

INFLUÊNCIAS DA DESCONEXÃO HIPOTALÂMICA NA MORFOLOGIA DA GLÂNDULA SUBMANDIBULAR E NA QUANTIFICAÇÃO DOS ÍONS SÓDIO, POTÁSSIO E CÁLCIO DA SALIVA MISTA EM RATOS*

Gilberto Aparecido COCLETE**

Almir Lima de CASTRO***

Angelo Luis BAIOSCHI***

- **RESUMO:** O presente trabalho teve como objetivo analisar a influência da desconexão hipotalâmica na morfologia da glândula submandibular e na quantificação dos íons sódio, potássio e cálcio na saliva mista, em ratos. A desconexão hipotalâmica foi realizada com uma faca de 3 mm de altura e 2 mm de raio montada em agulha hipodérmica 30/10 e posicionada no instrumento estereotáxico a 1,5 mm caudal ao bregma, na linha mediana. Após a introdução da faca até tocar o osso esfenoide, esta foi girada 90° para a direita e 90° para a esquerda. Essa manobra possibilita a separação do hipotálamo anterior do restante caudal do neuroeixo, ao nível do núcleo arqueado. Cinquenta animais foram separados em dois grupos – operação fictícia e com desconexão hipotalâmica – e sacrificados em número de cinco para cada período considerado, ou seja, aos 6, 12, 18, 24 e 30 dias pós-cirurgias. Nossos resultados demonstraram uma redução significativa dos íons cálcio em todos os períodos considerados nos animais com desconexão hipotalâmica. Para os outros íons (Na⁺ e K⁺) não obtivemos respostas marcantes nem com a desconexão nem com a morfologia da glândula

* Resumo de Dissertação de Mestrado – Área de Cirurgia e Traumatologia Buco-Maxilo-Facial – Faculdade de Odontologia – UNESP – 16010-050 – Araçatuba – SP.

** Departamento de Diagnóstico e Cirurgia – Faculdade de Odontologia – UNESP – 16010-050 – Araçatuba – SP.

*** Departamento de Ciências Fisiológicas – Faculdade de Odontologia – UNESP – 16010-050 – Araçatuba – SP.

submandibular. Concluímos que, pelo fato de a desconexão hipotalâmica ter deixado a porção anterior intacta, região esta que se liga aos núcleos salivares, a não-interferência significativa pode ser motivo de outros trabalhos com lesão mais fina da região anterior hipotalâmica e seus reflexos nas glândulas salivares.

- PALAVRAS-CHAVE: Desconexão hipotalâmica; glândula submandibular; sódio; potássio; cálcio.

Introdução

Quando se analisam influências neuroendócrinas no comportamento de glândulas, afunila-se para o hipotálamo, área central de relevante importância no controle de eventos pressores e na homeostase da concentração dos líquidos corporais e, por extensão, da secreção glandular, tanto por suas conexões com as estruturas próximas quanto por receber informações e gerar respostas, inter-relacionando de modo eficiente o sistema neuroendócrino. O hipotálamo anterior está implicado na regulação do balanço hidromineral, pela sua atuação na ingestão de água, liberação de vasopressina, apetite ao íon sódio e redistribuição dos líquidos corporais. Existe uma observação antiga^{4,47} de que lesões no assoalho do quarto ventrículo levava à natriurese. Resultados semelhantes são obtidos por lesões de várias áreas do sistema nervoso, especialmente do hipotálamo.²⁸

O hipotálamo representa uma interface entre os sistemas nervoso e endócrino. A eminência mediana hipotalâmica é um ponto de integração final de informações geradas em diferentes regiões do organismo. Após processamento e ajuste fino, essas informações são transmitidas à glândula hipófise por meio de diferentes mecanismos, modificando quase todas as secreções endócrinas do organismo. Os objetivos finais desse sistema de controle integrado são: 1. manutenção da constância do meio interno; 2. interação do organismo com o meio ambiente; 3. controle da reprodução.³⁹

Lesões de centros hipotalâmicos ou secção das fibras diencefalo-hipofisárias produzem de imediato poliúria e polidipsia.¹⁶ Trabalhos desenvolvidos em nosso laboratório, em ratos, mostraram que a lesão na eminência mediana do hipotálamo acarreta disfunções significantes nos níveis séricos de T3, T4 e TSH,³ hipertermia, hipoproteinemia e atraso na ossificação do alvéolo dental pós-extração,¹⁰ atraso na reparação tecidual em feridas cutâneas,⁶ hipomineralização em fratura de arco zigomático,

redução dos níveis séricos de íons cálcio e redução dos níveis plasmáticos de testosterona,⁹ redução da massa das glândulas submandibulares.¹⁸

Por meio de um conjunto estereotáxico e emprego de uma faca especial, o hipotálamo anterior pode ser desconectado do restante do neuroeixo caudal no nível do núcleo arqueado, deixando a região ântero-ventral do terceiro ventrículo intacta, mas seccionando as vias supra-óptica neuro-hipofisária. Quando isto é feito, torna-se possível observar: 1. redução na resposta pressora ocasionada pela oclusão das artérias carótidas comuns; 2. redução na resposta cardiovascular homeostática para o sangramento controlado;³³ 3. atenuação no desenvolvimento da hipertensão tipo Goldblatt, um rim, um clipe, mas não do tipo dois rins, um clipe;⁶ 4. redução do efeito pressor à infusão endovenosa de angiotensina II;⁷ 5. redução dos efeitos pressores da angiotensina II infundida intracerebroventricularmente;²⁷ 6. redução da liberação de vasopressina em resposta para a angiotensina II intracerebroventricular.²⁷

