

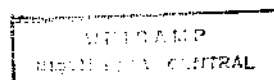
**ANTONIO RENZI**

**"PARTICIPAÇÃO DA REGIÃO ANTEROVENTRAL DO  
TERCEIRO VENTRÍCULO (AV3V) E DA ÁREA  
HIPOTALÂMICA LATERAL (AHL) NA SALIVAÇÃO INDUZIDA  
PELA PILOCARPINA EM RATOS"**

**Tese apresentada à Faculdade  
de Odontologia de Piracicaba da  
UNICAMP, para obtenção do título  
de Doutor em Ciências - Área  
de Farmacologia.**

**PIRACICABA, SP**

**- 1 9 9 1 -**



*Ao meu pai, José do Carmo e minha mãe, Aladia,  
exemplo de luta e dedicação.*

*Ao meu irmão José Pedro, pela luta sempre  
presente.*

*A minha esposa Rosana e ao meu filho Felipe  
Gabriel, com todo carinho e amor.*

## AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Dr. *THALES ROCHA DE MATTOS FILHO*,<sup>†</sup> pela orientação, amizade e exemplo de espiritualidade;

Ao Chefe do Departamento de Ciências Fisiológicas, da Faculdade de Odontologia de Araraquara - UNESP, Prof. Dr. *LUIZ ANTONIO DE ARRUDA CAMARGO* e ao Vice-Chefe Prof. Dr. *WILSON ABRÃO SAAD*, pelo ambiente de colaboração que facilitou o desenvolvimento desse trabalho;

Ao Prof. Dr. *JOSÉ EDUARDO NOGUEIRA DA SILVEIRA*, pela amizade e colaboração na realização desse trabalho;

Ao Prof. Dr. *JOSÉ VANDERLEI MENANI*, amigo de todos os momentos, pela inesgotável capacidade de trabalho, colaborando nas várias etapas desse trabalho;

Aos Técnicos: *APARECIDA CLEIDIONICE LUIZ*, *REGINALDO DA CONCEIÇÃO QUEIROZ*, *SILVIA FÓGLIA*, *SILAS PEREIRA BARBOSA* e *VANI RAFAEL*, pelo eficiente auxílio prestado;

As Secretárias: *SILVANA APARECIDA DERÓBIO MALAVOLTA* e  
*ELISA SAKAE SINZATO*

Aos Acadêmicos: *EDUARDO COLOMBARI* e  
*JOÃO GABRIEL DERÓBIO*

# **Í N D I C E**

Página

<b>1 - INTRODUÇÃO .....</b>	<b>01</b>
<b>2 - REVISÃO DA LITERATURA .....</b>	<b>06</b>
<b>2.1. Glândulas Salivares - Estudos Mor-</b>	
<b>fológicos e farmacológicos .....</b>	<b>07</b>
<b>2.2. Glândulas Salivares - Estudos sobre</b>	
<b>a participação do Sistema Nervoso</b>	
<b>Central e Endócrino .....</b>	<b>13</b>
<b>3 - PROPOSIÇÃO .....</b>	<b>19</b>
<b>4 - MATERIAL E MÉTODOS .....</b>	<b>21</b>
<b>5 - PLANEJAMENTO EXPERIMENTAL .....</b>	<b>27</b>
<b>6 - RESULTADOS .....</b>	<b>31</b>
<b>7 - DISCUSSÃO .....</b>	<b>60</b>
<b>8 - CONCLUSÃO .....</b>	<b>70</b>
<b>9 - SUMÁRIO .....</b>	<b>72</b>
<b>10- SUMMARY .....</b>	<b>76</b>
<b>11- REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....</b>	<b>80</b>

## 1 - INTRODUÇÃO

## 1 - INTRODUÇÃO

A salivacão é uma resposta específica de órgãos especializados, as glândulas salivares, a qual facilita a mastigação e deglutição. As parótidas, submandibulares e sublinguais, principais glândulas salivares, produzem um fluido com eletrólitos diluídos em quantidade relativamente grande e de suprimento contínuo (na ordem de 1 a 3 ml/min de saliva total em humanos adultos) sempre que o alimento adentra a boca. Este fluido peculiar, facilita a mastigação e deglutição dos alimentos pelas suas qualidades lubrificantes e, nos homens a salivacão também facilita a articulação das palavras. Ratos jovens desprovidos dos três principais pares de glândulas salivares pela excisão ou ligação do ducto ganham peso muito mais lentamente do que os da mesma ninhada, controles, e bebem muito mais água durante o período de alimentação, provavelmente numa tentativa de compensação pela perda do lubrificante natural, a saliva. (SIDDICK & DOWD, 1984).

As glândulas salivares, também produzem enzimas digestivas, retiram constituintes do plasma e servem a muitas outras funções que, direta ou indiretamente, influenciam a saúde oral de forma geral e a cárie de forma específica. A ablação das glândulas salivares ou alterações em suas secreções tem permitido a compreensão dos estágios iniciais formativos de cáries, de cálculos e da doença periodontal. BIXLER e cols. (1955), foi o primeiro a relacionar os efeitos da castração, dos hormônios sexuais e da diminuição da salivacão com a incidência de cáries no rato. A orquidectomia e a ovariectomia, aos 30 dias de idade,

resultaram em uma significativa redução das cáries dentais. A castração (ovariectomia e orquidectomia), aos 60 dias de idade, não alterou o índice de cáries. Nos animais castrados e sialoadenectomizados também houve redução efetiva na incidência de cáries.

Sabe-se que os dois mecanismos principais que controlam a secreção das glândulas digestivas são o sistema nervoso e os hormônios. Portanto, as glândulas salivares servem de modelo para o estudo do efeito de hormônios e do sistema nervoso autônomo sobre a estrutura e função glandulares. Exemplificando, a tiroxina e os hormônios sexuais alteram o metabolismo, a histologia e a histoquímica das glândulas salivares (*LEBLOND & GRAD, 1948; GRAD & LEBLOND, 1949; ARVY e cols., 1950; SHAFER & MUHLER, 1953; SHAFER & MUHLER, 1956 e SHAFER & MULLER, 1960*); o sistema nervoso autônomo mantém a integridade funcional e estrutural das glândulas salivares (*NORBERG & OLSON, 1965; EMMELIN e cols., 1968 e BRENNER & WULF, 1981*).

A estimulação elétrica do núcleo ventromediano (NVM) do hipotálamo aumenta o tônus simpático das glândulas salivares, acelerando a síntese de proteínas e a estimulação elétrica da área hipotalâmica lateral (AHL) aumenta o potencial de extrusão dessas proteínas (*MASAI, 1951; FUJIMOTO e cols., 1972*). *ROZKOWSKA & FONBERG (1972, 1973)*, verificaram que, com lesões bilaterais do NVM, em cães, havia mudanças nos reflexos salivatórios condicionados e incondicionados. O mesmo efeito não foi observado em cães com lesões da AHL, mas sim, uma redução da secreção salivar. *SCHARLLET e cols. (1978)*, demonstraram que, a lesão do núcleo hipotalâmico lateral do rato, produz modificações na

quantidade de saliva secretada, sendo que logo após a lesão, há uma hipersalivação e, posteriormente, uma redução do fluxo salivar, estando abaixo dos níveis normais. *FLYNN e cols. (1981)* observaram que a lesão do NVM em ratas diminui a salivação, quando esses animais são expostos a temperaturas que variam de 22°C a 41°C. *RAMOS e cols. (1988)* demonstraram que a lesão do núcleo parvocelular, em ratos, aumenta o potencial secretório das glândulas submandibular e sublingual. A lesão eletrolítica do núcleo paraventricular do hipotálamo, em ratos, altera a histomorfologia e a histoquímica da glândula submandibular (*UTRILLA, 1977*). Em ratos com lesão da eminência média do hipotálamo, constatou-se comprometimento morfológico do parênquima da glândula submandibular (*FONSECA e cols., 1989*). A lesão aguda (02 dias) e crônica (07, 15 e 30 dias) da região anteroventral do 3º ventrículo (AV3V) promove atrofia do parênquima, fibrose no tecido conjuntivo e várias alterações morfológicas da glândula submandibular do rato. Essas alterações foram comprovadas através de estudos morfométricos e estereológicos (*RENZI e cols. 1990*).

A região AV3V é uma área importante do sistema nervoso central (SNC) e está intimamente relacionada com a regulação do equilíbrio hidro-eletrolítico (*BRODY e cols., 1978; DE LUCA JR. e cols., 1989*); com várias alterações endócrinas (*CARITHERS e cols., 1980*); com a homeostase do organismo, quer controlando os fluídos corporais (*JOHNSON & BUGGY, 1978*) ou regulando parâmetros hemodinâmicos (*BRODY e cols., 1978; MENANI e cols., 1988 e 1990*).

A participação da AHL nas alterações do tônus simpático e parassimpático foi observado por vários autores. *FOLKOW &*



*RUBINSTEIN (1965)* observaram mudanças no comportamento exploratório e ingestivo durante a estimulação elétrica da AHL de gatos e também aumento da pressão arterial média, da motilidade e do fluxo sanguíneo intestinal. *OPSHAL e cols. (1977a)* mostraram um aumento da atividade secretora de catecolaminas da glândula adrenal após vários dias da lesão eletrolítica da AHL. *SPENCER e cols. (1988)* observaram alterações do tônus simpático cardiovascular em ratos, durante a injeção intracerebroventricular de L-glutamato na AHL.

A lesão bilateral da área hipotalâmica lateral (AHL) em ratos e gatos provoca diminuição ou ausência da ingestão de alimentos nos primeiros dias após a cirurgia cerebral (*ANAND & BROBECK, 1951a; 1951b*). *MONTEHURRO & STEVENSON (1957)* mostraram que a lesão unilateral da AHL produz hipodipsia enquanto a lesão bilateral produz afagia e adipsia. Essas alterações constituem o que se convencionou chamar de síndrome do hipotálamo lateral (*TEITELBAUM & STELLAR, 1954; TEITELBAUM & EPSTEIN, 1962*).

## 2 - REVISÃO DA LITERATURA

## 2 - REVISÃO DA LITERATURA

### 2.1. Glândulas Salivares - Estudos Morfológicos e Farmacológicos

*CLAUDE BERNARD (1864)* foi a primeira pessoa a observar os efeitos da secção dos nervos das glândulas salivares. Verificou que dois ou três dias após a secção de todos os nervos da glândula submandibular do cão, ocorria diminuição do fluxo salivar; essa diminuição permanecia durante cinco semanas e cessava. Durante esse período, a glândula diminuía progressivamente de tamanho. *LANGLEY (1889)* notou que, após a secção do nervo corda do tímpano do cão ocorria uma considerável atrofia das glândulas submandibular e sublingual. *MAXIMOW (1901)* investigou a histologia da glândula submandibular do cão submetida à secção do nervo corda do tímpano. Observou muitas alterações nos ductos estriados, após o vigésimo dia da neurotomia. As células dos ductos estriados diminuíram de tamanho, notando-se, ao redor do núcleo, uma área branca, e que o arranjo dos grânulos não era normal. O volume das células alveolares encontrava-se diminuído, e isso seria responsável pela perda da massa glandular. *RAWLINSON (1935)*, repetindo o experimento de *Maximow*, notou alterações na glândula submandibular do lado oposto. Acreditava que as alterações encontradas nas células alveolares da glândula submandibular "paralisada" era duvidosa, primeiro pela atividade secretora e mais tarde, pelo estágio de repouso.

*SNELL & GARRET (1960)*, estudando glândulas submandibulares em ratos submetidos a desnervação parassimpática, verificaram aumento na quantidade de tecido conjuntivo intersticial, especialmente durante a terceira e quarta semanas, porém, mais tarde, isso retornava ao normal. Houve um aumento na quantidade de secreção presente nos ductos, acompanhada de estriações e aumento da vacuolização no citoplasma das células do ducto estriado. As células do ácino se tornavam menores e seus núcleos pareciam menores. O citoplasma destas células mostravam uma redução em sua atividade tintorial e aumento da vacuolização. Mudanças similares, porém menores, ocorriam nas glândulas do lado oposto onde os nervos parassimpáticos estavam intactos.

*NORBERG & OLSON (1965)*, estudando a inervação adrenérgica das glândulas salivares por métodos histoquímicos, pela observação dos receptores adrenérgicos, encontraram inervação adrenérgica nos ácinos serosos da glândula submandibular e parótida. Não foram detectados receptores adrenérgicos nos ácinos mucosos da glândula sublingual e nos ductos das glândulas salivares maiores. Fibras adrenérgicas vasomotoras foram encontradas nas arteríolas e veias do estroma das três glândulas salivares maiores.

*EMMELIN & MUREN (1950)* e *EMMELIN e cols. (1968)*, estudando os nervos parassimpáticos da glândula submandibular, observaram que estes afetam células-alvo tanto nos ductos quanto nos ácinos; e os receptores, nessas células medeiam efeitos colinérgicos (muscarínicos) sobre secreção de fluido e

eletrolitos.

**ARGONZ (1962)**, administrando isoproterenol, 20 mg em 0,5 ml de solução fisiológica, em ratos, observou aumento de tamanho e da secreção salivar da glândula submandibular. A análise microscópica glandular revelou hipertrofia dos ácinos, com diminuição do diâmetro dos ductos. Em animais hipofisectomizados e injetados com 10 mg de isoproterenol também ocorreu aumento de tamanho glandular.

**BRENNER & WULF (1981)**, injetando dobutamine (agonista  $\beta_1$  adrenérgico) ou isoproterenol (um agonista beta adrenérgico inespecífico), observaram que estes produzem hipertrofia na glândula submandibular de ratos machos. Esse aumento glandular pela ação da dobutamine ou isoproterenol é caracterizado pelo aumento significativo de proteínas e de ácidos nucleicos (RNA e DNA). O metropolol, um antagonista seletivo ( $\beta_1$ ), inibe a hipertrofia glandular induzida pela dobutamine ou isoproterenol. O metropolol também inibe o aumento de proteínas e de ácidos nucleicos induzida pela injeção de dobutamine ou isoproterenol.

**GREEN e cols. (1979)** observaram que injeções intravenosas de clonidina (agonista adrenérgico) levavam a uma redução significante da secreção salivar, em gatos, evocada por estimulação elétrica do sistema nervoso central. **MONTASTRUC e cols. (1989)** verificaram que injeções intravenosas de ioimbina (antagonista adrenérgico) induzia aumento da secreção salivar em cães, a qual se mantinha elevada por 45 minutos.

*PAZO e cols. (1981)* observaram que a administração sistêmica de L-dopa e dopamina, induz a uma resposta marcante secretora na glândula submandibular do rato. Esses efeitos são bloqueados pelo pré-tratamento com fentolamina e propranolol. O bloqueio ganglionar pelo hexametônio e a denervação reduzem a resposta secretora causada pela L-dopa ou dopamina. Portanto, receptores dopaminérgicos podem estar envolvidos na resposta secretora juntamente com os adrenoreceptores alfa e beta.

*WELLS & MUNSON (1960)* observaram que, após 24 horas de extração do dente incisivo inferior do rato, a glândula submandibular aumenta em 12% no peso fresco e no seco. O efeito de extrações repetidas foi aumentado pelo aumento da frequência de extrações e pelo prolongamento do período de extrações. Após a cessação de uma série de extrações, o peso das glândulas hipertrofiadas retorna gradualmente até aproximar-se do nível controle. A amputação repetida de somente um dente incisivo inferior foi muito menos efetiva do que a amputação de ambos.

*HOUSSAY e cols. (1962)* descreveram as alterações histológicas, na glândula submandibular do rato, provocadas pela secção do nervo corda do tímpano com a extração do incisivo inferior. Os túbulos granulados desapareciam e ocorria reposição por tecido fibroso. Os ductos excretores foram submetidos a atrofia e dilatação. Nos ratos submetidos somente à secção do nervo corda do tímpano, observou-se, na glândula submandibular, substituição do parênquima por tecido fibroso, exceto nos ductos excretores.

*HOUSSAY & UGARTE (1969)*, verificaram que a desnervação parassimpática, pela secção bilateral do nervo corda lingual

produz atrofia na glândula submandibular do rato. Essa desnervação não previne a hipertrofia na glândula submandibular, causada por repetidas extrações bilaterais dos incisivos inferiores de ratos. A desnervação simpática, pela secção do gânglio cervical superior, também produz atrofia na glândula submandibular do rato. Esta desnervação simpática não previne a hipertrofia na glândula submandibular, causada por sucessivas extrações bilaterais dos incisivos inferiores de ratos. O bloqueio da hipertrofia glandular é possível quando da desnervação simultânea das vias nervosas simpáticas e parassimpáticas.

