

# ANÁLISE DAS PROPRIEDADES REOLÓGICAS DO MUÇO BRÔNQUICO HUMANO ATRAVÉS DO TRANSPORTE EM PALATO DE RÃ.

*F.O. Godoy, R.T. Souza, A.F. Oliveira, L.V. Oliveira*

Laboratório de Fisiologia e Farmacologia, Universidade do Vale do Paraíba, São José dos Campos, São Paulo, Brasil. fred\_orp@hotmail.com

**Resumo** - Mecanismos efetivos de defesa do sistema respiratório são necessários para limpar as vias aéreas e manter os pulmões estéreis. Este sistema dispõe de mecanismos adaptativos para fazer frente às agressões vindas da atmosfera. O sistema mucociliar é um dos principais mecanismos de defesa do pulmão na medida em que se adapta às principais solicitações impostas ao seu funcionamento quando o trato respiratório é exposto a microrganismos e substâncias tóxicas inaladas. Esta defesa do sistema respiratório responsável pela eliminação de uma grande variedade de partículas de diferentes tipos como, por exemplo, vírus, bactérias e poluentes ambientais entram em contato com a superfície pulmonar e se depositam neste enquanto respiramos. Alterações na composição iônica, em condições patológicas, podem afetar as propriedades reológicas do muco, possivelmente pela mudança na força de atração entre as moléculas de mucina. Em termos reológicos, o muco purulento, quando comparado com o muco não purulento, apresenta diminuição da elasticidade e aumento da viscosidade, tornando-se menos transportável.

**Palavras-chave:** transporte de muco; higiene brônquica; secreção brônquica; reologia.

**Área do Conhecimento:** Ciências da Saúde

## Introdução

O sistema respiratório representa um dos principais alvos dos efeitos adversos da poluição atmosférica. Este sistema dispõe de mecanismos adaptativos para fazer frente a agressões vindas desta atmosfera. Esta defesa do sistema respiratório responsável pela eliminação de uma grande variedade de partículas de diferentes tipos como, por exemplo, vírus, bactérias e poluentes ambientais entram em contato com a superfície pulmonar e se depositam neste enquanto respiramos. Mecanismos efetivos de defesa do trato respiratório são necessários para limpar as vias aéreas destes materiais estranhos e para manter os pulmões estéreis. O sistema mucociliar é um dos principais mecanismos de defesa do pulmão na medida em que se adapta às principais solicitações impostas ao seu funcionamento quando o trato respiratório é exposto a microrganismos e substâncias tóxicas inaladas (SALDIVA et al., 1990; VAN DER SCHANS et al., 1996; HOUTMEYERS et al., 1999; HASANI et al., 2004; MORGAN et al., 2004).

Este sistema tão efetivo é formado pelo líquido periciliar, pelos cílios e por secreção (muco brônquico), sendo que estes fluidos são produzidos por células secretoras das glândulas submucosas (células mucosas e serosas), por células do epitélio das vias aéreas denominadas de células caliciformes e pelas células de Clara. O muco brônquico produzido, juntamente com os debris que são englobados por ele, é levado das vias aéreas periféricas para as centrais com intuito de manter a integridade das vias aéreas inferiores.

Este muco é composto por uma mistura complexa de macromoléculas incluindo proteínas (1%), carboidratos (0.9%), lipídios (0.8%), água (9.5%) e eletrólitos (DANEL, 1996; MAJIMA, 2002; RUBIN, 2002; HOUTMEYERS et al., 1999; KING; RUBIN, 2002).

A hipersecreção de muco é uma forma de proteção e está relacionada diretamente com situações patológicas causadas por agressão ao sistema respiratório através de partículas inalatórias. O aumento do número de células produtoras de muco no epitélio respiratório significa que ele foi exposto cronicamente a uma agressão. A proliferação de algumas mucoproteínas como MUC2 e a MUC5AC favorecem o aparecimento de ligações intra e intermoleculares que propiciam o aparecimento de alterações das propriedades reológicas das secreções respiratórias (SALDIVA, 1990; HOUTMEYERS et al., 1999; LEIKAUF et al., 2002; RUBIN, 2002).