O envolvimento de áreas hipotalâmicas no controle da secreção salivar em ratos tem sido mostrado em vários estudos. Um deles relacionou a temperatura ambiente de 40°C com a secreção salivar em ratos lesados na área hipotalâmica lateral.²³ A hipersecreção salivar com essa lesão também foi observada.⁴⁶ Por outro lado, foram encontradas reduções no fluxo salivar de ratos após lesão da área ventromedial do hipotálamo.¹⁷

Considerando os achados relatados anteriormente, propusemos, no presente trabalho, analisar os efeitos da desconexão hipotalâmica na morfologia da glândula submandibular e na secreção dos íons sódio, potássio e cálcio, na saliva mista em ratos.

Material e método

Utilizamos no presente trabalho cinquenta ratos da linhagem Wistar (*Rattus norvegicus*, Albinus), com massa corporal variando de 180 a 220 gramas. Os animais foram divididos em dois grupos de trabalho, a saber: Grupo I – Operação fictícia (OF) – 25 ratos; Grupo II – Com desconexão hipotalâmica (DH) – 25 ratos.

Antes e durante o período experimental, os animais foram mantidos por 1 semana em gaiolas metabólicas especialmente construídas e alimentados com ração granulada (Batavo – Cooperativa Agrícola de Cotia – PR – Brasil) e água à vontade. Para os dois grupos, a alimenta-

ção foi suspensa 24 horas antes das intervenções e o anestésico empregado foi o Thionembatal (Abbot S. A.) na dose de 45 mg/kg de massa corporal, intraperitonealmente. Os animais foram sacrificados em número de cinco de cada grupo de trabalho nos seguintes períodos: aos 6, 12, 18, 24 e 30 dias pós-cirurgia.

Desconexão hipotalâmica - Foi empregado o método para a desconexão hipotalâmica previamente descrito,^{24, 33} que, em resumo, consiste na colocação do animal no instrumento estereotáxico (David Kopf Instruments) com a barra do dente incisivo posicionada 5 mm abaixo da linha interaural. A faca hipotalâmica de 3 mm de altura e 2 mm de raio, montada em agulha hipodérmica 30/10, foi posicionada a 1,5 mm caudal ao bregma na linha mediana. Após a remoção da porção óssea deste local, a faca foi introduzida no cérebro, tomando-se o cuidado para não lesar o seio sagital, até tocar no osso esfenoide, sendo então girada 90° para a esquerda e 90° para a direita. Essa manobra possibilita a separação do hipotálamo anterior do restante caudal do neuroeixo, no nível do núcleo arqueado, e deixando intacta a região ântero-ventral do terceiro ventrículo. A comprovação clínica da eficiência dessa lesão é a verificação da ingestão de água acima de 100 ml e da diurese nas primeiras 24 horas pós-lesão. A comprovação histológica foi verificada após o sacrifício dos animais. A Figura 1 esquematiza o local da desconexão hipotalâmica, assim como as áreas adjacentes. Após a lesão, os animais foram acondicionados novamente nas gaiolas metabólicas. Para a obtenção dos animais experimentais do grupo com operação fictícia foram realizados os mesmos procedimentos descritos para a desconexão, porém sem a rotação da faca.

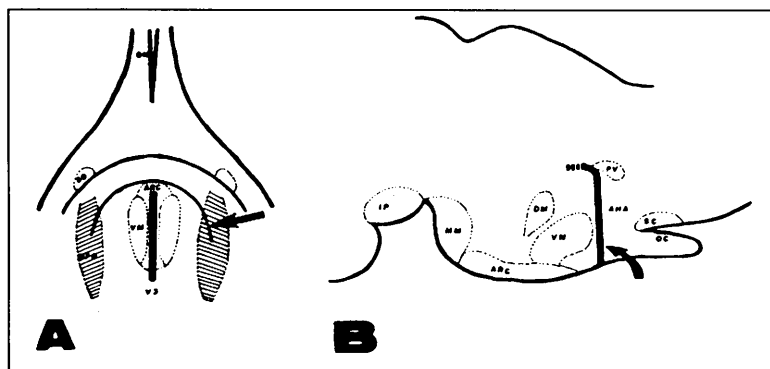


FIGURA 1 - Representação esquemática da desconexão hipotalâmica onde A = terceiro ventrículo; B = linha da desconexão.

Obtenção da saliva – Para a obtenção das amostras de saliva mista, os animais foram anestesiados e, logo após, estimulados com solução aquosa de cloridrato de pilocarpina na dosagem de 7,5 mg/kg de massa corporal, aplicada por via intraperitoneal.⁵⁰ A seguir, os animais foram colocados em posição de decúbito ventral numa mesa especialmente preparada para esse fim. Após, foi adaptado um clipe metálico em forma de U na boca dos animais, cuja finalidade principal foi manter a boca aberta o tempo necessário para a coleta da saliva. As amostras de saliva mista foram colhidas durante 15 minutos, diretamente da boca dos animais, através de micropipetas de Pasteur estéreis, colocadas em tubos de ensaio de vidro estéreis e imediatamente mantidas congeladas até o momento das análises dos íons sódio, potássio e cálcio.