*TAMARIN & SREEBNY (1962)* submeteram ratos à inanição, nos períodos de: 0, 3, 12, 24, 48, 72, 120, 168 e 216 horas. Observando as estruturas que formam a glândula submandibular do rato, notaram redução do tamanho das células dos ductos e dos ácinos; essa redução aumentava progressivamente, com o aumento do tempo de inanição. As alterações morfológicas foram mais acentuadas nas células acinares dos ductos. O núcleo das células dos ductos eram mais longos que os núcleos das células acinares, e a inanição não tinha efeito na forma e no tamanho do núcleo.

*TAMARIN (1971); EMMELIN e cols. (1974); HARRISON & GARRET (1976); GARRET & PARSONS (1979)* estudaram glândulas salivares submetidas à ligadura de seus ductos. Observaram severas alterações morfológicas das células dos ductos e dos ácinos, tais como: atrofia dos ácinos e das células dos ductos excretores e diminuição dos grânulos de secreção dos ductos

granulosos.

*CONTRERA e cols. (1986)* estudaram as alterações morfológicas e morfométricas na glândula submandibular do rato provocadas pela secção do nervo corda lingual. Houve diminuição no peso glandular nos períodos de 2, 3, 7, 14, 30 e 60 dias após a neurotomia. A partir de 2 dias, foram observadas regiões de atrofia mais acentuadas na região acinar do que nas outras estruturas. A partir de 60 dias de observação, as glândulas desnervadas pareciam caminhar para uma regeneração do parênquima. As glândulas, após secção do corda lingual, apresentavam valores dos diâmetros acinares menores para os grupos de 2, 3, 7, 14, 30 e 60 dias, em relação aos controles.



## 2.2 - Glândulas Salivares - Estudos sobre a participação dos Sistemas Nervoso Central e Endócrino

*ROZKOWSKA & FONBERG (1972)* observaram que lesões bilaterais de AHL, em cães, produziam uma acentuada diminuição nas reações salivatórias incondicionadas (35-75%), quando comparado com o período pré-lesão. *ROZKOWSKA & FONBERG (1973)* verificaram que lesões bilaterais do NVM em cães, produziam aumento da secreção salivar quando os animais eram submetidos à estímulos incondicionados e condicionados. *POWLEY (1977)* propôs uma "hipótese de fase cefálica" para ressaltar os efeitos das lesões eletrolíticas no NVM. Essa hipótese sugere que lesões no NVM resultem em modificações dos reflexos dos nervos cranianos ao estímulo apetitivo. Esses reflexos cefálicos, tais como secreção de insulina, secreção gástrica ácida e salivação, ocorre em animais com lesão do NVM. Esse autor propôs que a desinibição da resposta cefálica seja responsável pela síndrome do NVM. *SCHALLERT e cols. (1978)* demonstraram que após a lesão do núcleo hipotalâmico lateral, há modificações na quantidade de saliva secretada, sendo que, logo após, há uma hipersalivação e posteriormente uma redução na quantidade de saliva, abaixo dos níveis normais.

*UTRILLA (1977)* demonstrou que a lesão eletrolítica bilateral do núcleo paraventricular do hipotálamo de ratos compromete o parênquima da glândula submandibular, aos 20 e 40 dias após a lesão. As células dos ácinos estavam hipotróficas e

houve um ligeiro aumento dos grânulos acidófilos na região apical das células dos ductos estriados. Aos 60 e 90 dias após a lesão hipotalâmica, as células dos ductos estavam enriquecidos de grânulos acidófilos dispostos na região supranuclear. O parênquima acinoso manteve-se atrofiado e os núcleos mais condensados. A histometria demonstrou uma diminuição percentual dos ácinos em relação aos ductos estriados da glândula submandibular.

*FLYNN e cols. (1981)* demonstraram que a lesão do NVH em ratas diminui a salivação, quando estes animais são expostos à temperaturas que variam de 22°C a 41°C. Entretanto, as maiores variações do fluxo salivar ocorrem nos aumentos da temperatura corporal das ratas (38,1°C à 38,4°C, mas não a temperatura de 38,7°C).

*RAHDS e cols. (1988)* observaram que a lesão eletrolítica do núcleo parvocelular (formação reticular) induzia um aumento da secreção salivar, que foi mais acentuado no complexo glandular submandibular e sublingual.

*FONSECA e cols. (1989)* observaram que a lesão da eminência média hipotalâmica altera o arranjo dos ácinos, dando a impressão da existência de maior número de células por unidade de área. Os ácinos mostravam-se diminuídos em tamanho, sendo que as células que os compunham não apresentavam características de normalidade, o citoplasma estava reduzido em volume e sem limites nítidos; núcleo era pouco volumoso, com a cromatina densamente

distribuída e nucléolo não evidenciável. Notava-se ligeiro aumento dos ductos granuloses nos animais com lesão da eminência média hipotalâmica. Essas alterações morfológicas ocorriam nos animais lesados, após 3, 7 e 14 dias, acentuando-se nos animais lesados, aos 28 e 35 dias.

*RENZI e cols. (1989)* observaram várias alterações na glândula submandibular de ratos, após a destruição do NVM através de corrente eletrolítica. Esta alteração aparecia após 5 dias de lesão, e se acentuavam gradativamente, atingindo grau máximo aos 90 dias. As alterações morfológicas das glândulas submandibulares eram as seguintes: 1) hipotrofia dos ácinos; 2) aumento da quantidade de ductos granuloses.

*RENZI e cols. (1990)*, mostraram que a lesão aguda ou crônica da região AV3V promove várias alterações morfológicas nas células dos ácinos e ductos da glândula submandibular do rato. Nos ratos com lesão AV3V, os ácinos apresentam-se atróficos aos 2, 7, 15 e 30 dias após a lesão, com células apresentando características tintoriais alteradas, e parecendo rompidas. Os núcleos das células diminuíram de tamanho nos animais com 2, 7, 15 e 30 dias após a lesão. Os ductos da glândula submandibular apresentavam-se semelhantes aos controles, tanto em forma como em tamanho, porém com núcleos menores e picnóticos, e alguns deles rompidos. Com relação aos ductos estriados, observou-se diminuição das estriações basais.

*KANOSUE e cols. (1990)* observaram variações no fluxo salivar de ratos anestesiados após a estimulação térmica ou elétrica de várias áreas do sistema nervoso central. A estimulação térmica, bilateral, da área preóptica medial e do hipotálamo anterior promove aumento da secreção salivar. A estimulação térmica, unilateral, da área preóptica medial produz elevado aumento da secreção das glândulas submandibulares/sublinguais quando comparado com a secreção das mesmas glândulas contralaterais. A estimulação elétrica, unilateral, nas mesmas áreas produziu salivação somente nas glândulas salivares ipsilaterais.

*HARKIN (1886)*, ao observar, em um paciente, que a dor provocada pela tumefação bilateral das parótidas diminuía sempre que esta se encontrava em período de gestação, provou a influência da ação hormonal sobre as glândulas salivares. *OGATA (1934)*, constatou que as células secretoras das glândulas salivares absorvem os hormônios, lançando-os nos ductos e, após algumas transformações, devolvem-nos ao líquido tissular, onde são captados pela via circulatória, para desempenhar seu papel hormonal em locais diversos do organismo.

*LEBLOND & GRAD (1948)*, *ARVY e cols. (1950)* e *SHAFFER & HUHNER (1956)*, estudando animais com alterações no funcionamento da tireóide, verificaram modificações marcantes na estrutura da glândula submandibular. A administração de propiltiouracil ou de iodo, em animal jovem ou adulto, induzia uma atrofia evidente dos ductos estriados, com desaparecimento dos grânulos de secreção.

*GRAD & LEBLOND (1949)* e *SHAFFER & MUHLER (1960)* observaram que a administração simultânea de tiroxina e testosterona provocava aumento maior dos ductos do que quando da administração isolada, quer de tiroxina ou testosterona.

*SHAFFER & MUHLER (1953)*, estudando ratos castrados, observaram que a glândula submandibular estava diminuída em peso e que havia diminuição no tamanho e no número de ductos estriados. O exame microscópico da glândula submandibular do rato, após tireoidectomia ou orquidectomia, revelou que a causa principal da diminuição do peso glandular era a involução dos ductos intralobulares. Os ácinos apresentavam somente alterações pequenas, exceto pela depleção do material PAS-positivo.

*BAKER & ABRAMS (1955)*, estudando a glândula submandibular de ratos hipofisectomizados, verificaram peso glandular menor, como também decréscimo significativo na relação peso glandular/peso corporal. Entretanto, existe desacordo no que se refere ao tamanho dos ácinos da glândula submandibular de ratos hipofisectomizados. Enquanto que, para *SREEDNY e cols. (1958)*, não havia alteração no tamanho dos ácinos, para *YOSHIMURA (1956)* e *ARGONZ e cols. (1962)*, há uma diminuição apreciável.

*BAKER e cols. (1964)*, executando hipofisectomia em ratos e sacrificando-os no período de 32 e 205 dias após a cirurgia, verificaram haver uma variação considerável na histologia da porção acinar da glândula submandibular. Havia diminuição no tamanho dos ácinos e depleção no conteúdo de

mucopolissacarídeos ácidos; além disso, os grânulos PAS - positivos apresentavam-se dispersos e menos corados. O RNA apresentava-se reduzido. A administração de  $I^{131}$  reduzia o peso absoluto da glândula como também a relação peso glandular/peso corporal, mesmo quando a deficiência não era suficientemente severa para causar perda de peso.

**3 - PROPOSIÇÃO**

### 3 - PROPOSIÇÃO

O objetivo do trabalho foi o de estudar o efeito da lesão aguda ou crônica da região anteroventral do 3º ventrículo (AV3V) ou o efeito da lesão bilateral da área hipotalâmica lateral (AHL) na salivação basal e na salivação induzida pela injeção intraperitoneal (IP) ou intracerebroventricular (ICV) de pilocarpina em ratos.



## 4 - MATERIAL E MÉTODOS

## 4 - MATERIAL E MÉTODOS

### 4.1. Animais

Foram utilizados 221 ratos machos, Holtzman com peso variando de 250 a 300 g, procedentes do biotério do Campus de Araraquara - UNESP. Os animais foram mantidos em gaiolas individuais e alimentados com ração sólida (Labina - Anderson Clayton) e água de torneira.

Nos primeiros 5 dias após a lesão da AV3V, período de adipsia acentuada, onde os ratos reduziam a ingestão de água, eles receberam polenta com alimentação suplementar, para impedir eventual desidratação. Nos demais períodos, receberam somente ração granulada e água de torneira.

Nos 7 dias após a lesão bilateral da AHL, período de afagia e adipsia, quando os ratos reduziam a ingestão de alimento e água, receberam leite por intubação (TEITELBAUM & EPSTEIN, 1962).

### 4.2. Técnica de lesão eletrolítica da região AV3V e da AHL

Após anestesia pelo éter sulfúrico, os ratos foram adaptados a um aparelho estereotáxico (modelo David Kopf). Após a antisepsia, procedeu-se a uma incisão longitudinal da pele e tecido subcutâneo da cabeça. O perióstio foi afastado, expos-se as suturas de bregma e lambda, que serviram como referência para nivelamento da cabeça do animal. Determinado o ponto de

introdução do eletrodo, foi executada a trepanação da abóboda com auxílio de uma broca de aço esférica nº 8, tomando-se o cuidado para evitar lesão do seio venoso longitudinal.

Através desse orifício, que tinha de 1 a 2 mm de diâmetro, e afastando-se cuidadosamente o seio venoso longitudinal com auxílio de uma agulha hipodérmica, foi introduzido um eletrodo de aço inoxidável de 0,45 mm de diâmetro, isolado em toda sua extensão, exceto 0,5 mm da extremidade. A localização da extremidade do eletrodo foi obtida com os parâmetros estereotáxicos do atlas de *DE GROOT (1959)* e *KONING & KLIPPEL (1963)*. Para a lesão da AV3V foram utilizados os seguintes valores: anteroposterior (AP) = 0,3 a 0,0 mm anterior à sutura do bregma; lateral (L) = 0,0 mm da linha mediana, e vertical (V) = 7,0 mm abaixo da duramater e para a lesão bilateral da AHL foram: AP = 0,5 mm posterior à sutura de bregma; L = 1,6 mm da linha mediana; V = 8,0 mm abaixo da duramater. As lesões foram efetuadas pela passagem de uma corrente elétrica anódica de 2 mA durante 15 segundos (lesão da AV3V) e 1 mA durante 15 segundos (lesão da AHL), usando-se uma fonte de corrente contínua, que permite a regulação eletrônica desses parâmetros.

Um outro grupo de animais (lesão fictícia) foi submetido aos mesmos procedimentos de cirurgia cerebral a que foram submetidos os animais lesados, exceto que não foram expostos à passagem de corrente elétrica.

### 4.3. Implante de cânulas no ventrículo lateral (VL)

Terminada a lesão da AV3V ou da AHL, os animais eram mantidos ao aparelho esteréotático para o implante de cânula de demora no VL. As coordenadas utilizadas para a localização do VL obtidas do atlas de *DE GROOT (1959)* foram: AP = 0,0 mm da linha de bregma; L = 1,5 mm da sutura sagital e V = 3,0 mm abaixo da calota craniana. As cânulas introduzidas no cérebro eram fixadas no crânio com pequenos parafusos e resina acrílica.

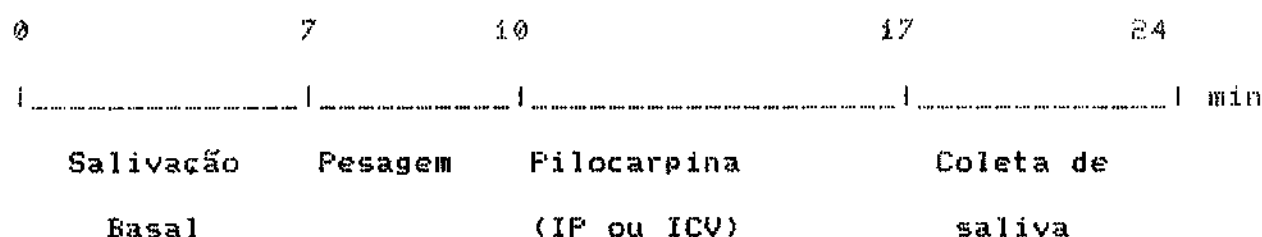
Como medida profilática, após a cirurgia cerebral, todos os animais foram injetados intramuscularmente com 0,2 ml de pentabiótico veterinário (Fontoura-Weyth).

### 4.4. Coleta de saliva

Os ratos foram anestesiados com uretana (1,25 g/kg, IP). A saliva total das glândulas salivares foi coletada com o auxílio de pequenas bolas de algodão, previamente pesadas (balança de precisão Owalabor), colocadas nas regiões intra-orais dos ductos das glândulas parotídea, submandibular e na região disto-lingual, baseado nos métodos de *FLYNN e cols. (1980)* e *RAMOS e cols. (1988)*.

O tempo de coleta foi de 7 minutos antes da injeção de pilocarpina (salivação basal) e 7 minutos depois da injeção de pilocarpina periférica (1 mg/kg, IP) ou central (500 nmol - 1 µl no VL). Após a injeção de pilocarpina IP ou central ICV, aguardou-se um tempo de 7 minutos para o início da coleta de

saliva.



#### 4.5. Drogas utilizadas

Foram utilizadas as seguintes drogas:

- Pilocarpina (Sigma).
- Solução salina fisiológica (NaCl 0,15 M).
- Uretana (Riedel - De Haen AG).
- Hexametônio (Sigma)
- Pentabiótico veterinário (Fontoura-Weyth)
- éter sulfúrico
- Merthiolate

#### 4.6. Injeção de drogas no cérebro

Soluções das drogas (pilocarpina e solução fisiológica) foram injetadas intracerebroventricularmente num volume de 1 ul, com o auxílio de uma seringa Hamilton de 10 ul com graduação de 0,1 ul. A seringa foi conectada a uma agulha injetora (Mizzy-Slide Pak) por meio de um tubo de polietileno PE-10. O comprimento da agulha injetora (12 mm) era 2 mm maior do que o

comprimento da cânula guia fixada no cérebro (10 mm).