Em termos reológicos, o muco purulento, quando comparado com o muco não purulento, apresenta diminuição da elasticidade e aumento da viscosidade, tornando-se menos transportável. Neste processo de purulência em que o muco se encontra, ele também apresenta um grande número de glicoproteínas mucosas e serosas, produtos inflamatórios incluindo derivados de neutrófilos, ácido desoxirribonucléico (DNA) e filamentos de actina, além de bactérias, enzimas e debris de células que contribuem para sua purulência (DULFANO; ADLER, 1975; CREETH, 1978; RUBIN, 2002).

Grandes esforços terapêuticos foram realizados para melhorar a eliminação do muco brônquico, quando existe alguma alteração de um dos componentes do aparelho mucociliar, que favorecem o detrimento do seu funcionamento. Quando a alteração diz respeito às propriedades reológicas do muco, o uso de agentes orais com suposto efeito mucoativo é indicado (JARDIM et al., 1999; HOUTMEYERS et al., 1999; DISSE, 2002).

Jardim et al. (1999), comentam que a impressão de que se fluidificássemos a secreção das vias respiratórias (alterando assim a sua viscosidade) favoreceríamos a transportabilidade do muco, é controversa. Mesmo assim, Eng et al. (1996) e Cataldo et al. (2001), descrevem que agentes mucoativos como a solução salina tanto isotônica (0.9% de NaCl) como hipertônica (NaCl > 0.9%), são usadas como agentes inalatórios por possuírem a capacidade de modificar a produção de muco, sua secreção, sua natureza, sua composição e/ou suas interações com o epitélio mucociliar. O objetivo do presente trabalho é a construção e validação do sistema de transporte de muco humano em palato de rã com a finalidade de estudar as propriedades reológicas do muco Brônquico.

## Materiais e Métodos

### Animais

Serão utilizados 12 rãs adultas (*Rana catesbiana*) oriundas do ranário São José em São José dos Campos, criadas em ambiente propício, tratadas com ração especial e água *ad libidum*.

### Aspectos Éticos e Legais

Este estudo foi encaminhado ao Comitê de Ética em Pesquisa da UNIVAP para a devida apreciação. Para a realização de todos os procedimentos serão observados os princípios éticos da experimentação animal ditados pelo COBEA, a Lei n.º 6.638 de 08 de Maio de 1979 que “*Estabelece normas para a prática Didático-Científico da vivisseccção de animais e determina outras providências*” e Decreto n.º 24.645 de 10 de Julho de 1934 “*Todos os animais existentes no País são tutelados ao Estado*”

### Protocolo Experimental

Para a construção do sistema de análise do transporte de muco humano através do

mecanismo de palato de rã foram utilizados os seguintes componentes:

### Caixa de Acrílico

Foi construída uma caixa de acrílico com dois orifícios laterais, sendo um para manipulação dentro da caixa e outro para o acoplamento de um nebulizador ultra-sônico. As medidas da caixa serão: 4mm de espessura, 40 cm de largura x 25 cm de profundidade x 20,5 cm de altura com a tampa no formato de caixa de sapato. Do lado esquerdo orifício com 100mm de diâmetro e do lado direito um outro orifício com 30 mm de diâmetro a 10,5 cm de altura.

### Lupa Estereoscópica

É utilizada uma lupa estereoscópica (Edmund Scientific Co. Japan), com ocular de aumento de 10 vezes e objetiva com aumento de 8 vezes, acoplada a um microcomputador. Assim, pode ser observado e medido o tempo de deslocamento do muco em uma distância constante de 6 mm, onde a velocidade do muco teste é expressa em termos de velocidade relativa, que é a velocidade do muco teste dividida pela velocidade do muco da rã (SALDIVA, 1990; GASTALDI; JARDIM; KING, 2000).