Análise dos íons – Os valores dos íons sódio e potássio foram obtidos por meio de Fotômetro de Chama (CORNING – MOD 400, USA) e os de íons cálcio, pela análise Espectrofotométrica (CELM – MOD E-210 D, Brasil). Todas as análises foram realizadas num mesmo período, de maneira a se obter o máximo de padronização em relação às amostras e aos aparelhos.

Processamento histológico – Após a remoção das glândulas submandibulares, foi tomado o cuidado de remover o tecido circunjacente. Em seguida, foram cortadas em diversos fragmentos com aproximadamente 1 mm de espessura, os quais foram posteriormente fixados em solução de Helly modificada, por 6 horas, e lavados em água corrente por 12 horas,³⁶ após o que foi realizada a sua inclusão em parafina a vácuo. As peças assim obtidas foram submetidas a cortes semi-seriados com 6 μ m de espessura, coradas pela hematoxilina de Harris e eosina aquosa a 1% (HE), para análise histológica pela microscopia óptica.

Método histoquímico – Para a análise histoquímica proposta, as glândulas foram cortadas e, a seguir, fixadas em formol neutro e submetidas ao método do paradimetilaminobenzoaldeído (PABA) em meio ácido³² para a detecção do aminoácido triptofano, com controle pelo ácido perfórmico.⁴⁸

Análise estatística – Todos os valores obtidos dos íons foram submetidos à análise de variância (F) e ao teste de Tukey, a 5% de significância.

Tabela 1 – Valores médios e seus respectivos desvios-padrão (SD) em mEq-gl, dos íons sódio, potássio e cálcio da saliva mista dos animais com operação fictícia (OF) e com desconexão hipotalâmica (DH), nos períodos considerados, e o resultado da estatística

Período (dias)		6		12		18		24		30	
		OF	DH	OF	DH	OF	DH	OF	DH	OF	DH
Sódio	x	92,0	102,2	110,0	101,2	118,6	111,6	97,2	119,6	116,7	115,0
	sd	± 23,0	± 16,3	± 10,6	± 8,1	± 5,1	± 27,2	± 9,7	± 9,8	± 17,6	± 23,2
Potássio	x	44,7	42,4*	33,0	36,7*	44,8	50,6*	39,9	41,3*	44,3	42,6*
	sd	± 2,5	± 4,1	± 2,0	± 4,2	± 7,7	± 8,3	± 3,0	± 3,0	± 3,0	± 2,4
Cálcio	x	8,4	7,5*	8,7	8,1*	7,5	6,6*	8,2	7,4*	8,1	7,9*
	sd	± 0,8	± 0,7	± 1,1	± 1,2	± 1,8	± 0,4	± 1,8	± 0,4	± 1,4	± 1,1

* Significante a 5% (entre os períodos para os íons potássio)

* Significante a 5% (entre os grupos para os íons cálcio).

Resultado

Conforme já mencionado em "Material e método", a ingestão aumentada de água nas primeiras 24 horas após a desconexão hipotalâmica é forte indicação de que a lesão foi no local desejado. Os resultados das concentrações dos íons sódio, potássio e cálcio das salivas dos grupos OF e com DH estão representados na Tabela 1 e expressos em mEq-g/l. São mostrados também na tabela as médias e os seus desvios-padrão em todos os períodos propostos para essa análise e também o resultado da estatística.

Análise histológica das glândulas submandibulares - Operação fictícia aos 6, 12 e 18 dias - Observamos que a glândula submandibular é formada por ácinos de aspecto seroso, com células prismáticas de núcleo esférico localizadas na região basal. O sistema de ductos mostra como particularidade morfológica desta glândula a presença em grande quantidade dos ductos granulosos. Esses ductos são constituídos por células cilíndricas com núcleo esférico localizados na região basal. Os grânulos localizados na região supranuclear são mais bem visualizados com outras colorações.

Com desconexão hipotalâmica aos 6, 12 e 18 dias - As glândulas submandibulares destes animais mostraram o mesmo padrão morfológico descrito nos animais com operação fictícia.

Operação fictícia aos 24 dias - Neste grupo observamos que dois animais (R1 e R3) mantiveram o padrão descrito anteriormente, enquanto três (R2, R4 e R5) evidenciaram aumento na quantidade de ductos granulosos (Figura 2).

Com desconexão hipotalâmica aos 24 dias - Iguamente, neste grupo observamos que um dos animais (R2) mostrou aumento na quantidade de ductos granulosos (Figura 3).

Operação fictícia aos 30 dias - As glândulas salivares dos animais, à exceção de um, mostrou quantidade maior de ductos granulosos que os animais dos grupos iniciais.

Com desconexão hipotalâmica aos 30 dias - Observamos neste grupo que dois animais mostraram características semelhantes às dos animais dos grupos iniciais. Três animais evidenciaram aumento na quantidade de ductos granulosos.

Resultados histoquímicos para o aminoácido triptofano - Observamos que nos animais dos grupos dos períodos de 24 e 30 dias a realização histoquímica para o aminoácido triptofano acompanhou os

resultados morfológicos a H/E. Assim, nos animais com padrão de decréscimo semelhante ao dos grupos positivos a reação ao triptofano era moderadamente positiva (Figura 4), enquanto naqueles animais com aumento do número de ductos granulosos a reação do triptofano era fortemente positiva (Figura 5).