#### **4.7. Histologia dos cérebros**

Os cérebros foram fixados em formol a 10% durante 48 horas e, posteriormente, seccionados com 10 a 20 micrometros de espessura, em micrótomo de congelamento (American Optical Cryo Cutt), e submetidos à rotina histológica de coloração com hematoxilina-eosina, para se verificar a posição da cânula de demora no VL e a extensão das lesões da AV3V e da AHL.

#### **4.8. Estatística**

Os dados foram expressos pela média e erro padrão da média. O teste *t* de Student foi utilizado para se verificar a significância dos resultados observados. O nível de significância foi fixado em 0,05.

## **5 - PLANEJAMENTO EXPERIMENTAL**

## **5 - PLANEJAMENTO EXPERIMENTAL**

### **5.1. Efeito da lesão aguda da região AV3V sobre a salivação**

Em ratos com lesão da região AV3V ou lesão fictícia (6 horas e 2 dias) foi coletada a saliva total basal e a induzida pela injeção periférica de pilocarpina.

### **5.2. Efeito da lesão crônica da região AV3V sobre a salivação**

Em ratos com lesão da região AV3V ou lesão fictícia (7 e 15 dias) foi coletada a saliva total basal e induzida pela injeção periférica de pilocarpina.

### **5.3. Efeito da injeção de pilocarpina no VL sobre a salivação em ratos com lesão aguda da região AV3V**

Em ratos com lesão da região AV3V ou lesão fictícia (6 horas e 2 dias) foi coletada a saliva total basal e induzida pela injeção de pilocarpina ou salina no VL.



#### **5.4. Efeito da injeção de pilocarpina no VL sobre a salivação em ratos com lesão crônica da região AV3V**

Em ratos com lesão da região AV3V ou lesão fictícia (7 e 15 dias) foi coletada a saliva total basal e induzida pela injeção de pilocarpina ou salina no VL.

#### **5.5. Efeito da lesão aguda da AHL sobre a salivação**

Em ratos com lesão aguda da AHL ou lesão fictícia (1 dia) foi coletada a saliva total basal e a induzida pela injeção periférica de pilocarpina.

#### **5.6. Efeito da lesão crônica da AHL sobre a salivação**

Em ratos com lesão crônica da AHL ou lesão fictícia (7 dias) foi coletada a saliva total basal e a induzida pela injeção periférica de pilocarpina.

### **5.7. Efeito da injeção de pilocarpina no VL sobre a salivação em ratos com lesão aguda da AHL**

Em ratos com lesão da AHL ou lesão fictícia (1 dia) foi coletada a saliva total basal e a induzida pela injeção de pilocarpina ou salina no VL.

### **5.8. Efeito da injeção de pilocarpina no VL sobre a salivação em ratos com lesão crônica da AHL**

Em ratos com lesão da AHL ou lesão fictícia (7 dias) foi coletada a saliva total basal e a induzida pela injeção de pilocarpina ou salina no VL.

### **5.9. Efeito da injeção de pilocarpina no VL sobre a salivação em ratos submetidos ao bloqueio ganglionar autonômico**

Em ratos com cânula de demora no VL, injetamos hexametônio (15 mg/kg de peso, IP). Vinte minutos após a injeção de hexametônio, injetamos pilocarpina no VL.

**6 - RESULTADOS**

## 6 - RESULTADOS

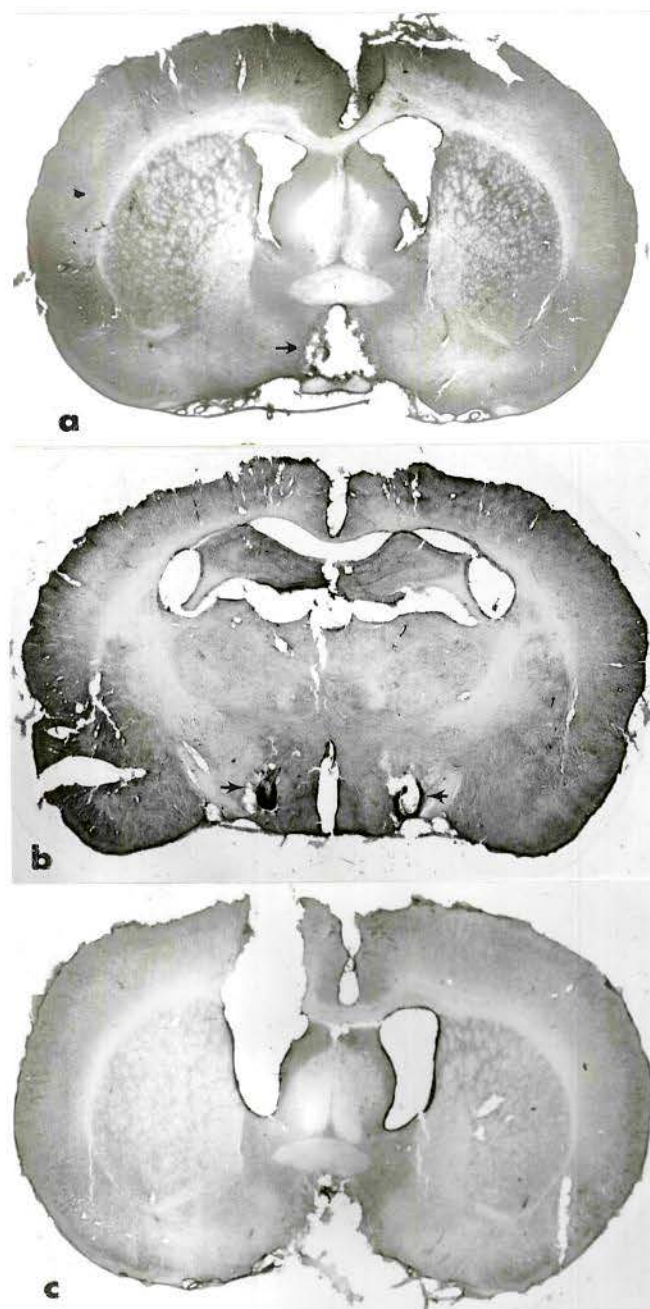
### 6.1. Histologia dos cérebros

Foram feitos cortes dos cérebros de todos os animais estudados e somente aqueles que apresentavam lesão típica da AHL (DE GROOT, 1959) ou lesão típica da AV3V como descrito na literatura (BRODDY e cols, 1978), foram considerados na análise dos resultados. Foi também considerado na seleção dos animais o local da injeção no VL.

Entre as estruturas consistentemente destruídas pela lesão da AV3V, estavam incluídas as porções periventriculares do núcleo pré-óptico, núcleo hipotalâmico anterior e núcleo pré-óptico médio e a parede anterior do terceiro ventrículo, incluindo o órgão vasculoso da lâmina terminalis (OVLT). A lesão AV3V nunca se estendeu caudalmente ao núcleo arqueado da eminência média ou dorsalmente acima da comissura anterior. A Figura 1a ilustra a lesão típica da região AV3V observada em um dos animais utilizados nos experimentos.

As lesões bilaterais da AHL estavam localizadas abaixo e lateralmente ao fornix, com destruição da porção medial e posterior do hipotálamo lateral incluindo o fascículo prosencefálico medial. A Figura 1b ilustra a lesão bilateral da AHL observada em um dos animais utilizados nos experimentos.

A figura 1c mostra o trajeto da cânula direcionada para o VL em um rato com lesão da região AV3V.



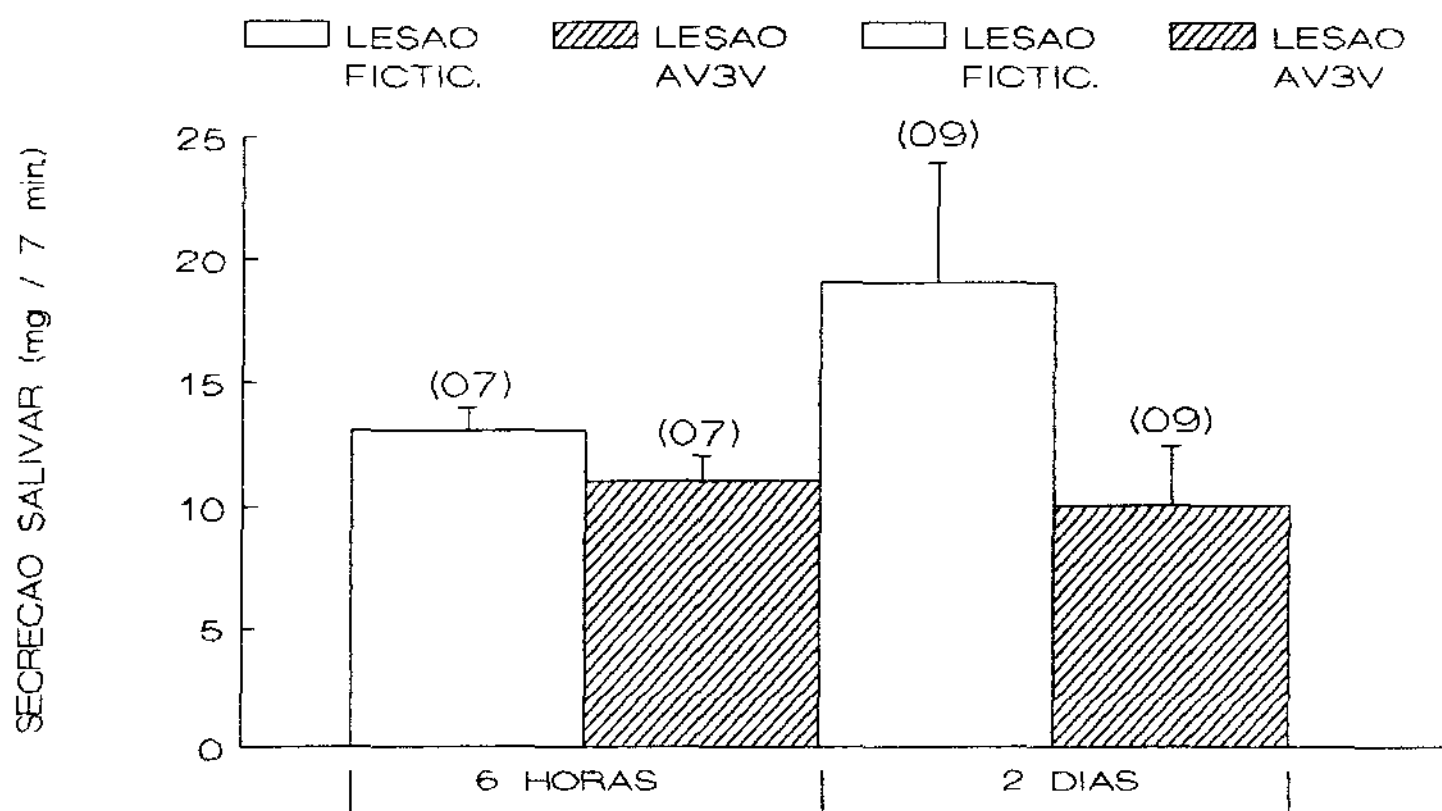
**Figura 1:** Cortes histológicos, mostrando : a- a lesão típica da região AV3V; b- a lesão bilateral da AHL; c- trajeto da cânula direcionada para o VL em um cérebro com lesão AV3V.

## **6.2. Efeito da lesão aguda da região anteroventral do terceiro ventrículo (AV3V) sobre a salivação basal e induzida pela injeção intraperitoneal de pilocarpina**

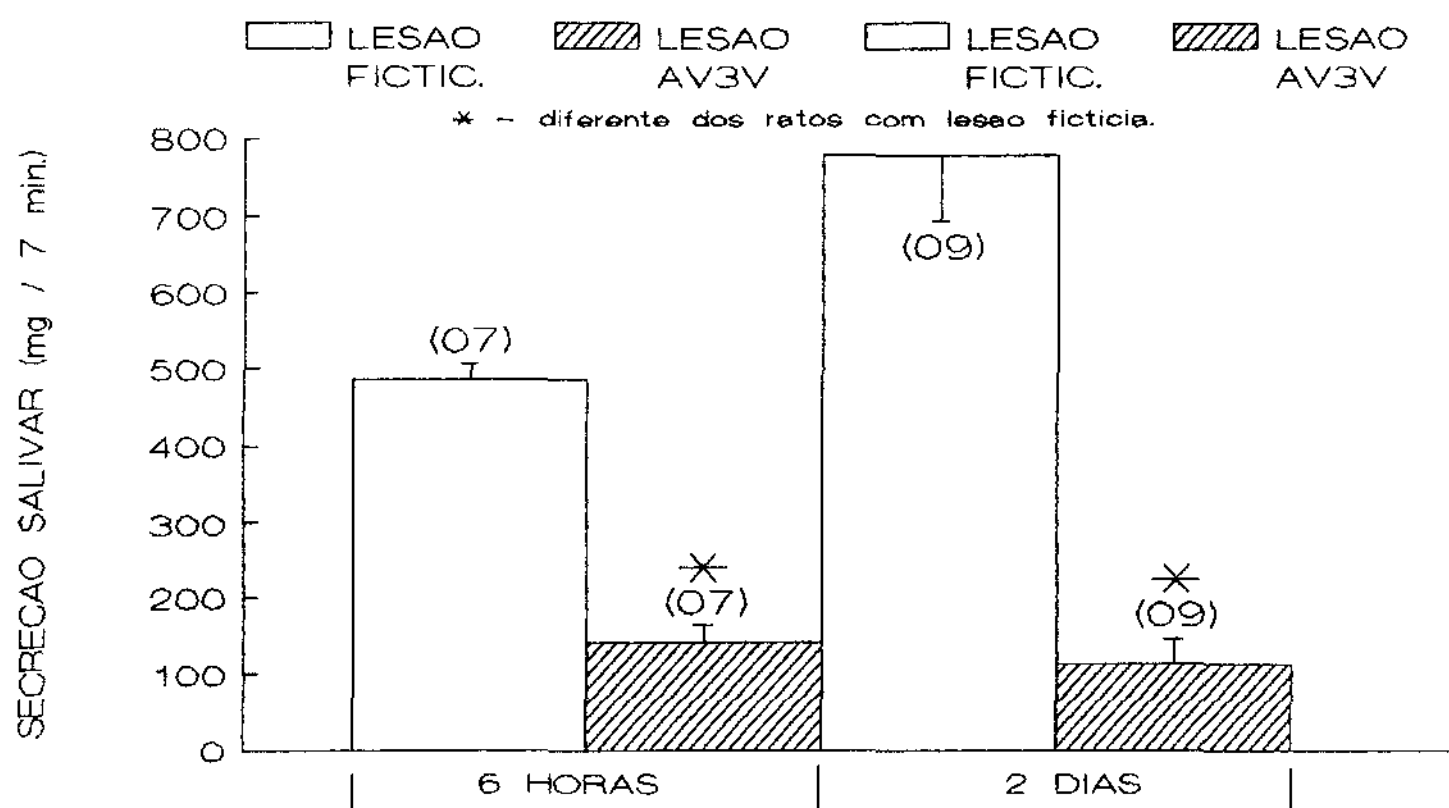
Em ratos com lesão aguda da AV3V ou lesão fictícia (6 horas 2 dias), foi coletada a saliva total basal e a saliva induzida pela injeção intraperitoneal (IP) de pilocarpina.

Os resultados para o grupo de ratos lesados (6 horas) antes da injeção de pilocarpina foram:  $11 \pm 1,0$  mg/7 min e após a injeção de pilocarpina:  $142 \pm 22$  mg/7 min (Figuras 2 e 3, Tabela I). No grupo com lesão fictícia, a salivação antes da pilocarpina foi de  $13 \pm 1$  mg/7 min e após a pilocarpina foi  $486 \pm 22$  mg/7 min (Figuras 2 e 3, Tabela I).

Os resultados para o grupo de ratos lesados (2 dias) antes da injeção de pilocarpina foram:  $10 \pm 2,4$  mg/7 min e após a injeção de pilocarpina  $113 \pm 32$  mg/7 min (Figuras 2 e 3, Tabela I). No grupo cm lesão fictícia, a salivação antes da pilocarpina foi de  $19 \pm 5$  mg/7 min, e após a pilocarpina foi  $778 \pm 85$  mg/7 min (Figuras 2 e 3, Tabela I).