### Inalador - Nebulizador Ultra-Sônico

É utilizado um inalador nebulizador ultra-sônico Pulmoclear II (Soniclear, Ind. E Com., Brasil), com alimentação: 110/220V ac – 50/60 Hz com chave seletora. Método de nebulização: cavitação por ultra-som. Tamanho das partículas em torno de 80% menores que 4 micra. Capacidade de nebulização: até 15 ml por inalação. Taxa de nebulização: entre 0,8 cc/min a 1,2 cc/min (constante). Frequência de oscilação: 1,7 MHz. Dimensões: 130x170x245 mm. Peso: 2,3 kg. Consumo: 20 W max.

### Preparação da solução de ringer de rã

A composição da solução de ringer de Rã é preparada com duas partes de água destilada para cada parte de solução e os compostos serão (em mmol/L): 90 NaCl, 3 KCl, 2 CaCl<sub>2</sub> e 15 NaHCO<sub>3</sub> (220 mmol/L). Após este procedimento o palato é colocado numa caixa de acrílico e manipulado por um orifício na lateral da caixa. A caixa é nebulizada com soro fisiológico mantendo-se um ambiente com 100% de umidade.

### Preparação do palato de rã

As rãs são sacrificadas através de espinalação que consiste em um método indolor

onde a mesma tem sua medula seccionada na altura da nuca. A porção superior da cabeça da rã é retirada com uma tesoura na altura da articulação mandibular e parte posterior da faringe e esôfago. O palato é então examinado para verificação de lesões macroscópicas como, por exemplo, úlceras ou vermelhidão como sinal de inflamação.

Somente os palatos livres de qualquer tipo de alteração são utilizados neste estudo. Qualquer sangue remanescente sobre a superfície do epitélio é lavado com soro fisiológico. Após a retirada de todo o sangue, o palato é colocado sobre uma placa de petri imersa em solução ringer de rã durante vinte e quatro horas sob uma temperatura de 4°C com a finalidade de esgotar todo o muco remanescente da própria rã. Após este período de verificação do esgotamento do muco é colocado pó de carvão sobre o palato e verificado se haverá deslocamento deste.

#### Procedimento

Para o presente estudo, o palato de rã é posicionado a 5cm de altura no centro de uma caixa de acrílico previamente descrita. Após o ajuste do foco da lupa estereoscópica, é posicionado na parte anterior do palato de rã 0,5 ml de muco brônquico humano para observação do deslocamento. Este é medido através de uma régua de 10 cm de comprimento e posicionada ao lado do palato de rã. O tempo de deslocamento será cronometrado e posteriormente feita a análise estatística. Os dados obtidos serão comparados aos pré-existentes na literatura.



Figura 1- Sistema de Análise do Transporte de Muco Humano.

#### Resultados

Os resultados obtidos no experimento realizado, utilizando muco brônquico humano em

palato de rã, conferem com os encontrados segundo Dulfano et al. (1975) e Chen et al. (1978). A velocidade de deslocamento calculada foi de  $13,6 \pm 6,3$ mm/min., um valor bem aproximado aos valores encontrados na literatura.

#### Discussão

Para obter uma avaliação ideal do transporte de muco é necessário considerar algumas propriedades isoladas dos diversos elementos envolvidos no seu transporte, entre eles, a quantidade de muco e líquido periciliar, frequência do batimento dos cílios, alterações hidroeletrólíticas da secreção, propriedades reológicas do muco e a velocidade de transporte do muco.

O microrreômetro magnético é idealmente usado para o estudo de propriedades viscoelásticas do muco normal do trato respiratório. Ele trabalha melhor com amostras que são moderadamente claras e com uma viscoelasticidade intermediária. No entanto, com certa adaptação, ele pode ser usado para análise de escarro com ampla variabilidade de propriedades reológicas e grande opacidade (KING, 1988).

Um sistema conveniente para o estudo do transporte mucociliar é o palato de rã que possui epitélio similar ao das vias aéreas dos vertebrados. É utilizado para o estudo de diferentes amostras de muco pelo sistema ciliar e ativação e inibição ciliar (SALDIVA, 1995).