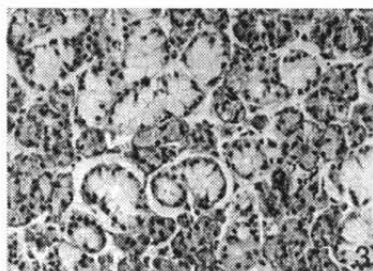
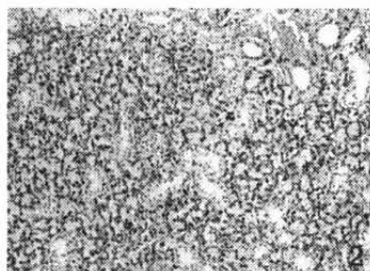


FIGURA 2 – Operação fictícia, 24 dias pós-operatório; evidenciando aumento na quantidade de ductos granulosos H/E. (aumento de 23×).

FIGURA 3 – Desconexão hipotalâmica, 24 dias, evidenciando que houve aumento na quantidade de ductos granulosos. H/E. (aumento 63×).

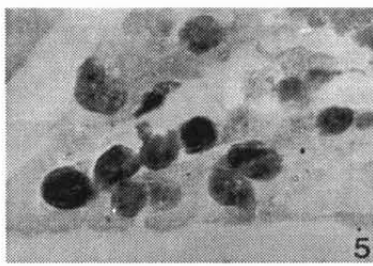
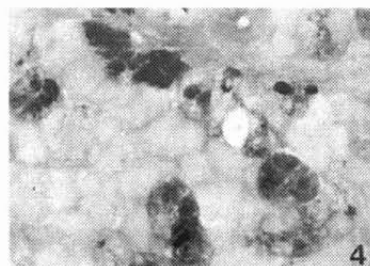


FIGURA 4 – Histoquímica do grupo operação fictícia aos 24 dias, evidenciando a reação ao triptofano moderadamente positivo. PABA. (aumento 160×).

FIGURA 5 – Histoquímica do grupo com desconexão hipotalâmica aos 30 dias, evidenciando o aumento do número de ductos granulosos à reação ao triptofano. PABA (aumento 160×).

Discussão

Pelos resultados obtidos no presente trabalho, ficou evidente que os materiais e a metodologia utilizados se prestam de forma excelente para este modelo de estudo. O aumento de ingestão de água após a desconexão justifica a validade da metodologia empregada e a quase certeza de que a lesão foi bem-localizada. As médias diárias do volume

urinário não apresentadas no presente trabalho, em ml/100 gramas de massa corporal dos animais dos grupos OF e DH, na fase pré-cirurgia, foi semelhante em ambos. No entanto, a desconexão hipotalâmica implicou um aumento significativo no volume urinário, que perdurou, com algumas oscilações, até o período final considerado. Convém destacar que, no grupo DH, após maior volume urinário obtido nas primeiras 24 horas pós-cirurgia, ocorreu diminuição gradativa, até o quarto dia, ocasião em que esse volume voltou a aumentar. Essa resposta trifásica encontra ressonância nos achados pioneiros.¹⁶ Os animais do grupo OF apresentaram volume urinário uniforme em todo o período experimental. A confirmação final da lesão hipotalâmica foi obtida após a observação histológica.

Inerente a esse tipo de lesão é a possibilidade de que vias nervosas polisinápticas, que estabelecem conexões entre as porções separadas por meio de circuito em alça, possam estar presentes e não ser afetadas pela cirurgia. Não obstante o núcleo paraventricular estar para a frente da lesão e, portanto, hipotéticas conexões dele com a neuro-hipófise possam ser seccionadas, sabemos hoje que as conexões mais importantes desse núcleo são as vias vasopressinérgicas que correm arqueadamente para baixo e para fora na direção do núcleo supra-óptico e daí para a neuro-hipófise. Na verdade, a posição do núcleo paraventricular em relação à secção produzida pela faca é irrelevante para os resultados que se obtêm nesse tipo de experimento.

Para a estimulação das glândulas salivares utilizamos o cloridrato de pilocarpina intraperitonealmente. A pilocarpina, uma droga colinérgica muscarínica agonista, tem sido relatada como estimulante da secreção salivar em pacientes com disfunção das glândulas salivares, inclusive na Síndrome de Sjögren, mas que pode ser usada em qualquer situação em que ocorra necessidade da coleta da saliva para análise.^{15, 43} A concentração média de íons cálcio na glândula submandibular de ratos é de 3,2 ($\mu\text{Eq/gm}$, estimulada pela pilocarpina, caindo gradualmente até 0,93 ($\mu\text{Eq/gm}$).¹²

A pilocarpina encontra antagonista na calcitonina, que reduz a secreção salivar, tanto no repouso quanto na aplicação dessa droga.⁴⁴ A ação da pilocarpina na secreção das glândulas salivares é que as células dessas glândulas sintetizam uma nova glicoproteína (MR 42.000) via glicolização de uma glicoproteína (de 39.000 Da) produzida de um polipeptídeo de 33.000 Da.⁴¹ Ocorre um envolvimento do sistema nervoso central, particularmente a região ântero-ventral do terceiro

ventrículo pré-óptica hipotalâmica na secreção salivar induzida pela infusão periférica ou central de pilocarpina em ratos. De forma aguda (6 horas a 2 dias após a lesão), ocorre redução significativa da secreção salivar imposta pela pilocarpina.⁴² A lesão efetuada em nosso trabalho deixa a região intacta, assim como a região pré-óptica hipotalâmica. Apesar disso e mesmo cortando algumas vias, não registramos nenhuma alteração no fluxo salivar em comparação ao grupo com operação fictícia, embora não tenhamos medido tal volume. Das glândulas salivares, a submandibular é mais sensível à mudança fisiológica do que a parótida.⁵¹