**Figura 2:** Secreção salivar basal (mg/7 min) antes da injeção intraperitoneal de pilocarpina (1 mg/kg) em ratos após a lesão aguda da AV3V ou lesão fictícia. Entre parênteses está o número de animais de cada grupo. Abaixo de cada coluna está indicado os períodos após a lesão. Os resultados estão expressos como média  $\pm$  EPM.



**Figura 3:** Secreção salivar (mg/7 min) após a injeção intraperitoneal de pilocarpina (1 mg/kg) em ratos após a lesão aguda da AV3V ou lesão fictícia. Entre parênteses está o número de animais de cada grupo. Abaixo de cada coluna está indicado os períodos após a lesão. Os resultados estão expressos como média  $\pm$  EPM. \*diferente do grupo de ratos com lesão fictícia.

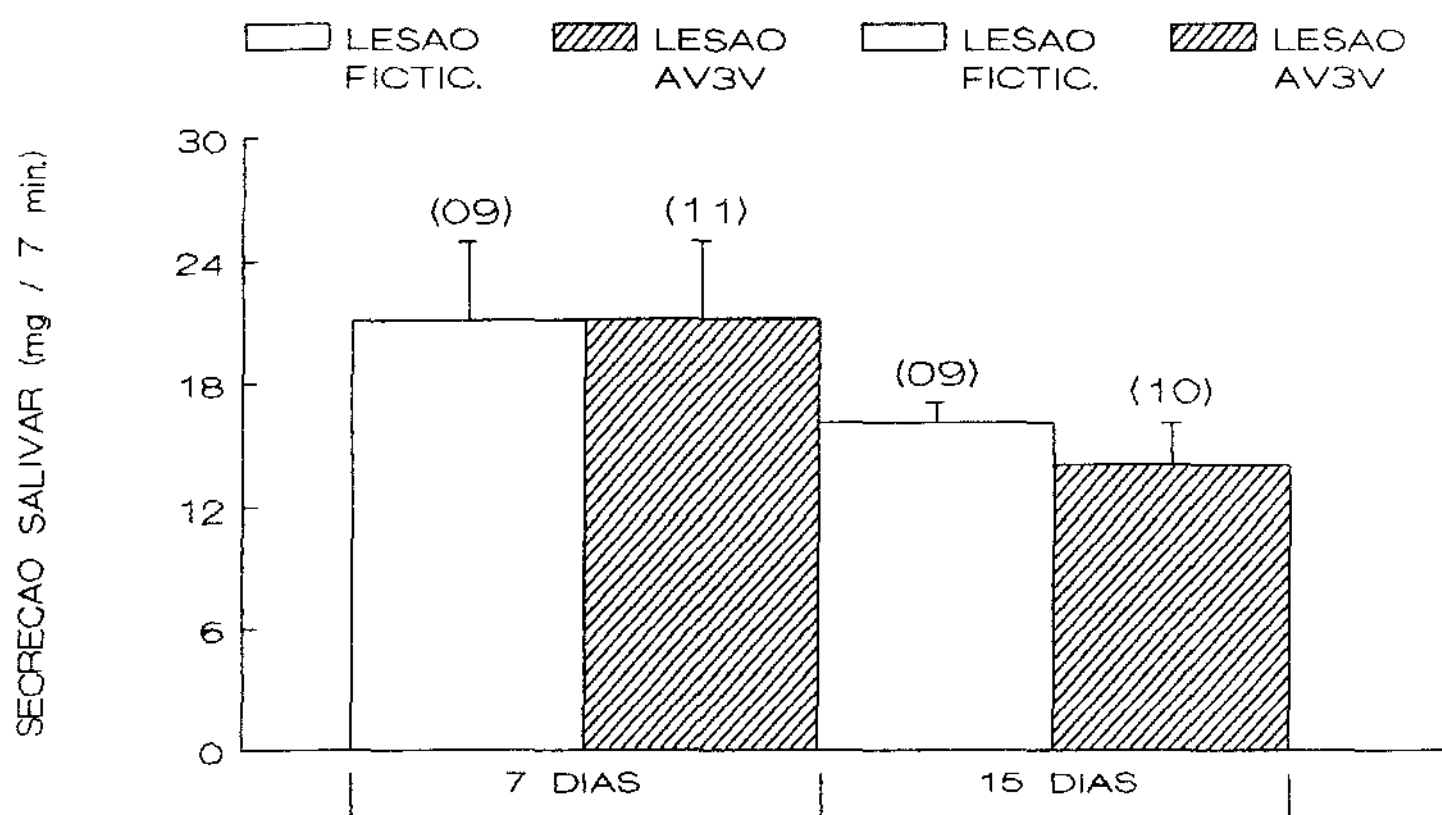


### **6.3. Efeito da lesão crônica da região AV3V sobre a salivação basal e induzida pela injeção intraperitoneal de pilocarpina**

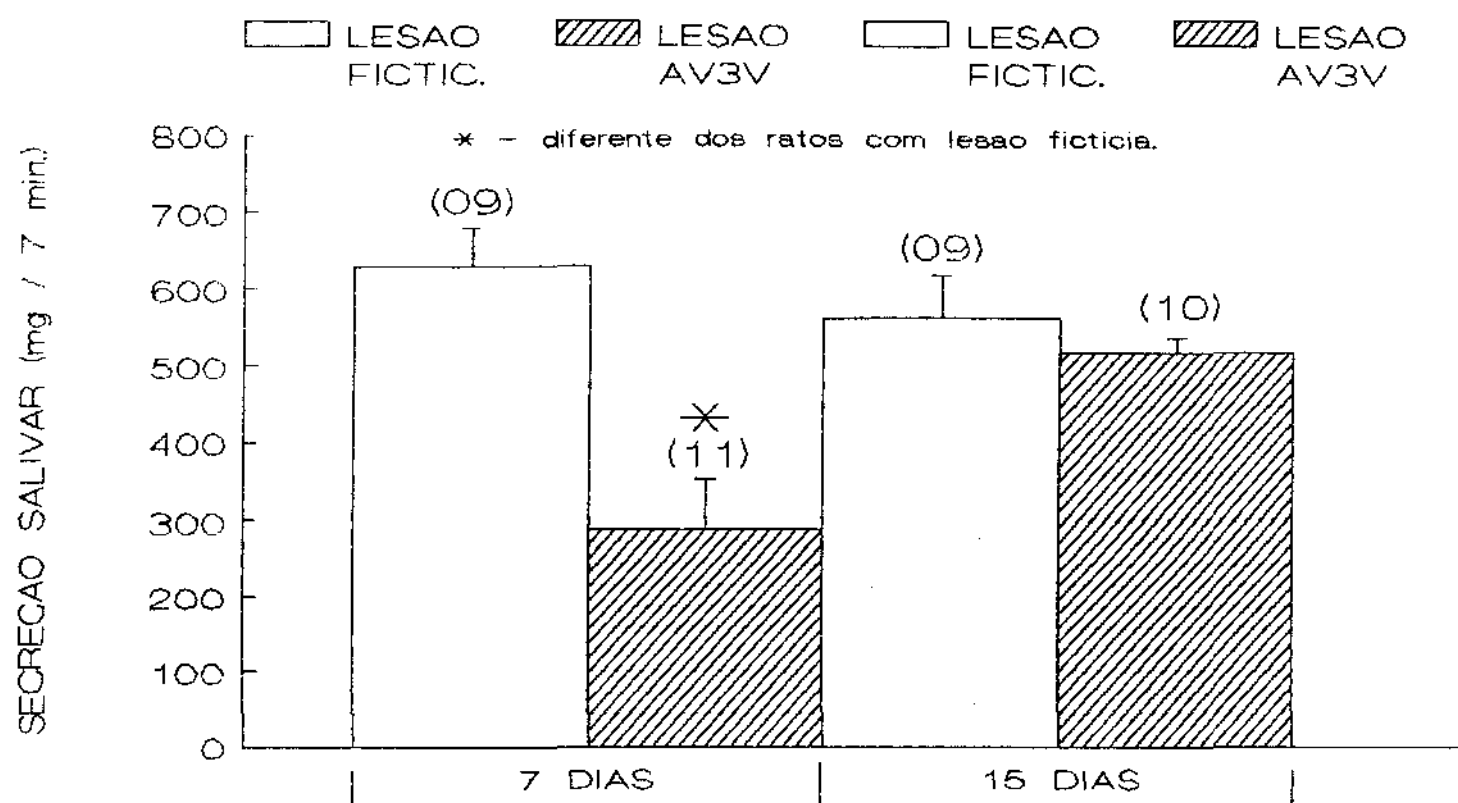
Em ratos com lesão da região AV3V ou lesão fictícia (7 e 15 dias) foi coletada a saliva total basal e a saliva induzida pela injeção IP de pilocarpina.

Os resultados para o grupo de ratos lesados (7 dias) antes da injeção de pilocarpina e após a injeção IP de pilocarpina foram respectivamente:  $21 \pm 4$  mg/7 min e  $290 \pm 62$  mg/7 min (Figuras 4 e 5, Tabela I). No grupo com lesão fictícia, antes da pilocarpina e após a injeção de pilocarpina, respectivamente obtivemos os seguintes valores:  $21 \pm 4$  mg/7 min e  $630 \pm 50$  mg/7 min (Figuras 4 e 5, Tabela I).

Os resultados para o grupo com lesão da região AV3V (15 dias) foram respectivamente:  $14 \pm 2$  mg/7 min antes da injeção de pilocarpina e após a pilocarpina,  $516 \pm 19$  mg/7 min (Figuras 4 e 5, Tabela I). No grupo de ratos com lesão fictícia, antes da pilocarpina,  $16 \pm 1$  mg/7 min e após a pilocarpina,  $560 \pm 55$  mg/7 min (Figuras 4 e 5, Tabela I).



**Figura 4:** Secreção salivar basal (mg/7 min) antes da injeção de pilocarpina (1 mg/kg) em ratos após a lesão crônica da AV3V ou lesão fictícia. Entre parênteses está o número de animais de cada grupo. Abaixo de cada coluna está indicado os períodos após a lesão. Os resultados estão expressos como média  $\pm$  EPM.



**Figura 5:** Secreção salivar (mg/7 min) após a injeção intraperitoneal de pilocarpina (1 mg/kg) em ratos com lesão crônica da região AV3V ou lesão fictícia. Entre parênteses está o número de animais de cada grupo. Abaixo de cada coluna está indicado os períodos após a lesão. Os resultados estão expressos como média  $\pm$  EPM.

**Tabela I:** Salivação (mg/7 min) nos ratos com lesão fictícia ou lesão AV3V, antes e após a injeção intraperitoneal de pilocarpina.

TEMPO	LESÃO FICTÍCIA		LESÃO AV3V	
	APÓS		APÓS	
LESÃO	Salivação Basal	Pós-Pilocarpina	Salivação Basal	Pós-Pilocarpina
6 h	13 ± 1	486 ± 21	11 ± 1	142 ± 22*
2	19 ± 5	778 ± 85	10 ± 2,4	113 ± 32*
7	21 ± 4	630 ± 50	21 ± 4	290 ± 62*
15	16 ± 1	560 ± 55	14 ± 2	516 ± 19

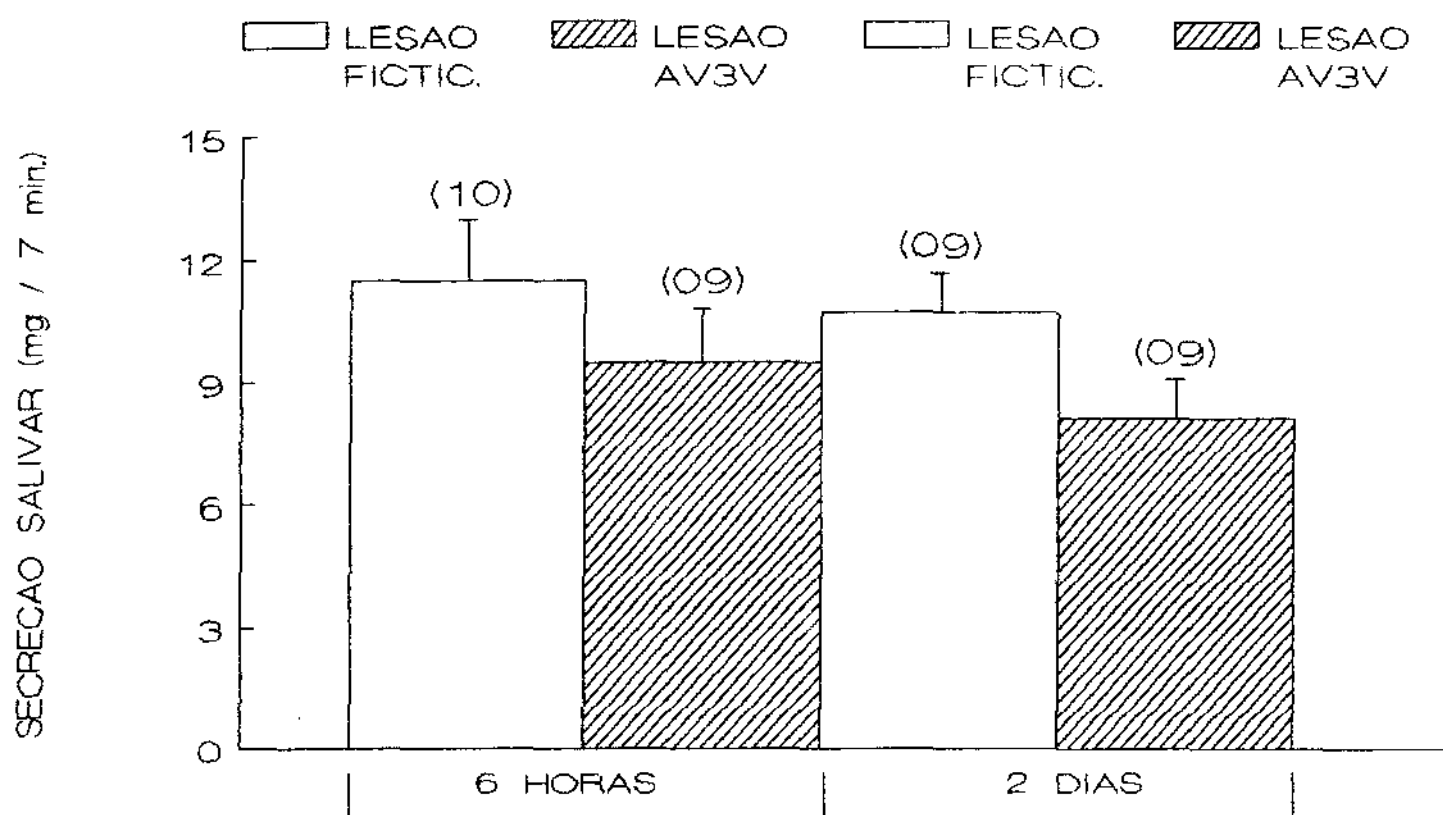
\*diferente dos ratos com lesão fictícia pós-pilocarpina.

