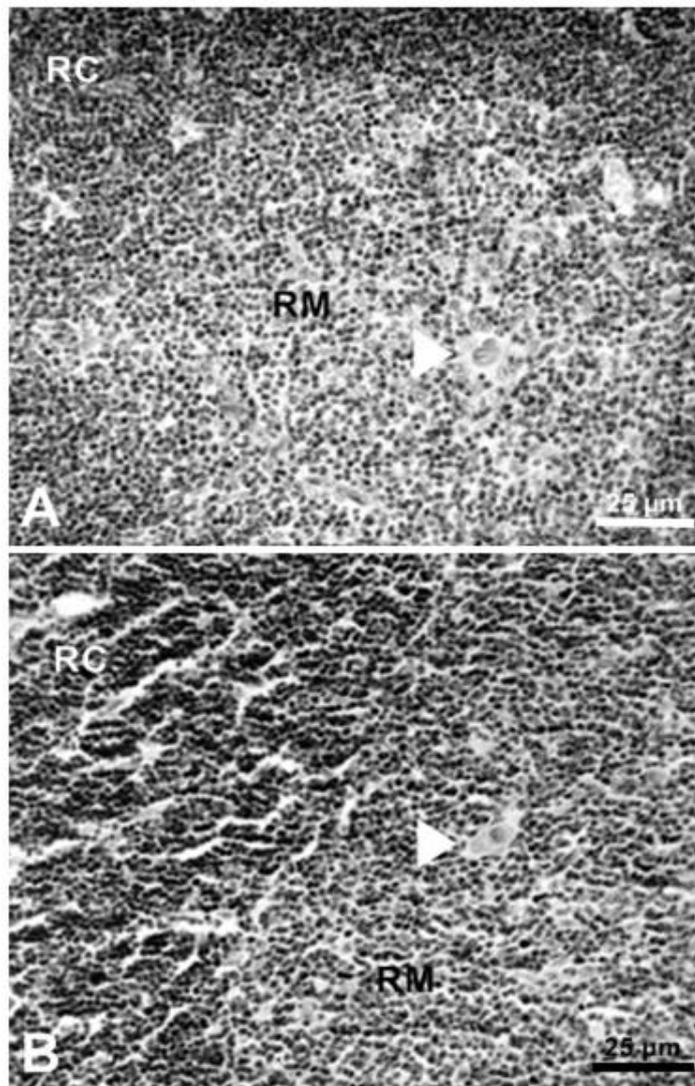
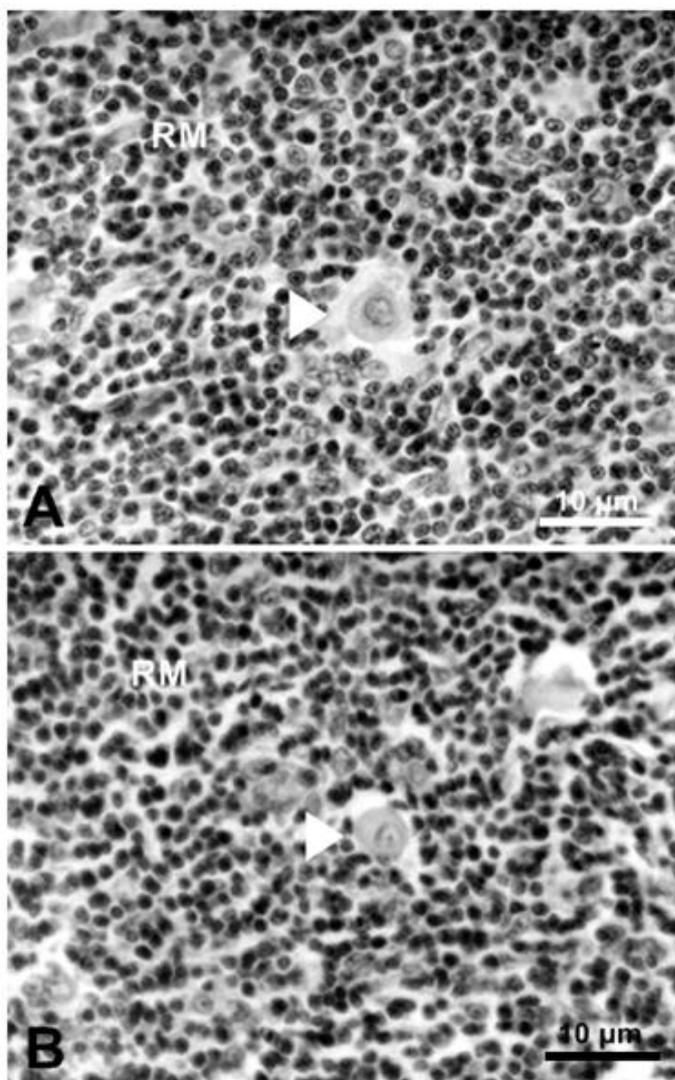