O deslocamento do muco na máquina simuladora de tosse é outro maneira que foi estudada por Gastaldi, Jardim e King (2000), onde eles utilizaram um modelo experimental composto por uma fonte pressórica, uma válvula solenóide e um tubo cilíndrico de acrílico, utilizado como modelo de via aérea.

O método escolhido para este trabalho foi o palato de rã, devido à facilidade de seu manuseio, a semelhança estrutural com o epitélio dos mamíferos, além de apresentar correlação com o trato respiratório de humanos

#### Conclusão

Nesse estudo, é oferecida uma sugestão de padronização de medidas de transporte no palato intacto extraído da rã. Uma normalização das taxas de transporte de muco deve ser feita com um padrão de muco definido reologicamente.

#### Referências

- CATALDO, D. et al. Induced sputum-comparison between isotonic and hypertonic saline solution

- inhalation in patients with asthma. *Chest*. v. 120, p. 1815-1817, 2001.
- CHEN, T. M.; DULFANO M. J. Mucus viscoelasticity and mucociliary transport rate. *J. Lab. Clin. Med.* v. 91, p. 423-431, 1978.
  - CREETH, J. M. Constituents of mucus and their separation. *Br Med Bull*. v. 34, p. 17-24, 1978.
  - DANIEL, C. J. Morphological characteristics of human airway structures. In: *Environmental impact on the airways: from injury to repair*. New York: Marcel Dekker, 1996, p. 19-35.
  - DISSE, B. Clinical evaluation of new therapies for treatment of mucus hypersecretion in respiratory diseases. *Novartis Found Symp*. v. 248, p. 254-72, 2002.
  - DULFANO, M. J; ALDER, K. B. Physical properties of sputum. *Am Rev of Resp Dis*. v. 7, p. 341-347, 1975.
  - ENG, P. A. et al., Short-term efficacy of ultrasonically nebulized hypertonic saline in cystic fibrosis. *Pediat Pulm*. v. 21, p. 77-83, 1996.
  - GASTALDI, A. C; JARDIM, J. R; KING, M. The influence of temperature and length of storage of frog mucus samples. *Biorheology*. v. 37, p. 203-211, 2000.
  - HASANI, A. et al. The effect of inhaled tiotropium bromide on lung mucociliary clearance in patients with copd. *Chest*. v. 125, p.1726-1734, 2004.
  - HOUTMEYERS, E. et al. Regulation of mucociliary clearance in health and disease. *Eur Respir J*. v. 13, p. 1177- 1188, 1999.
  - JARDIM, J. R. et al. Produção e transporte de muco e drogas mucoativas. In: *Pneumologia: atualização e reciclagem*. São Paulo: Atheneu, 1999.
  - KING, M. Magnetic microrheometer. In: BRAGA, P. C. *Methods in bronchial mucology*. New York:Raven Press, 1988.
  - KING, M; RUBIN, B. K. Pharmacological approaches to discovery and development of mucolytic agents. *Adv Drug Deliv Rev* v. 54, p. 1475-1450, 2002.
  - LEIKAUF, G. D. et al. Mucin apoprotein expression in copd. *Chest*. v. 121, p. 166s-182s, 2002.
  - MAJIMA, Y. Mucoactive medications and airway disease. *Paediat Respir Rev*. v. 3, p. 104 -109, 2002.
  - MORGAN, L. et al. Scintigraphic measurement of tracheal mucus velocity in vivo. *Eur Respir J*. v. 23, p. 518-522, 2004.
  - RUBIN, B. K. Physiology of airway mucus clearance. *Respir Care*. v. 47, p. 761-768, 2002.
  - SALDIVA, P. H. N. Aparelho mucociliar: aspectos funcionais e métodos de estudo. *Jornal de Pneumologia*. v. 16 (3), 1990.
  - SALDIVA, P. H. N. Methods for studying respiratory mucus and mucus clearance. *Brazilian Journal and Biological Research* 28, 1995.
  - VAN DER SCHANS, C. P. et al. Chest physical therapy: mucus mobilizing techniques. In: *Pulmonary Rehabilitation*. Philadelphia: Hanley & Belfus, 1996.