Ratos com lesão da área pré-óptica não salivam em resposta ao aquecimento dessa área, ao passo que o aquecimento nesse local, em animais intactos, aumenta a salivação.^{22, 49} O aquecimento unilateral da área pré-óptica produz grande aumento da secreção salivar das glândulas submandibulares e sublingual ipsilateral e resultado semelhante ocorre ao se realizar a estimulação elétrica dessa área.²⁶ Conclui-se, portanto, que o sinal eferente da parte anterior do hipotálamo se projeta predominantemente para a glândula salivar ipsilateral provocando a secreção.

As influências para a secreção salivar envolvem núcleo do tracto solitário, córtex cerebral, hipotálamo, medula oblonga e núcleo motor trigeminal.¹⁴ As causas mais comuns de disfunção salivar são o uso de drogas, as doenças sistêmicas, cirurgias, irradiações nas glândulas salivares, diabetes e, especialmente, a síndrome auto-imune de Sjögren.¹¹ Ainda, o fluido bucal (saliva) é usado para auxiliar no diagnóstico não invasivo em uma variedade de outras doenças e situações, tais como HIV e hepatite.³⁵

Estudos demonstraram a importância da ingestão de íons cálcio na qualidade e quantidade da saliva da glândula sublingual.³⁷ O aumento da salivação é um problema já detectado em pacientes com diabetes, neuropatia autonômica, doença de Parkinson e disritmia cerebral.³¹

Para o estudo das disfunções das glândulas salivares, vários métodos são empregados, tais como sialometria, sialografia retrógrada, cintilografia salivar e biópsia, mas que requerem pessoal especialmente treinado e/ou equipamentos não comuns à prática odontológica. A análise da saliva pela microscopia comum e pela microscopia eletrônica utilizada^{20, 21} é um método importante, de fácil execução, em que se avalia o funcionamento da glândula em função do fluxo salivar associado às complicações clínicas.³⁸ Nosso método (qualidade da saliva e

histologia) também se presta bem para esse estudo, pois não implica sofisticacões maiores.

Observacões e confrontacões importantes dizem respeito aos íons sódio. Sabe-se que os animais com desconexão hipotalâmica têm forte preferência pela ingestão de cloreto de sódio em virtude de a natriurese estar aumentada. Pelos nossos resultados, nota-se que não ocorrem alteracões desses íons na saliva mista, apesar de não termos oferecido o cloreto de sódio a mais aos animais. Podemos supor que as glândulas salivares têm um poder de auto-regulacão para a manutencão de sua composicão em íons sódio, independentemente dos constituintes sanguíneos, fato este já observado para outros parâmetros. A secreção salivar contém grandes quantidades de íons sódio que não são compensados pela sua quantidade aumentada no soro sanguíneo após a remocão da glândula submandibular.⁵

A análise estatística referente aos íons potássio nos leva a interpretar que a menor concentraçã ocorreu no 12º dia pós-lesão hipotalâmica e a maior no 18º dia em comparaçã com o grupo com operaçã fictícia. Nos demais períodos, observamos um equilíbrio nas concentrações desses íons. Com segurancã, podemos afirmar que o estresse cirúrgico não foi suficiente para alterar o funcionamento das glândulas supra-renais, pois ocorrem aumentos não somente de íons potássio mas também de íons cálcio, resultantes de trauma pós-operatório, induzidos pelo aumento dos hormônios da córtex dessa glândula.¹ Afirma-se, ainda, que a composicão química da saliva tem sido observada por refletir muitas condições fisiológicas e patológicas.¹

Com respeito aos íons cálcio, foi demonstrada uma reduçã significativa na concentraçã salivar nos animais do grupo com desconexão hipotalâmica em relaçã aos com operaçã fictícia. A influênci endócrina das glândulas salivares pode ter sido alterada com a hiperfunçã no controle dos íons cálcio pela lesão por nós efetuada. Isolou-se um polipeptídeo biologicamente ativo do homogenado de glândula parótida de bovino, que quando injetado em coelhos reduzia o nível de íons cálcio plasmático e, também, acelerava o crescimento de tecidos duros. Há afirmações de que as glândulas salivares não possuem um tecido específico para sua atividade endócrina,⁴⁰ e que mesmo não possuindo células especializadas na secreção endócrina, as glândulas salivares secretam seu conteúdo para o interior dos ductos, onde é absorvido e armazenado.¹³ Após algumas transformacões, esse produto é liberado para o interior da corrente sanguínea, onde o princípio ativo das glândulas salivares exibe sua funçã hormonal, sendo indispensá-

vel para o desenvolvimento do sistema esquelético, particularmente para os tecidos cartilaginoso, ósseo e dental.²⁵