#### **6.4. Efeito da lesão aguda da região AV3V sobre a salivação basal e induzida pela injeção central de pilocarpina**

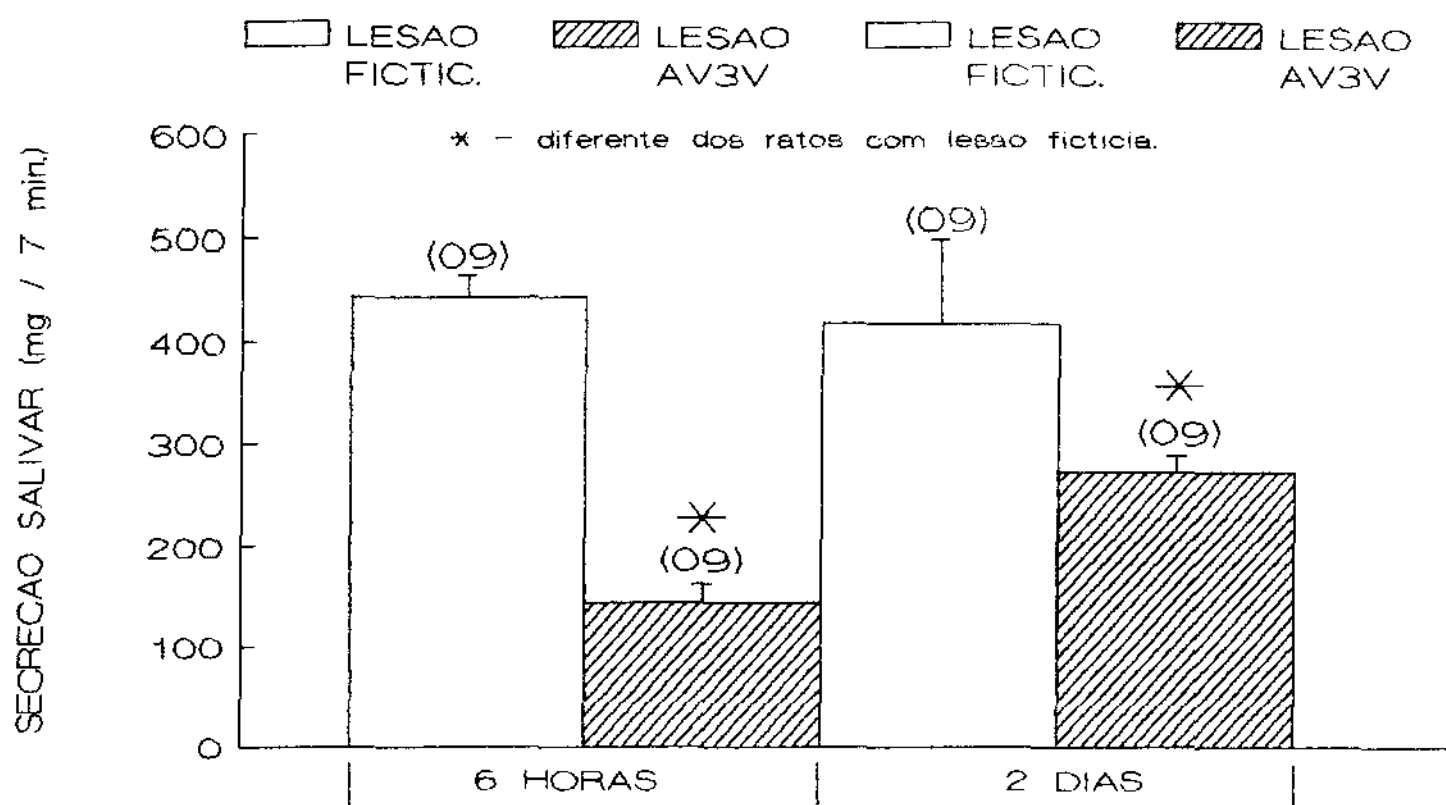
Em ratos com lesão da região AV3V ou lesão fictícia (6 horas e 2 dias), foi coletada a saliva total basal e a saliva induzida pela injeção central de pilocarpina.

Os resultados para o grupo com lesão da região AV3V (6 horas) antes da injeção de pilocarpina foram de:  $9,5 \pm 1,3$  mg/7 min e após a injeção de pilocarpina  $143 \pm 19$  mg/7 min (Figuras 6 e 7, Tabela II). No grupo com lesão fictícia, a salivação antes da pilocarpina foi  $11,5 \pm 1,5$  mg/7 min e após a injeção de pilocarpina  $443 \pm 20$  mg/7 min (Figuras 6 e 7, Tabela II).

Os resultados para o grupo de ratos lesados (2 dias) antes da injeção de pilocarpina, foram de:  $8,1 \pm 0,9$  mg/7 min e após a injeção de pilocarpina,  $273 \pm 14$  mg/7 min (Figuras 6 e 7, Tabela II). No grupo com lesão fictícia, antes da pilocarpina,  $10,7 \pm 1,0$  mg/7 min e após a injeção de pilocarpina,  $417 \pm 81$  mg/7 min (Figuras 6 e 7, Tabela II).



**Figura 6:** Secreção salivar basal (mg/7 min) antes da injeção central de pilocarpina (500 nmol) em ratos após a lesão aguda da região AV3V ou lesão fictícia. Entre parênteses está o número de animais de cada grupo. Abaixo de cada coluna está indicado os dias após a lesão. Os resultados estão expressos como média  $\pm$  EPM.



**Figura 7:** Secreção salivar (mg/7 min) após a injeção central de pilocarpina (500 nmol) em ratos com lesão aguda da região AV3V ou lesão fictícia. Entre parênteses está o número de animais de cada grupo. Abaixo de cada coluna está indicado os dias após a lesão. Os resultados estão expressos como média  $\pm$  EPM.

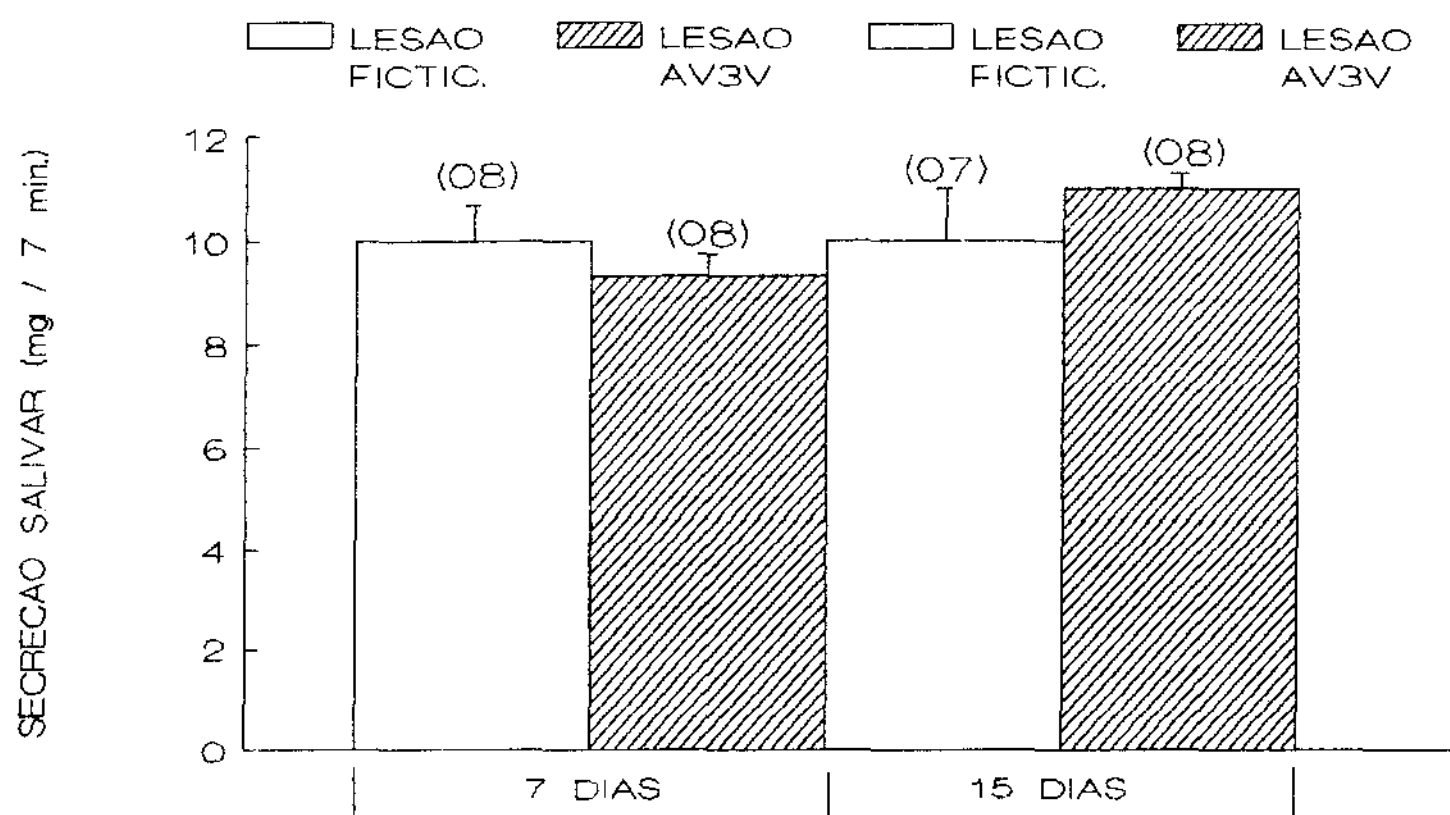
### **6.5. Efeito da lesão crônica da região AV3V sobre a salivacão basal ou induzida pela injeção central de pilocarpina**

Em ratos com lesão da região AV3V ou lesão fictícia (7 e 15 dias), foi coletada a saliva total basal e a saliva induzida pela injeção central de pilocarpina.

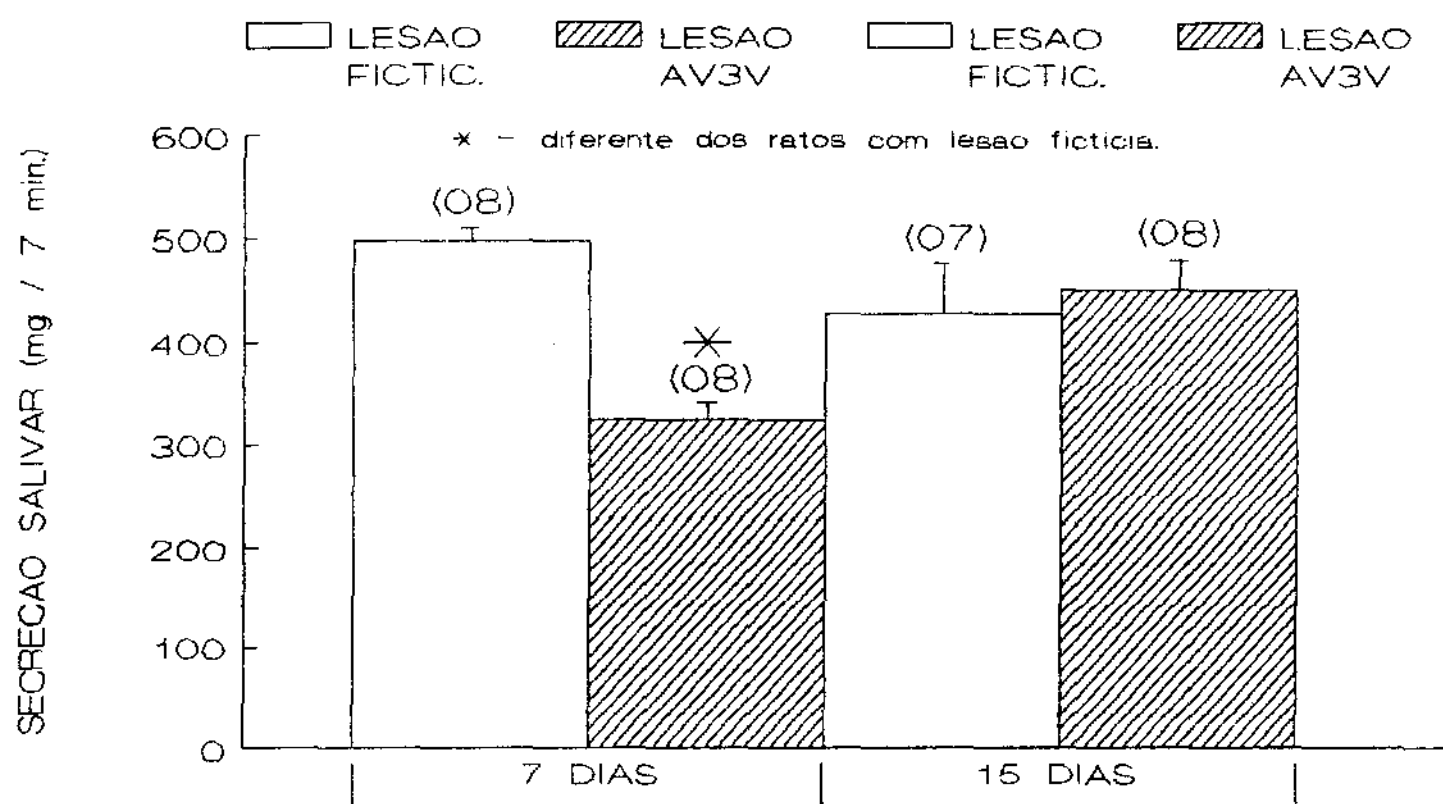
Os resultados para o grupo de ratos lesados (7 dias) antes da injeção de pilocarpina foram de:  $9,3 \pm 0,4$  mg/7 min e após a injeção de pilocarpina,  $322 \pm 17$  mg/7 min (Figuras 8 e 9, Tabela II). No grupo de ratos com lesão fictícia, antes da pilocarpina,  $10,0 \pm 0,7$  mg/7 min e após a pilocarpina,  $496 \pm 14$  mg/7 min (Figuras 8 e 9, Tabela II).

Os resultados para o grupo de ratos lesados (15 dias) antes da injeção de pilocarpina foram de:  $11 \pm 0,3$  mg/7 min e após a injeção de pilocarpina,  $450 \pm 28$  mg/7 min (Figuras 8 e 9, Tabela II). No grupo com lesão fictícia, antes da pilocarpina,  $10 \pm 1$  mg/7 min e após a pilocarpina,  $427 \pm 47$  mg/7 min (Figuras 8 e 9, Tabela II).





**Figura 8:** Secreção salivar basal (mg/7 min) antes da injeção central de pilocarpina (500 nmol) em ratos com lesão crônica da região AV3V ou lesão fictícia. Entre parênteses está o número de animais de cada grupo. Abaixo de cada coluna está indicado os períodos após a lesão. Os resultados estão expressos como média  $\pm$  EPM.



**Figura 9:** Secreção salivar (mg/7 min) após a injeção central de pilocarpina (500 nmol) em ratos com lesão crônica da região AV3V ou lesão fictícia. Entre parênteses está o número de animais de cada grupo. Abaixo de cada coluna está indicado os períodos após a lesão. Os resultados estão expressos como média  $\pm$  EPM.

**Tabela II:** Salivação (mg/7 min) nos ratos com lesão fictícia ou lesão AV3V, antes e após injeção central de pilocarpina.

TEMPO	LESÃO FICTICIA		LESÃO AV3V	
	APÓS		LESÃO	
	Salivação Basal	Pós-Pilocarpina	Salivação Basal	Pós-pilocarpina
6 h	11,9 ± 1,5	443 ± 20	9,5 ± 1,3	143 ± 19*
2	10,7 ± 1,0	417 ± 81	8,1 ± 0,9	113 ± 22*
7	10,0 ± 0,7	496 ± 14	9,3 ± 0,4	322 ± 17*
15	10,0 ± 1,0	427 ± 47	11,0 ± 0,3	450 ± 28

\*diferente dos ratos com lesão fictícia pós-pilocarpina.