FIGURA 4. Fotomicrografias do timo de coelhos da raça Nova Zelândia Branco, dos grupos tratado com gentamicina (A) e controle (B), indicando: corpúsculo de Hassal (▶), região medular (RM) e região cortical (RC). Tricrômico de Masson



Não foram observadas diferenças morfológicas no timo entre os sexos ou entre os grupos controle e tratado. Esses resultados indicam que a gentamicina, administrada em coelhos da raça Nova Zelândia Branco na dose terapêutica e no período recomendado, não alterou a morfologia do timo. Considerando-se os aspectos morfológicos normais observados nas regiões cortical e medular, formadas por linfócitos, células reticulares epiteliais e macrófagos, pode-se inferir que este aminoglicosídeo não teve ação imunodepressora, dada a ausência de sinais de lesão nas áreas analisadas e, conseqüentemente, das células nelas existentes. Estes achados se respaldam em outras pesquisas, realizadas com o mesmo antibiótico, que não observaram efeitos nocivos deste sobre o sistema imune: Shcherbakova *et al.* (1977), Seklecki *et al.* (1978), Burgaleta *et al.* (1982), El-Hawary *et al.* (1984), Banerjee *et al.* (1991), Aprikian *et al.* (1992), Sakaeva; Lazareva (1998); Sacha *et al.* (1999) não observaram diminuição na fagocitose de granulócitos pela gentamicina; Venezio e Divicenzo (1985) não observaram disfunção de neutrófilos humanos por este antibiótico; Ibrahim *et al.* (1988) verificaram que a gentamicina não alterou as respostas mitogênicas em linfócitos do sangue periférico humano; Aoshiba *et al.* (1995) descreveram que este aminoglicosídeo não

afetou a sobrevivência de neutrófilos isolados e Girardi *et al.* (2010) não observaram alterações morfológicas no baço, importante órgão do sistema imunológico, de coelhos tratados com gentamicina.

Os resultados obtidos corroboram com o descrito por Silva *et al.* (2010), os quais não detectaram alterações morfológicas no timo de coelhos tratados com gentamicina. Finalmente, este estudo confirma as sugestões de Exon *et al.* (1989) quanto ao uso deste aminoglicosídeo na dose adequada e por período de tempo não superior ao recomendado.

CONCLUSÃO

A análise histológica do timo de coelhos da raça Nova Zelândia Branco tratados com gentamicina, à microscopia de luz, permitiu concluir que este aminoglicosídeo, administrado na dose terapêutica e pelo período recomendado, não alterou a morfologia deste órgão.

AGRADECIMENTOS

Ao apoio financeiro concedido pela Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo - FAPESP, por meio de bolsa de Iniciação Científica.

REFERÊNCIAS

ALEKSEEV, A. M. Effect of gentamicin and pentoxyl on the immunological reactivity of the body in the treatment of sepsis caused by *Ps. aeruginosa*. **Antibiotiki**, v. 21, n. 4, p. 358-366, 1976.

AOSHIBA, K.; NAGAI, A.; KONNO, K. Erythromycin shortens neutrophil survival by accelerating apoptosis. **Antimicrobial Agents Chemotherapy**, v. 39, n. 4, p. 872-877, 1995.

APRIKIAN, V. S.; MIKHAILOVA, A. A.; PETROV, R. V. Changes in the phagocytic activity of macrophages under the action of different doses of antibiotics. **Zhurnal Mikrobiologii Epidemiologii i Immunobiologii**, n. 9-10, p. 71-74, 1992.

ARIONE, R.; MARIETTI, G.; DI NOLA, F. Changes in the phagocytic activity of human polymorphonuclear neutrophils induced in vitro by cefotiam vs 6 other antibiotics. **Minerva Medica**, v. 78, n. 13, p. 933-940, 1987.

ARTSIMOVICH, N. G. et al. Study of the immunotropic activity of aminoglycoside antibiotics. **Antibiotiki Khimioterapiya**, v. 36, n. 2, p. 27-29, 1991.

BACHA JR., W. J.; BACHA, L. M. **Atlas colorido de histologia veterinária**. 2 ed. São Paulo: Roca, 2003, 457 p.

BANERJEE, M.; KAMDAR, S.; KSHIRSAGAR, N. A. Effect of antibiotics on polymorphonuclear function in iron deficiency anaemia patients & normal volunteers. **Indian Journal of Medical Research**, v. 94, p. 102-106, 1991.

BURGALETA C.; MARTÍNEZ-BELTRÁN, J.; BOUZA, E. Comparative effects on moxalactam and gentamicin on human polymorphonuclear leukocyte functions. **Antimicrobial Agents Chemotherapy**, v. 21, n. 5, p. 718-720, 1982.

DE SIMONE, C. et al. Pharmacokinetic assessment of immunosuppressive activity of antibiotics in human plasma by a modification of the mixed lymphocyte reaction. **Critical Care Medicine**, v. 12, n. 6, p. 483-485, 1984.

EL-HAWARY, A.; HEMIDA, K.; SABBOUR, M. In vitro effect of some antibiotics on phagocytic index of human neutrophils. **Chemioterapia**, v. 3, n. 6, p. 354-357, 1984.