Embora não tenhamos realizado a remoção das glândulas salivares, é sabido que esse procedimento reduz o nível sérico de íons cálcio em ratos hipertensos volume-dependente.⁵ De forma indireta, podemos inferir que ocorre hipofunção hipofisária. Nesse aspecto, temos afirmações de que o hormônio de crescimento tem um papel no metabolismo dos íons cálcio. O hormônio de crescimento aumenta a excreção urinária desses íons mas também aumenta a sua absorção intestinal; esta última ação pode ser mais intensa que a ação renal, resultando no balanço positivo do íon cálcio.¹⁹ Conseqüentemente, se ocorre diminuição desse hormônio, a absorção de íons cálcio estará comprometida e seus efeitos nos tecidos estarão também diminuídos. Por esses efeitos, podemos supor que houve diminuição desses íons na corrente sanguínea, e com reflexos importantes na sua concentração salivar, conforme o observado no presente trabalho.

Pela análise histológica da glândula submandibular, observamos um aumento dos ductos granulosos, mais evidentes aos 24 e 30 dias pós-lesão do hipotálamo.¹⁸ A desconexão hipotalâmica por nós efetuada não deixa de interferir também no funcionamento da glândula hipófise, daí a semelhança em nossos resultados. A afirmação original de que essa glândula apresenta marcante dimorfismo sexual e que este se localiza nos ductos granulosos, principalmente no animal macho, já havia sido observada.³⁰ Estudo posterior confirmou essa detecção, atribuindo ao hormônio testosterona o principal responsável pelo dimorfismo.⁸

Porém outros hormônios parecem agir em menor escala ou de forma indireta na diferenciação e manutenção dos ductos granulosos, tais como: hormônios tireoidianos;²⁹ hormônios adrenocorticotróficos⁴⁵ e hormônios pancreáticos.²⁹ As alterações verificadas nos ductos em nosso trabalho podem ter alguma relação com algum desses hormônios.

Paralelamente ao observado na quantidade dos ductos granulosos, a análise histoquímica demonstrou pouca reatividade para o aminoácido triptofano nos animais dos períodos de 24 a 30 dias pós-lesão hipotalâmica. Considerando que o aumento da quantidade de grânulos ou aumento da intensidade do triptofano é indicação do aumento da síntese glandular e como em nosso trabalho o fluxo salivar não foi determinado, acreditamos que a quantidade de saliva talvez não tenha se alterado significativamente e que esteja aí a explicação para a não-variabilidade importante na concentração dos íons sódio e potássio.

Conclusão

Nas condições experimentais do presente trabalho e pelos resultados obtidos, podemos concluir que:

- A desconexão hipotalâmica não provocou alterações nas concentrações dos íons sódio da saliva mista.
- A menor concentração de íons potássio ocorreu no 12º dia pós-lesão e a maior no 18º dia. Nos demais períodos ocorreu um equilíbrio.
- Os íons cálcio da saliva mista apresentaram valores menores significativamente nos animais com desconexão hipotalâmica em todos os períodos considerados.
- Nos animais lesados aos 24 e 30 dias ocorreu um aumento inconstante na quantidade de ductos granulosos da glândula submandibular.
- Os animais lesados após 24 e 30 dias apresentaram diminuição inconstante na intensidade de reação ao aminoácido triptofano.

COCLETE, G. A., CASTRO, A. L. de, BAIOSCHI, A. L. Influence disconnection on the submandibular gland morphology and sodium, potassium, and calcium ions quantification in the mixed saliva in rats. *Rev. Odontol. UNESP (São Paulo)*, v.26, n.1, p.59-75, 1997.

- *ABSTRACT: The effects of the hypothalamic disconnection on the morphology of the submandibular gland and sodium, potassium and calcium concentration in the mixed saliva were studied in rats. The hypothalamic disconnection was achieved by means of a stereotaxically placed special double - edged knife of bayonet shape, 3 mm in length, 2 mm radius, lowered 1.5 mm caudal to the bregma along the midline down to the inner surface of the sphenoid. The bone surface was set horizontal by lowering the toothbar 5 mm with respect to the interaural line. The cut was achieved by rotating the knife 90° left and 90° right. This disconnection separated the anterior hypothalamus of the caudal neuroaxis at the level of the arcuate nucleus. The rats were divided into two groups: sham group (25 rats) and hypothalamic disconnection group (25 rats). In the sham group the knife was lowered but not rotated. The animals were sacrificed in number of five for each group at, 6, 12, 18, 24 and 30 days after surgery. The results showed a decrease in the calcium concentration in all periods in rats with hypothalamic disconnection. No significant changes were observed in sodium and potassium concentration and also in morphology of submandibular gland.*

We concluded that as the disconnection leaves the anterior hypothalamus intact and this region is connected with salivary nucleus these results may conduct of other works in which less extensive lesion will be made in anterior hypothalamic region.