#### **6.6. Efeito da lesão aguda da AHL sobre a salivacão basal e induzida pela injeção intraperitoneal de pilocarpina.**

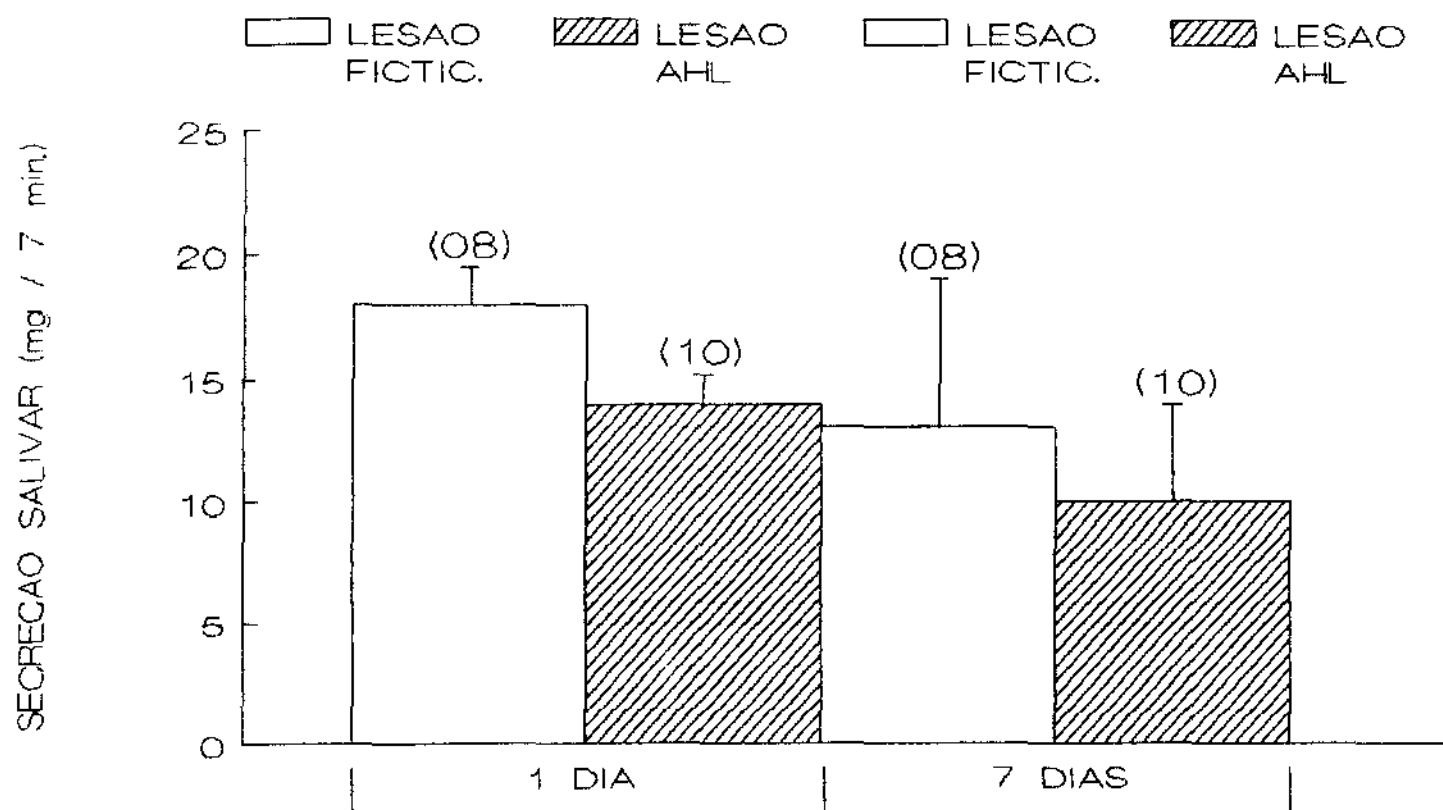
Em ratos com lesão da AHL ou lesão fictícia (1 dia), foi coletada a saliva total basal e a saliva induzida pela injeção IP de pilocarpina.

Os resultados para o grupo de ratos lesados antes da injeção de pilocarpina e após a injeção de pilocarpina foram:  $14 \pm 1,2$  mg/7 min e  $190 \pm 32$  mg/7 min respectivamente (Figuras 10 e 11, Tabela III). No grupo com lesão fictícia, a salivacão antes da injeção de pilocarpina foi de  $18 \pm 1,5$  mg/7 min, e após a injeção pilocarpina,  $492 \pm 26$  mg/7 min (Figuras 10 e 11, Tabela III).

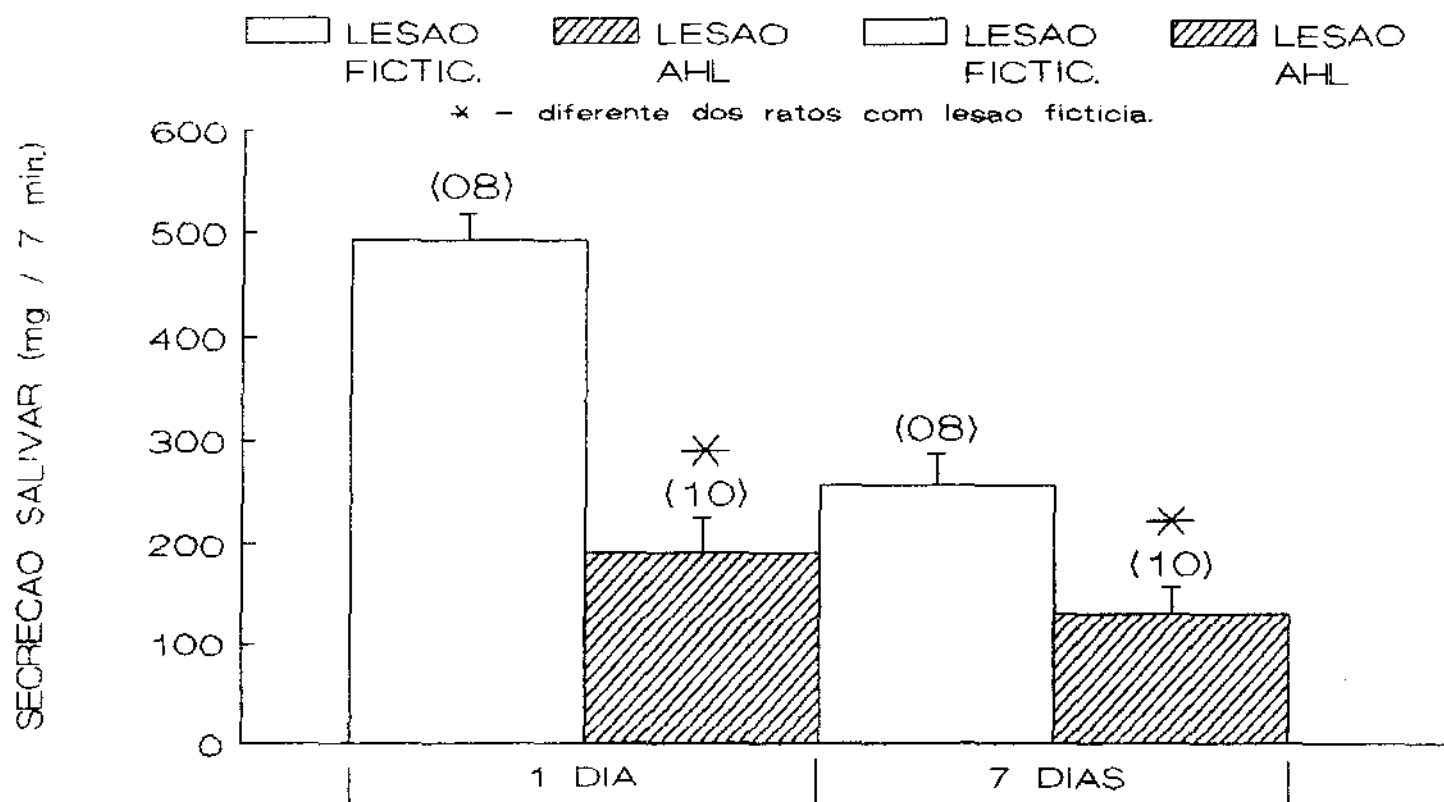
### **6.7. Efeito da lesão crônica da AHL sobre a salivação basal e induzida pela injeção intraperitoneal de pilocarpina**

Em ratos com lesão da AHL ou lesão fictícia (7 dias), foi coletada a saliva total basal e a saliva induzida pela injeção IP de pilocarpina.

Os resultados para o grupo de ratos lesados (7 dias) antes da injeção de pilocarpina, foram de  $10 \pm 4$  mg/7 min e após a injeção de pilocarpina,  $129 \pm 27$  mg/7 min (Figuras 10 e 11, Tabela III). No grupo com lesão fictícia, antes da pilocarpina,  $14 \pm 6$  mg/7 min e após a pilocarpina,  $276 \pm 30$  mg/7 min (Figuras 10 e 11, Tabela III).



**Figura 10:** Secreção salivar basal (mg/7 min) antes da injeção intraperitoneal de pilocarpina (1 mg/kg) em ratos com lesão aguda (1 dia) e crônica (7 dias) da AHL ou lesão fictícia. Entre parênteses está o número de animais de cada grupo. Abaixo de cada coluna está indicado os períodos após a lesão. Os resultados estão expressos como média  $\pm$  EPM.



**Figura 11:** Secreção salivar basal (mg/7 min) após injeção intraperitoneal de pilocarpina (1 mg/kg) em ratos com lesão aguda e crônica da AHL ou lesão fictícia. Entre parênteses está o número de animais de cada grupo. Abaixo de cada coluna está indicado os períodos após a lesão. Os resultados estão expressos como média  $\pm$  EPM.

**Tabela III:** Secreção salivar (mg/7 min) nos ratos com lesão fictícia ou lesão da AHL antes e após a injeção intraperitoneal de pilocarpina.

DIAS	LESÃO FICTÍCIA		LESÃO HL	
	APÓS		APÓS	
LESÃO	Salivação Basal	Pós-Pilocarpina	Salivação Basal	Pós-Pilocarpina
1	18 ± 1,5	492 ± 26	14 ± 1,2	190 ± 32*
7	14 ± 6	276 ± 30	10 ± 4	129 ± 30*

\*diferente dos ratos com lesão fictícia pós-pilocarpina.



#### **6.8. Efeito da lesão aguda da área hipotalâmica lateral sobre a salivação basal e induzida pela injeção central de pilocarpina**

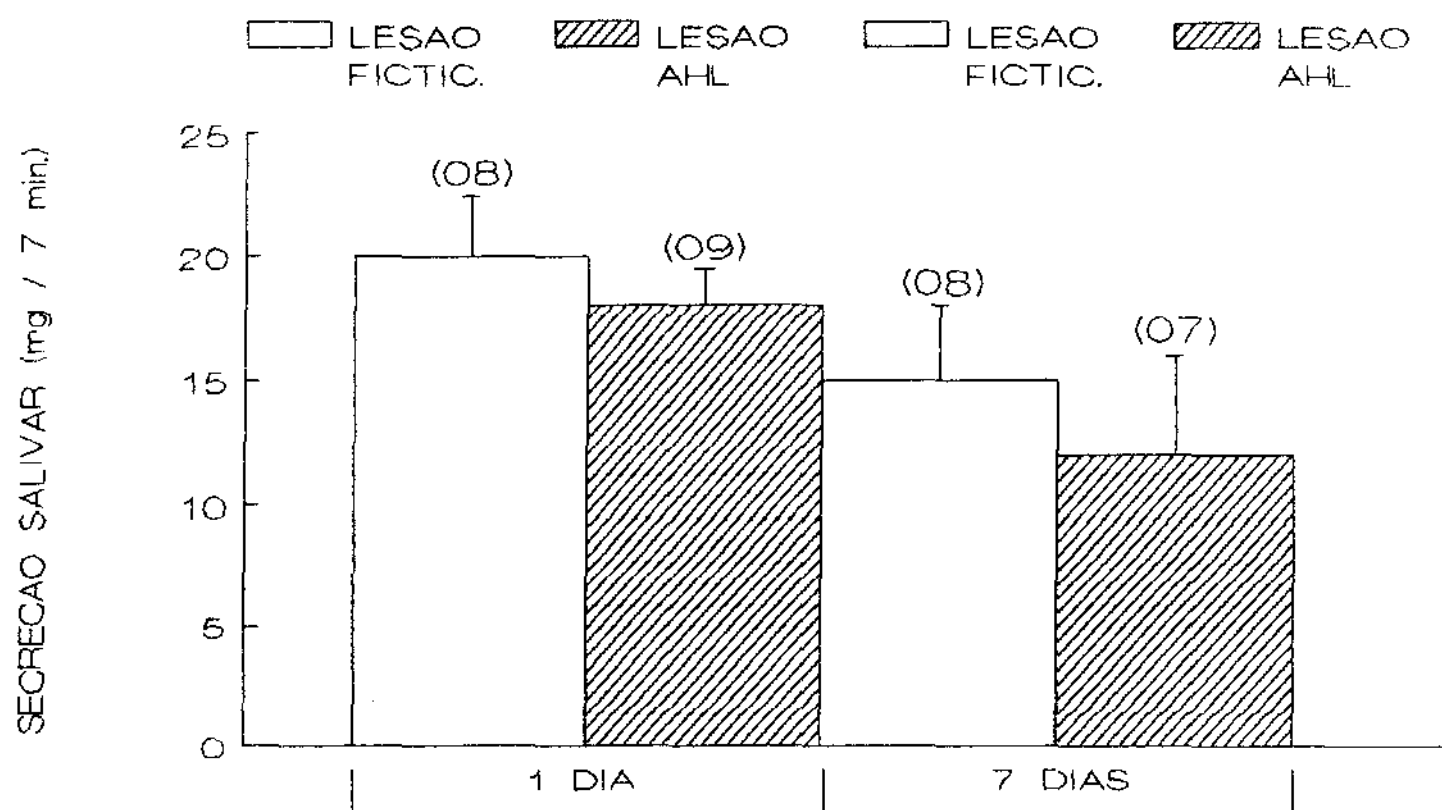
Em ratos com lesão da área hipotalâmica lateral ou lesão fictícia (1 dia), foi coletada a saliva total basal e a saliva induzida pela injeção ICV de pilocarpina.

Os resultados para o grupo de ratos lesados antes da injeção de pilocarpina foram:  $18 \pm 1,5$  mg/7 min e após a injeção de pilocarpina  $206 \pm 25$  mg/7 min (Figuras 12 e 13, Tabela IV). No grupo com lesão fictícia, a salivação antes da pilocarpina foi  $20 \pm 2,5$  mg/7 min, e após a pilocarpina,  $382 \pm 16$  mg/7 min (Figuras 12 e 13, Tabela IV).

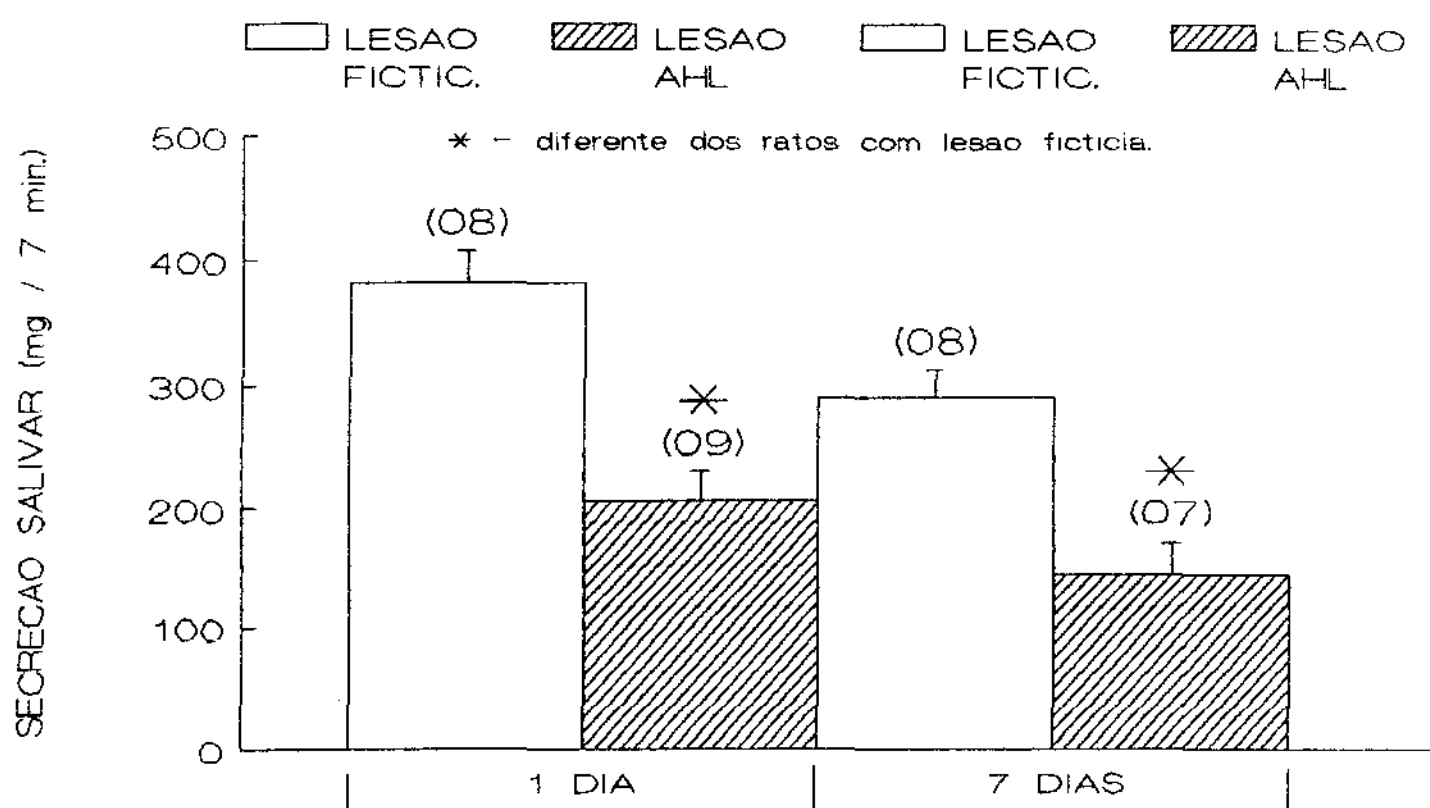
### **6.9. Efeito da lesão crônica da área hipotalâmica lateral sobre a salivação basal e induzida pela injeção central de pilocarpina.**

Em ratos com lesão da área hipotalâmica lateral ou lesão fictícia (7 dias), foi coletada a saliva total basal e a saliva induzida pela injeção ICV de pilocarpina.