EXON, J. H. et al. Immunotoxicity assessment of gentamycin and liquamycin. **Veterinary and Human Toxicology**, v. 31, n. 5, p. 427-430, 1989.

GIRARDI, A. M. et al. Morfometria do baço de coelhos Nova Zelândia Brancos tratados com gentamicina. **Revista Científica Eletrônica de Medicina Veterinária**, v. 8, n. 15, 2010. Disponível em: <<http://www.revista.inf.br/veterinaria15/artigos/ANOIII/ED15ART03.pdf>>. Acesso em 21 jun. 2012.

IBRAHIM, M. S. et al. Antibiotics and immunity: Effects of antibiotics on mitogen responsiveness of lymphocytes and interleukin-2 production. **Chemioterapia**, v. 7, n. 6, p. 369-372, 1988.

JUNQUEIRA, L. C.; CARNEIRO, J. **Histologia básica**. 11 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2008, 524 p.

KHAN, A. J. et al. Abnormal neutrophil chemotaxis and random migration induced by aminoglycoside antibiotics. **Journal of Laboratory and Clinical Medicine**, v. 93, n. 2, p. 295-300, 1979.

LABRO, M. T. Interference of antibacterial agents with phagocyte functions: immunomodulation or "immuno-fairy tales"? **Clinical Microbiology Reviews**, v. 13, n. 4, p. 615-650, 2000.

MELBY, K.; QUIE, P. G. Effects of metotrexate, ampicillin and gentamicin alone and in combination on the in vitro locomotion on human polymorphonuclear cells (PMN). **Acta Pathologica, Microbiologica et Immunologica Scandinavica Series C: Immunology**, v. 92C, n. 1-6, p. 331-333, 1984.

METCALF, J. F.; WILSON, G. B. Use of mitogen-induced lymphocyte transformation to assess toxicity of aminoglycosides. **Journal of Environmental Pathology Toxicology and Oncology**, v. 7, n. 4, p. 27-37, 1987.

NUBILE, G. et al. Effects of aminoglycosides on T and B lymphocyte populations: in vitro study. **Quaderni Sclavo di Diagnostica Clinica e di Laboratorio**, v. 21, n. 1, p. 130-134, 1985.

PAAPE, M. J.; NICKERSON, S. C.; ZIV, G. In vivo effects of chloramphenicol, tetracycline, and gentamicin on bovine neutrophil function and morphologic features. **American Journal of Veterinary Research**, v. 51, n. 7, p. 1055-1061, 1990.

RAHMAN, M.U.; MAZUMDER, A. The immunomodulatory effects of gentamicin, imipenem, piperacillin and amphotericin B on LAK effector function in vitro. **FEMS Immunology & Medical Microbiology**, v. 30, n. 3, p. 249-252, 2001.

RANG, H.P. et al. **Farmacologia**. 5 ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2004, 904 p.

SACHA, P. T.; ZAREMBA, M. L.; JAKONIUK, P. The influence of antibiotics on phagocytic and bacteriocidal activity of rabbit peritoneal macrophages stimulated by filtrates of cultured t-lymphocytes. **Medycyna Doswiadczalna i Mikrobiologia**, v. 51, n. 3-4, p. 399-412, 1999.

SAKAEVA, D. D.; LAZAREVA, D. N. The effect of gentamycin on immunity in immunodeficiency and the action of immunomodulators. **Ekspiermental'naia i klinicheskaia farmakologija**, v. 61, n. 3, p. 50-53, 1998.

-
- SEKLECKI, M.M.; QUINTILIANI, R.; MADERAZO, E.G. Aminoglycoside antibiotics moderately impair granulocyte function. **Antimicrobial Agents Chemotherapy**, v. 13, n. 31, p. 552-554, 1978.
- SHCHERBAKOVA, E. G.; RASTUNOVA, G. A.; MEDVEDEVA, M. M; ZHURAVLEVA, T. P.; KUCHUSHEV, S. A. Effect of gentamicin on the state of cellular resistance. **Antibiotiki**, v. 22, n. 5, p. 413-417, 1977.
- SHCHERBAKOVA, E. G. et al. Effect of gentamycin in combination with prodigiozan on the immunological reactivity of the body. **Antibiotiki**, v. 24, n. 9, p. 679-84, 1979.
- SILVA, M. H. M.et al. Morfometria do timo de coelhos Nova Zelândia Brancos tratados com gentamicina. **Biotemas**, v. 23, n. 3, p. 143-148, 2010.
- TOLOSA, E. M. C.et al. **Manual de técnicas para histologia normal e patológica**. 2 ed. São Paulo: Manole, 2003, 331 p.
- VILLA, M. L. et al. The interference of antibiotics with antigen-specific antibody responses in man. **Internacional Journal of Immunopharmacology**, v. 8, n. 7, p. 805-809, 1986.
- YOUNG, B.; HEATH, J.W. **Wheater**: histologia funcional, texto e atlas em cores. 4 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2001, 415 p.