- **KEYWORDS:** *Hypothalamic disconnection; submandibular gland; sodium; potassium; calcium.*

Referências bibliográficas

- 1 ABELSON, D. C. et al. The effect of surgical procedure on salivary electrolytes. *J. Oral Med.*, v.29, p.41-4, 1974.
- 2 ALMEIDA, E. F. et al. Alteração do eixo hipotálamo-hipófise-tireóide provocada pela lesão da eminência média hipotalâmica. In: CONGRESSO DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE FISIOLOGIA, 18, 1983, São Lourenço. *Anais...* São Lourenço, 1983.
- 3 ALMEIDA-COSTA, E. F. *Efeitos da deaferentação hipotalâmica no balanço hidromineral em ratos*. São Paulo, 1989. 83p. Dissertação (Mestrado) – Instituto de Ciências Biológicas, Universidade de São Paulo.
- 4 BERNARD, C. *Leçons sur la physiologie et la pathologie du système nerveux*. Paris: Baillière, 1858 apud SILVA NETTO, C. R. et al. Hypothalamic stimulation and electrocyte excretion: a micropuncture study. *Am. J. Physiol.* v.239, p.F206-14, 1980.
- 5 CARVALHO, A. A. F., CASTRO, A. L., PESPININI, I. A. Níveis séricos dos íons sódio, potássio e cálcio e variação e massa dos ventrículos e rim de ratos com hipertensão renovascular e/ou submetidos à remoção das glândulas submandibulares e sublinguais. *Rev. Odontol. UNESP (São Paulo)*, v.15/16, p.131-8, 1986/1987.
- 6 CASTRO, A. L., MAZZO JUNIOR, S., MATHEUS, G. Processo de cicatrização em feridas cutâneas após lesão da eminência média hipotalâmica em ratos. Estudo histopatológico. *Rev. Cient. APEC*, v.4, p.9-24, 1984.
- 7 CASTRO, A. L. et al. Effects of anterior hypothalamic disconnection on the evolution of Goldblatt renal hypertension. A dual response. *Hypertension*, v.5, p.V85-V89, 1983.
- 8 CHRETIEN, M. Action of testosterone on the differentiation and secretory activity of a target organ: the submaxillary gland of the mouse. *Int. Rev. Cytol.*, v.50, p.333-96, 1977.

- 9 CINTRA, P. A. *Estudo do processo de reparo em fratura de arco zigomático e dos níveis plasmáticos de íons cálcio e fosfato e de testosterona em ratos lesados na eminência mediana do hipotálamo*. Araçatuba, 1987. 55p. Tese (Doutorado) – Faculdade de Odontologia, Universidade Estadual Paulista.
- 10 CINTRA, P. A. et al. Histological survey of the healing process on tooth extraction wounds in rats after hypothalamic median eminence lesion. *Rev. Odontol. UNESP*, v.11, p.81-9, 1982.
- 11 DAYAN, D., BODNER, L., HOROWITZ, I. Effect of salivary gland hypofunction on the healing of extraction wounds: a histomorphometric study in rats. *J. Oral Maxillofac. Surg.*, v.50, p.354-8, 1992.
- 12 DREISBACH, R. H. Secretion of calcium by rat submandibular gland. *Am. J. Physiol.*, v.196, p.645-8, 1959.
- 13 DURIGHETTO JUNIOR, A. F. *Estudo enzimático e metabólico dos germes dentários de ratos lactentes sialoadenoprivos*. Bauru, 1981. 85p. Tese (Doutorado) – Faculdade de Odontologia, Universidade de São Paulo.
- 14 EDGAR, W. M. Saliva: its secretion, composition and functions. *Br. Dent. J.*, v.172, p.305-12, 1992.
- 15 FERGUSON, M. M. Pilocarpine and other cholinergic drugs in the management of salivary gland dysfunction. *Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol.*, v.75, p.186-91, 1993.
- 16 FISCHER, C., INGRAM, W. R., RANSON, S. W. *Diabetes insipidus and the neuro-hormonal controle of water balance: a contribution to the structure and function of the hypothalamic-hypophyseal system*. Ann Arbor: Edward Bros., 1938.
- 17 FLYNN, F. W., EVEY, L. A., MITCHELL, J. C. Heat-induced saliva secretion and thermoregulation in female rats with ventromedial hypothalamic lesions. *Physiol. Behav.*, v.26, p.779-82, 1981.
- 18 FONSECA, E. C., CASTRO, A. L., MATHEUS, G. Contribuição ao estudo das glândulas submandibulares, após lesão da eminência média do hipotálamo, em ratos. *Rev. Odontol. UNESP (São Paulo)*, v.18, p.165-74, 1989.
- 19 GANONG, W. F. *Fisiologia médica*. 5.ed. São Paulo: Atheneu, 1989. p.216-21.
- 20 GLANTZ, P. O. et al. Electron microscopic studies of human mixed saliva. *Acta Odontol. Scand.*, v.47, p.7-15, 1989.
- 21 _____. Structural studies of human saliva. *Acta Odontol. Scand.*, v.47, p.17-24, 1989.
- 22 HAINSWORTH, F. R., EPSTEIN, A. N. Severe impairment of heat-induced saliva-spreading in rats recovered from lateral hypothalamic lesions. *Science*, v.153, p.1255-57, 1966.