Os resultados para o grupo de ratos lesados (7 dias) antes da injeção de pilocarpina, foram de  $12 \pm 4$  mg/7 min e após a injeção de pilocarpina,  $145 \pm 27$  mg/7 min (Figuras 12 e 13, Tabela IV). No grupo com lesão fictícia, antes da pilocarpina,  $15 \pm 3$  mg/7 min e após a pilocarpina,  $290 \pm 22$  mg/7 min (Figuras 12 e 13, Tabela IV).



**Figura 12:** Secreção salivar basal (mg/7 min) antes da injeção central de pilocarpina (500 nmol) em ratos com lesão aguda (1 dia) e crônica (7 dias) da AHL ou lesão fictícia. Entre parênteses está o número de animais de cada grupo. Abaixo de cada coluna está indicado os períodos após a lesão. Os resultados estão expressos como média  $\pm$  EPM.



**Figura 13:** Secreção salivar basal (mg/7 min) após injeção central de pilocarpina (500 nmol) em ratos com lesão aguda e crônica da AHL ou lesão fictícia. Entre parênteses está o número de animais de cada grupo. Abaixo de cada coluna está indicado os períodos após a lesão. Os resultados estão expressos como média  $\pm$  EPK.

**Tabela IV:** Secreção salivar (mg/7 min) nos ratos com lesão fictícia ou lesão da AHL antes e após a injeção central de pilocarpina.

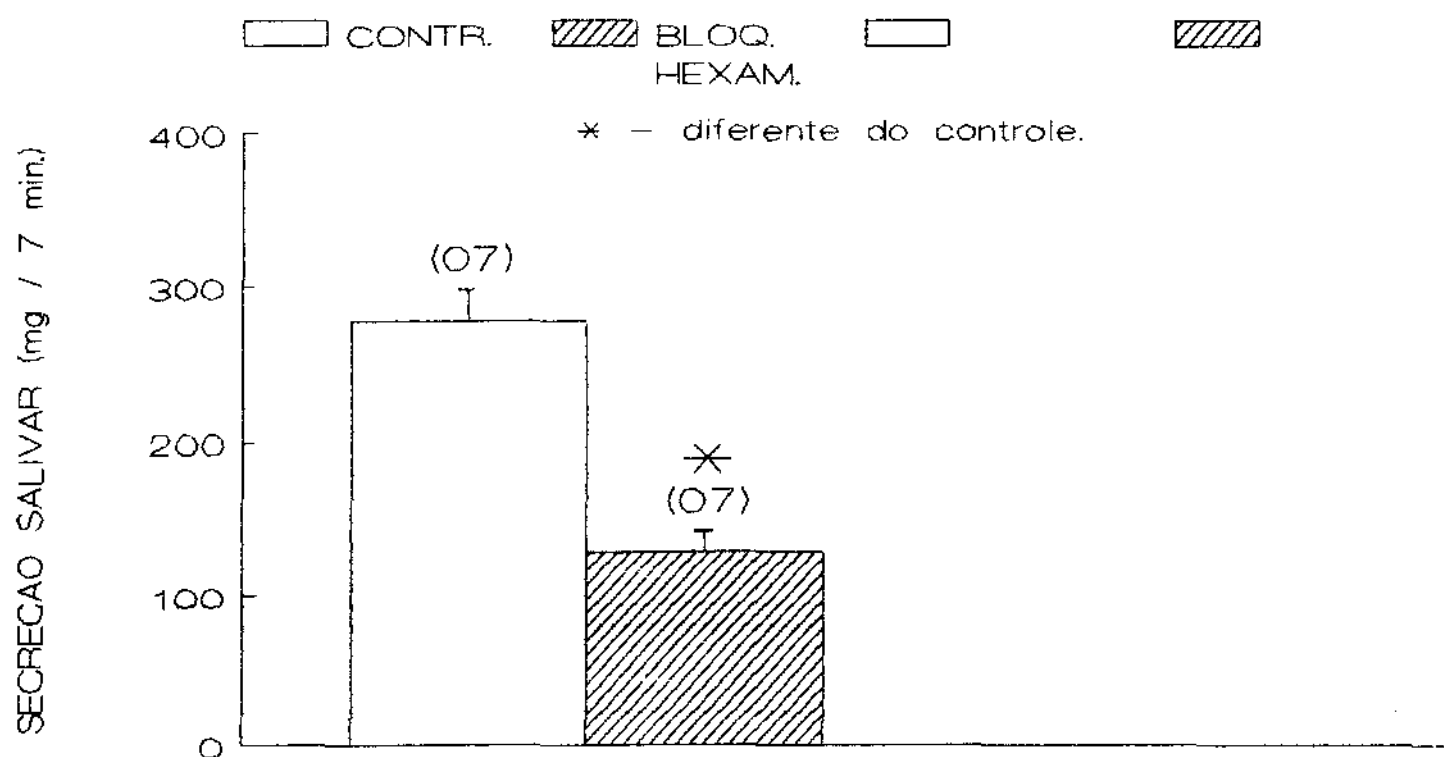
DIAS	LESÃO FICTÍCIA		LESÃO HL	
	APÓS		APÓS	
LESÃO	Salivação Basal	Pós-Pilocarpina	Salivação Basal	Pós-Pilocarpina
1	20 ± 2,5	382 ± 26	18 ± 1,5	206 ± 25*
7	15 ± 3	290 ± 22	12 ± 4	145 ± 27*

\*diferente dos ratos com lesão fictícia pós-pilocarpina.

#### **6.10. Efeito do bloqueio ganglionar sobre a salivacão basal e induzida pela injeção central de pilocarpina**

Em ratos com cânula de demora no VL foi coletada a saliva total basal ( $25 \pm 5$  mg/7 min). Em seguida, foi injetado IP o bloqueador ganglionar hexametônio (15 mg/kg), aguardou-se 20 minutos para a indução de saliva pela injeção ICV de pilocarpina.

A injeção de pilocarpina (500 nmol) no VL em ratos controles (não foram submetidos ao bloqueio) produziu salivacão no seguinte valor:  $377 \pm 21$  mg/7 min (Figura 14). O bloqueio ganglionar por hexametônio reduziu a salivacão produzida pela injeção central de pilocarpina no seguinte valor:  $129 \pm 13$  mg/7 min (Figura 14).



**Figura 14:** Secreção salivar (mg/7 min) em ratos controles e submetidos ao bloqueio ganglionar pelo hexametônio (15 mg/kg), após a estimulação central de pilocarpina (500 nmol). Entre parênteses está o número de animais de cada grupo. Os resultados estão expressos como média  $\pm$  EPM.

## 7 - DISCUSSÃO



## 7 - DISCUSSÃO

Os resultados do presente trabalho, mostraram a participação da região AV3V e da AHL no aumento da secreção salivar produzida pela estimulação colinérgica (injeção de pilocarpina) periférica ou central em ratos. A lesão eletrolítica da região AV3V (6 horas, 2 e 7 dias) e a lesão eletrolítica da AHL (1 e 7 dias), reduziram a secreção salivar induzida pela injeção de pilocarpina ICV ou IP.

*ROZKOWSKA & FONBERG (1972)* observaram que lesões bilaterais da AHL, em cães, produziam uma acentuada diminuição nas reações salivatórias incondicionadas (35-75%), quando comparado com o período pré-lesão. *HAINSWORTH & EPSTEIN (1966)*, demonstraram que a lesão da AHL no rato produzia uma diminuição da secreção salivar quando os animais eram submetidos a variações ambientais de temperatura (36<sup>o</sup> a 40<sup>o</sup>C) por um tempo de 30 minutos. *KISSILEF & EPSTEIN (1969)* mostraram os efeitos da lesão eletrolítica da AHL, em ratos, sobre a ingestão de água, alimentos e secreção salivar. Esses autores observaram uma redução significativa na secreção salivar basal nos primeiros dias após a lesão. Esses resultados se opõem aos observados por *SCHARLET e cols. (1978)*, que demonstraram que a lesão eletrolítica aguda da AHL produzia um aumento da secreção salivar basal nos primeiros 3 dias após a cirurgia. Passados os 3 dias, iniciava-se um período de diminuição do fluxo salivar que persistia por todo o período de observação (até o 6<sup>o</sup> dia).

*ROZKOWSKA & FONBERG (1973)* verificaram que lesões bilaterais do NVM do hipotálamo em cães, produziam aumento da

secreção salivar quando os animais eram submetidos a estímulos incondicionados e condicionados. *FLYNN e cols. (1980)* observaram uma redução na secreção salivar basal em ratos com lesão no NVM. *FLYNN e cols. (1981)* demonstraram que lesão do NVM em ratas, diminuía a salivação, quando estes animais eram expostos à temperaturas que variavam de 22° a 41°C. Mais recentemente, *KANDS e cols. (1988)* observaram que a lesão eletrolítica do núcleo parvocelular (formação reticular) induzia um aumento da secreção salivar, que foi mais acentuado no complexo glandular submandibular e sublingual. *KANDSUE e cols. (1990)* demonstraram que a estimulação térmica, bilateral, da área preóptica e do hipotálamo anterior, promovia aumento da secreção salivar. Estes mesmos autores mostraram que a estimulação térmica ou elétrica, unilateral da área preóptica medial produzia elevado aumento de secreção das glândulas submandibulares e sublinguais do lado estimulado quando comparado com as glândulas salivares contralaterais. Os resultados de nosso trabalho mostrando que a lesão aguda da região AV3V (4 horas e 2 dias) e a lesão crônica da AV3V (7 dias), reduz a secreção salivar, estão de acordo com os resultados obtidos por *KANDSUE e cols. (1990)*, pois a área preóptica medial é parte da região AV3V. Ainda, no presente trabalho, demonstramos que a lesão aguda (1 dia) e a lesão crônica (7 dias), da AHL, também reduz a secreção salivar, corroborando os resultados observados por *HAINSWORTH & EPSTEIN (1986)*; *KISSILEFF & EPSTEIN (1969)* e *SCHALLERT e cols. (1978)*.

No período de 15 dias após a lesão da AV3V não houve diminuição da salivação após a injeção de pilocarpina periférica ou central. Nesse período, provavelmente, já estavam instalados

mecanismos neurais ou glandulares, responsáveis por ajustes que puderam compensar a deficiência ocorrida na salivação dos animais lesados.

Devemos lembrar ainda, os resultados obtidos por *RENZI e cols. (1990)* mostrando que a lesão aguda ou crônica da região AV3V promove várias alterações morfológicas nas células dos ácinos e ductos da glândula submandibular do rato. Nos ratos com lesão AV3V, os ácinos apresentavam-se atróficos aos 2, 7, 15 e 30 dias após a lesão, com células apresentando características tintoriais alteradas, e parecendo rompidas. Os núcleos das células acinares diminuíram de tamanho nos animais com 2, 7, 15 e 30 dias após a lesão. Os ductos da glândula submandibular apresentavam-se semelhantes aos controles, tanto em forma como em tamanho, porém com núcleos menores e picnóticos, e alguns deles rompidos. Com relação aos ductos estriados, observou-se diminuição das estriações basais. O tecido conjuntivo apresentava-se aumentado, nos animais com 7, 15 e 30 dias após a lesão, porém com feixes de fibras colágenas desorganizadas. Os vasos sanguíneos presentes no tecido conjuntivo apresentavam-se com luz diminuída. Outras áreas hipotalâmicas, quando lesadas, também alteram as estruturas do parênquima glandular, tais como: a lesão do núcleo paraventricular do hipotálamo (NPV) (*UTRILLA, 1977*) a lesão da eminência média (*FONSECA e cols., 1989*) e a lesão do NVM (*RENZI e cols., 1989*).

Sabe-se que lesões bilaterais da AHL, podem produzir afagia (*ANAND & BROBECK, 1951 a e b*) e adipsia (*TEITELBAUM & STELLAR, 1954*). Esses efeitos são mais intensos nos primeiros dias após a lesão com recuperação parcial após a primeira semana.

A afagia pode ser persistente, levando o animal à morte. Assim, a lesão bilateral da AHL produz perda de peso corporal (TEITELBAUM & EPSTEIN, 1962; OPSAHL & POWLEY, 1977b; DAVIS, 1979). TAMARIN & SREEBNY (1962) observaram várias alterações morfológicas no parênquima da glândula submandibular de ratos submetidos à inanição em vários períodos (1, 2, 3, 4, 5, 7 e 9 dias). Nos nossos experimentos, embora não se tenha controlado o peso corporal, foi controlada a ingestão de alimento no grupo lesão fictícia (7 dias), de forma que esses ratos ingerissem a mesma quantidade de alimento que os ratos com lesão da AHL, procurando se descartar uma possível influência da deficiência alimentar sobre o processo secretório glandular.

A possibilidade de conexões intrahipotalâmicas entre várias áreas ou núcleos foi investigada por BERK & FINKELSTEIN (1982). Esses autores observaram conexões recíprocas entre AHL, NVM e NPV. As conexões entre AHL e NPV foram bem evidentes no estudo autorradiográfico em ratos. Vias eferentes da AHL realizam sinapses em regiões pontinas e bulbares, tais como: núcleo motor do nervo vago, núcleos salivatórios (superior e inferior) e núcleo do trato solitário (CONTRERAS e cols., 1980). O órgão vascular da lâmina terminal (OVL) faz parte da região AV3V e envia projeções para o NPV e AHL (CAMACHO & PHILLIPS, 1981).

É possível que a lesão da AHL e da AV3V atue interrompendo vias neurais excitatórias, reduzindo os sinais facilitatórios para o aumento da secreção salivar durante a estimulação colinérgica central ou periférica. Tal hipótese é possível uma vez que as áreas destruídas pela lesão eletrolítica da região AV3V e da AHL são ricamente constituídas de receptores

colinérgicos (WANG e cols., 1989) e estes estão envolvidos no controle cerebral da secreção salivar (ROMANIUK e cols., 1973; BELESLIN & BELESLIN, 1986). No experimento com bloqueio ganglionar pelo hexametônio (15 mg/kg i.p.), foi reduzida a secreção salivar após a estimulação colinérgica ICV. GREEN e cols. (1979) observaram que a clonidina (i.v.) reduz em 60% a secreção salivar induzida pela estimulação elétrica de áreas corticais em gatos anestesiados, enquanto que uma redução de apenas 15% foi produzida pela clonidina na salivação induzida pela estimulação elétrica periférica do nervo corda do tímpano. Os resultados encontrados no presente trabalho, mostrando que a lesão da AV3V e da AHL reduz a secreção salivar induzida pela pilocarpina ICV e ainda que o bloqueio ganglionar pelo hexametônio, também diminui a salivação pela pilocarpina ICV, sugerem que parte do efeito salivatório observado após a aplicação da pilocarpina, provavelmente, se deve a sua ação diretamente em áreas cerebrais. A importância da região AV3V para efeitos da estimulação colinérgica central já foi estudada em outros modelos experimentais. Assim, lesão da região AV3V tem efeito drástico e abole as respostas dipsogênica, pressora e natriurética produzidas por estímulos colinérgicos centrais feitos com doses altas (7,5 nmol) de carbacol no rato (MENANI e cols., 1990).