- 23 HAINSWORTH, F. R., STRICKER, E. M. Salivary cooling by rats in the heat. In: HARDY, J. D., GAGGE, A. P., STOLWIJK, J. A. J. *Physiological and behavioural temperature regulation*. 1970. p.611-26.
- 24 HALASZ, B., PUPP, L. Hormone secretion of the anterior pituitary gland after physical interruption of all nervous pathways to the hypophysio-trophic area. *Endocrinology*, v.77, p.553-62, 1965.
- 25 ISHII, Z. Changes in the dental and peridental tissues in albino rats injected with parotid and submaxillary saliva of dog. *Trans. Jpn. Pathol.*, v.33, p.303-5, 1943.
- 26 KANOSUE, K. et al. Modes of action of local hypothalamic and skin thermal stimulation on salivary secretion in rats. *J. Physiol.*, v.424, p.459-71, 1990.
- 27 KAWABE, H. et al. Both medial and lateral anterior hypothalamic pathways mediate the effects of intracerebroventricular (i.c.v.) angiotensin II (Ang II). *Fed. Proc.*, v.45, p.875, 1986.
- 28 KEELER, R. Natriuresis after preoptic lesions in rats. *Can. J. Physiol. Pharmacol.*, v.50, p.561-71, 1972.
- 29 KUMEGAWA, M., TAKUMA, T., TAKAGI, Y. Precocious induction of secretory granules by hormones in convoluted tubules of mouse sub-mandibular glands. *Am. J. Anat.*, v.149, p.111-4, 1977.
- 30 LACASSAGNE, A., CHAMORRO, A. Reactions a la testosterone de la glande sous-maxillaire atrophiée consecutivement à l'hipophysectomie chez la souris. *C. R. Séances. Biol. Fil.*, v.134, p.223-4, 1940.
- 31 LAMEY, P. J., LEWIS, M. A. O. Oral medicine in practice: salivary gland disease. *Br. Dent. J.*, v.168, p.237-43, 1990.
- 32 LISON, L. *Histochimie et cytochimie animales: principes et méthodes*. 3.ed. Paris: Gauthier-Villars, 1960. v.2.
- 33 LOPES, O. U., CIPOLA-NETO, J., SILVA JUNIOR, M. R. Hypothalamic component in pressor response to carotid occlusion in the rat. *Am. J. Physiol.*, v.233, p.H240-7, 1977.
- 34 MANDEL, I. D. The diagnostic uses of saliva. *J. Oral Pathol. Med.*, v.19, p.119-25, 1990.
- 35 ———. Salivary diagnosis: more than a lick and a promise. *J. Am. Dent. Assoc.*, v.124, p.85-7, 1993.
- 36 MELHADO, R. M. *Efeitos anti-andrógeno acetato de ciproterona na glândula submandibular do camundongo*. Araçatuba, 1980. 126p. Tese (Livro-Docência) – Faculdade de Odontologia, Universidade Estadual Paulista.
- 37 MELVIN, J. E., KOEK, L., ZHANG, G. H. A capitative Ca^{2+} influx is required for sustained fluid secretion in sublingual mucous acini. *Am. J. Physiol.*, v.26, p.G1043-50, 1991.

- 38 NAVAZESH, M., CHRISTENSEN, C., BRIGHTMAN, V. Clinical criteria for the diagnosis of salivary gland hypofunction. *J. Dent. Res.*, v.71, p.1363-9, 1992.
- 39 NUNES, M. T. O hipotálamo endócrino. In: AIRES, M. M. *Fisiologia*. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1991. p.667-78.
- 40 OGATA, A. et al. Chemical and pathological studies on the isolation of salivary hormone. *Igatu-to-Seibutsugaku*, v.5, p.253-7, 1944.
- 41 OGAWA, Y., CHANG, C. K., YAGI, T. Modulation of rat salivary carbonic anhydrase by pilocarpine. *Dent. Jpn. Tokyo*, v.27, p.17-23, 1990.
- 42 RENZI, A. et al. Involvement of the central nervous system in the salivary secretion induced by pilocarpine in rats. *J. Dent. Res.*, v.72, p.1481-4, 1993.
- 43 RHODUS, N. L., SCHUH, M. J. Effects of pilocarpine on salivary flow in patients with Sjögren's syndrome. *Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol.*, v.72, p.545-9, 1991.
- 44 SAGULIN, G. B. et al. Mechanism of action of calcitonin on secretion in rat submandibular gland. *Acta Physiol. Scand.*, v.136, p.435-42, 1989.
- 45 SATO, S., CHEN, J. N., MARUYAMA, S. A histochemical study of the effects of 19-nortestosterone on the RNA in the secretory tubules of the submandibular glands of castrated-adrenalectomized mice. *Arch. Oral Biol.*, v.22, p.563-9, 1977.
- 46 SCHALLERT, T. L. R., LEACH, R., BRAUN, J. J. Saliva hipersecretion during aphagia following lateral hypothalamic lesions. *Physiol. Behav.*, v.21, p.461-3, 1978.
- 47 SILVA NETO, C. R., PETENUSCI, S. O. Conteúdo iônico e protéico na saliva humana mista, em indivíduos jovens: secreção espontânea. *Rev. Bras. Odontol.*, v.47, p.10-2, 1990.
- 48 TOENNIES, G. The oxidative conversion of casein into protein free of methionine and tryptophane. *J. Biol. Chem.*, v.145, p.667-70, 1942.
- 49 TOTH, D. M. Temperature regulation and salivation following preoptic lesions in the rat. *J. Comp. Physiol. Psychol.*, v.82, p.480-8, 1973.
- 50 ULMANSKY, M. et al. A technique for the intubation of the parotid duct in rats. *Arch. Oral Biol.*, v.17, p.609-12, 1971.
- 51 WU, A. J., SHIP, J. A. A characterization of major salivary gland flow rates in the presence of medications and systemic diseases. *Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol.*, v.76, p.301-6, 1993.