Vários trabalhos mostram a importância do sistema nervoso autônomo na manutenção das estruturas e na fisiologia das glândulas salivares. Assim, SNELL & GARRET (1960), estudando glândulas submandibulares em ratos submetidos a desnervação parassimpática verificaram aumento na quantidade de tecido

conjuntivo intersticial, especialmente na 3a. e 4a. semanas, porém, mais tarde, isso retornava ao normal. *EMMELIN & HUREN (1958)* e *EMMELIN e cols. (1968)* estudando os nervos parassimpáticos de glândulas submandibulares, observaram que estes nervos afetam células-alvo tanto nos ductos quanto nos ácinos, e os receptores, nessas células medeiam efeitos colinérgicos sobre a secreção de fluido e eletrólito. *ARGONZ (1962)* administrando isoproterenol (agonista beta adrenérgico) em ratos, observou aumento da secreção salivar e do tamanho da glândula submandibular. A análise microscópica glandular revelou hipertrofia dos ácinos, com diminuição do diâmetro dos ductos. *BRENNER & WULF (1981)* injetando dobutamina (agonista beta<sub>1</sub> adrenérgico) ou isoproterenol, também observaram hipertrofia na glândula submandibular de ratos. Esse aumento glandular pela ação da dobutamina ou isoproterenol é caracterizado pelo aumento significativo de proteínas e de ácidos nucleicos (RNA e DNA). O metoprolol, um antagonista seletivo, inibe a hipertrofia glandular e o aumento de proteínas.

*PAZO e cols. (1981)* observaram que a administração sistêmica de L-dopa e dopamina, produzem uma resposta marcante secretora na glândula submandibular do rato. Esses efeitos são bloqueados pelo pré-tratamento com fentolamina e propranolol. O bloqueio ganglionar pelo hexametônio e a desnervação reduzem a resposta secretora causada pela L-dopa ou dopamina. *DELFIS & EMMELIN (1979)* observaram que em ratos anestesiados, após a desnervação parassimpática e simpática, ocorria aumento da secreção salivar basal nas glândulas submandibulares e parótidas. Mais recentemente, *THESLEFF (1989)* mostraram que a substância P

(SP) e o polipeptídeo vasodilatador intestinal (PVI) promove aumento do potencial de membrana em algumas células glandulares, após a estimulação elétrica dos nervos simpáticos e parassimpáticos da glândula parótida. *CHEWICK e cols. (1989)* mostraram que a droga 5-hidroxitriptamina (5-HT) quando injetada via endovenosa não induz aumento da secreção salivar, mas quando associada a (SP), resulta em um aumento da secreção das glândulas parótidas em torno de 160%. *MONTASTRUC e cols. (1989)* verificou aumento da secreção salivar em cães, após a injeção intravenosa de ioimbina (antagonista alfa<sub>2</sub> adrenérgico). A estimulação elétrica do nervo corda do tímpano potencializou o efeito da ioimbina.

Ainda em relação ao sistema nervoso autônomo, outros trabalhos mostraram a participação de várias áreas hipotalâmicas nas alterações do tônus simpático e parassimpático. *FOLKOW & RUBINSTEIN (1965)* observaram mudanças no comportamento exploratório e ingestivo durante a estimulação elétrica da AHL de gatos e também aumento da pressão arterial média, da motilidade e do fluxo sanguíneo intestinal. *OPSAHL e cols. (1977)* mostraram um aumento da atividade secretora de catecolaminas da glândula adrenal após vários dias da lesão eletrolítica da AHL. Recentemente, *SPENCER e cols. (1988)* observaram alterações do tônus simpático cardiovascular em ratos, durante a estimulação pelo L-glutamato da AHL. *FINK e cols. (1978)* mostraram que a estimulação elétrica da região AV3V produz vasoconstrição renal e mesentérica. A resposta pressora produzida pela estimulação colinérgica do SNC se deve à liberações de vasopressina e ativação do sistema simpático (*IMAI e cols., 1989*). A lesão da

região AV3V interfere com a secreção de vasopressina e modifica as descargas simpáticas (GATELLI & SVED, 1988). A estimulação elétrica do NVM, aumenta o tônus simpático das glândulas salivares, acelerando a síntese de proteínas e a estimulação elétrica da AHL aumenta o potencial de extrusão das proteínas em coelhos (MASAI, 1951; FUJIMOTO e cols., 1972). A região AV3V é formada pela área preóptica média, núcleo preóptico periventricular, núcleo periventricular hipotalâmico anterior, núcleo preóptico mediano e parede anterior do 3º ventrículo associado ao órgão vasculoso da lâmina terminal (BRADY e cols., 1978). O trabalho de KANOSUE e cols. (1990) mostrou a importância da área preóptica medial e do hipotálamo anterior na ativação do tônus parassimpático para as glândulas salivares (submandibular e sublingual). Essas evidências sugerem o envolvimento da região AV3V, também para ativação do sistema parassimpático ao nível das glândulas salivares, possivelmente reduzindo a secreção salivar também por deficiência na ativação do tônus parassimpático.

O hormônio tireotrófico participa da divisão mitótica e intervém no metabolismo celular, sendo importante sua presença no plasma para manter o crescimento e desenvolvimento de vários tecidos e órgãos (GUYTON, 1984). Sabe-se que a falta de tiroxina ocasiona diminuição das células dos ácinos e dos ductos estriados, além de promover depleção do produto de secreção das glândulas salivares (LEBLOND & GRAD, 1948; ARVY e cols., 1950; SHAFER & MUHLER, 1956; BAKER e cols., 1964). Possivelmente a redução da concentração desse hormônio na circulação, pela ação da lesão eletrolítica da AV3V e da AHL na liberação ou produção dos fatores liberadores de hormônio tireotrófico, poderia ser uma



das causas responsáveis pela diminuição da secreção salivar induzida pela pilocarpina IP ou ICV. Sabendo-se das conexões da AV3V com diversas áreas do SNC, tais como: núcleo ventromedial e eminência média (*BRODY e cols., 1978*) e núcleo paraventricular (*MISELIS, 1981*); da AHL com o NVM (*EAGER e cols., 1971*) é possível se sugerir que a lesão da AV3V, assim como da AHL, poderia estar ocasionando modificações na síntese e liberação de hormônios da hipófise anterior e posterior.. Como as glândulas salivares, para manterem sua integridade funcional, necessitam de quantidades balanceadas de vários hormônios, dentre eles, a tiroxina (*LEBLOND & GRAD, 1948; ARVY e cols. 1950*), qualquer alteração na produção desse hormônio causaria modificações nas glândulas salivares.

**8 - CONCLUSÃO**

## 7 - CONCLUSÃO

Em conclusão, os resultados do presente trabalho mostraram que lesões da região AV3V ou da AHL reduzem a secreção salivar induzida pela injeção intraperitoneal ou intracerebroventricular do agonista colinérgico pilocarpina em ratos, sugerindo a participação dessas regiões no aumento da secreção salivar produzida pela injeção de pilocarpina.

**9 - SUMÁRIO**

## 9 - SUMÁRIO

O presente trabalho teve como objetivo investigar a participação da região AV3V e da AHL na secreção salivar produzida pela estimulação colinérgica (injeção de pilocarpina) intraperitoneal (IP) ou intracerebroventricular (ICV) em ratos.

Foram utilizados ratos Holtzman (250-300 g). Estes foram lesados na região AV3V (2 mA x 15 s) e submetidos ao implante de cânula de aço inoxidável no ventrículo lateral (VL). Outro grupo de ratos foram submetidos à lesão AHL (1 mA x 10 s) e também ao implante de cânula de aço inoxidável no VL. Um outro grupo de animais (lesão fictícia) foi submetido aos mesmos procedimentos de cirurgia cerebral a que foram submetidos aos animais lesados, exceto que não foram expostos à passagem de corrente elétrica. Após a lesão da AV3V (6 horas, 2, 7 e 15 dias) ou lesão fictícia, e após a lesão da AHL (1 e 7 dias) ou lesão fictícia os ratos foram anestesiados com uretana (1,25 g/Kg). Após a injeção de pilocarpina, periférica (IP) ou central (ICV) a saliva foi coletada com o auxílio de bolas de algodão previamente pesadas. O tempo de coleta foi 7 min antes (salivação basal) e 7 min após a injeção de pilocarpina.

A injeção IP de pilocarpina (1 mg/Kg) em ratos com lesão fictícia da região AV3V (6 horas, 2, 7 e 15 dias) produziu aumento da secreção salivar ( $486 \pm 22$ ,  $778 \pm 85$ ,  $630 \pm 50$  e  $560 \pm 55$  mg/7min, respectivamente), comparados com a salivação basal (controle) antes da pilocarpina ( $13 \pm 1$ ,  $19 \pm 5$ ,  $21 \pm 4$  e  $16 \pm 1$  mg/7min, respectivamente). Nos ratos com lesão da AV3V (6

horas, 2 e 7 dias) foi reduzida a secreção salivar produzida pela injeção IP de pilocarpina ( $142 \pm 22$ ,  $113 \pm 32$  e  $290 \pm 62$  mg/7 min, respectivamente) quando comparado com os ratos com lesão fictícia (6 horas, 2 e 7 dias). Nos ratos com a lesão da AV3V (15 dias) não houve alteração significativa na salivação induzida pela injeção IP de pilocarpina ( $516 \pm 19$  mg/7 min) quando comparado com o grupo de lesão fictícia ( $560 \pm 55$  mg/7min).

A injeção ICV de pilocarpina (500 nmol) em ratos com lesão fictícia da AV3V (6 horas, 2, 7 e 15 dias) produziu aumento da secreção salivar ( $443 \pm 47$ ,  $417 \pm 81$ ,  $496 \pm 14$  e  $427 \pm 47$  mg/7min, respectivamente) comparados com a salivação basal controle antes da pilocarpina ( $11,9 \pm 1,5$ ,  $10,7 \pm 0,7$ ,  $10 \pm 0,7$  e  $10 \pm 1$  mg/7min, respectivamente). Comparando-se a salivação basal (controle) dos ratos com lesão fictícia com aquela dos ratos com lesão da região AV3V não se observou alterações significantes. Nos ratos com lesão da AV3V (6 horas, 2 e 7 dias) foi reduzida a secreção salivar produzida pela injeção ICV de pilocarpina ( $143 \pm 19$ ,  $213 \pm 22$  e  $322 \pm 17$  mg/7min, respectivamente).

A injeção IP de pilocarpina (1 mg/Kg) em ratos com lesão fictícia da AHL (1 e 7 dias) produziu aumento da secreção salivar ( $492 \pm 26$  e  $276 \pm 30$  mg/7min, respectivamente) comparado com a salivação basal ( $18 \pm 1,5$  e  $14 \pm 6$  mg/7min, respectivamente). Nos ratos com lesão da AHL (1 e 7 dias) foi reduzida a salivação produzida pela injeção IP de pilocarpina ( $190 \pm 32$  e  $129 \pm 27$  mg/7min, respectivamente). A injeção ICV de pilocarpina (500 nmol) em ratos com lesão fictícia da AHL (1 e 7

dias) produziu aumento da secreção salivar ( $382 \pm 16$  e  $290 \pm 22$  mg/7min, respectivamente) comparado com a salivação basal ( $20 \pm 2,5$  e  $15 \pm 3$  mg/7min, respectivamente). Nos ratos com lesão da AHL (1 e 7 dias) foi reduzida a salivação produzida pela injeção ICV de pilocarpina ( $206 \pm 25$  e  $145 \pm 27$  mg/7min, respectivamente). Comparando-se a salivação basal dos ratos com lesão fictícia com aquela dos ratos com lesão da AHL não se observou alterações significantes.

O tratamento prévio com hexametônio (15 mg/Kg) reduziu a salivação produzida pela injeção ICV de pilocarpina (500 nmol) para  $129 \pm 13$  mg/7min em comparação com os ratos controles que não foram submetidos ao tratamento prévio com hexametônio que apresentaram uma salivação de  $377 \pm 21$  mg/7min após a injeção ICV de pilocarpina.

Em conclusão, os resultados do presente trabalho mostraram que lesões da região AV3V ou da AHL reduzem a secreção salivar induzida pela injeção intraperitoneal ou intracerebroventricular do agonista colinérgico pilocarpina em ratos, sugerindo a participação da região AV3V e da AHL no aumento da secreção salivar produzida pela injeção de pilocarpina.

10 - SUMMARY



## 10 - SUMMARY

The purpose of the present work was to investigate the participation of the anteroventral third ventricle (AV3V) region and the lateral hypothalamic area (LHA) on the salivary secretion produced by peripheral or central cholinergic stimulation (injection of pilocarpine) in rats.

Holtzman rats (250-300g) were submitted to the electrolytic lesion of AV3V region (2 mA x 15 s) or sham-AV3V lesion and submitted to implant of a unilateral stain steel cannula (0,7 mm o.d.) directed into the lateral ventricle (LV), the electrolytic bilateral lesion of LHA (1 mA x 10 s) or sham-LHA lesion and submitted to implant of a unilateral stainless steel cannula (0,7 mm o.d.) directed into the lateral ventricle (LV).

After of AV3V region lesion or sham-AV3V lesion (6 hours, 2, 7 and 15 days), and after of LHA lesion or sham-LHA lesion the animals were anesthetized with uretana (1,25 g/Kg b.w.). After injection of pilocarpine, intraperitoneal (IP) or intracerebroventricular (ICV) the saliva was collected by pre-weighed cotton balls placed into the mouth. The saliva was collected 7 min before (basal salivary secretion) and 7 min after and IP injection of pilocarpine (1 mg/Kg b.w.) or ICV injection of pilocarpine (500 nmol).

The IP injection of pilocarpine (1 mg/Kg) in sham-AV3V lesioned rats (6 hours, 2, 7 and 15 days) increased the salivary secretion ( $486 \pm 22$ ,  $778 \pm 85$ ,  $630 \pm 50$  and  $560 \pm 55$  mg/min, respectively) compared to basal salivary secretion before pilocarpine ( $13 \pm 1$ ,  $19 \pm 5$ ,  $21 \pm 4$  and  $16 \pm 1$  mg/7min,

respectively). In AV3V-lesioned rats (6 hours, 2 and 7 days) the salivary secretion produced by IP injection of pilocarpine was reduced ( $142 \pm 22$ ,  $113 \pm 32$  and  $290 \pm 62$  mg/7min, respectively). In AV3V-lesioned rats (15 days) the salivary secretion produced by IP pilocarpine was not reduced ( $516 \pm 19$  mg/7min) comparing the salivary secretion in sham-AV3V lesioned rats ( $560 \pm 55$  mg/7min). The ICV injection of pilocarpine (500 nmol) in sham-AV3V lesioned rats (6 hours, 2, 7 and 15 days) increased the salivary secretion ( $443 \pm 20$ ,  $417 \pm 81$ ,  $496 \pm 14$  and  $427 \pm 47$  mg/7min, respectively) compared to basal salivary secretion before injection of pilocarpine ( $11,9 \pm 1,5$ ,  $10,7 \pm 1,0$ ,  $10 \pm 0,7$  and  $10 \pm 1,0$  mg/7 respectively). In AV3V-lesioned rats (6 hours, 2 and 7 days) the salivary secretion produced by ICV injection of pilocarpine was reduced ( $143 \pm 19$ ,  $273 \pm 14$  and  $322 \pm 17$  mg/7min, respectively). Comparing the basal salivary secretion of sham with AV3V-lesioned rats was not reduced.

The IP injection of pilocarpine (1mg/Kg) in sham-LHA lesioned rats (1 and 7 days) increased the salivary secretion ( $492 \pm 26$  and  $276 \pm 30$  mg/7min, respectively) compared to basal salivary secretion before injection of pilocarpine ( $18 \pm 1,5$  and  $14 \pm 6$  mg/7min, respectively). In LHA-lesioned rats (1 and 7 days) the salivary secretion produced by IP pilocarpine decreased ( $190 \pm 32$  and  $129 \pm 27$  mg/7min, respectively). The ICV injection of pilocarpine (500 nmol) in sham-LHA-lesioned rats (1 and 7 days) increased the salivary secretion ( $382 \pm 16$  and  $290 \pm 22$  mg/7min, respectively) compared to basal salivary secretion before injection of pilocarpine ( $20 \pm 2,5$  and  $15 \pm 3$  mg/7min, respectively). In LHA-lesioned rats (1 and 7 days) the salivary

secretion produced by ICV injection of pilocarpine was reduced ( $206 \pm 25$  and  $145 \pm 27$  mg/7min, respectively).

The previous treatment with hexamethonium (15 mg/Kg b.w)), an autonomic ganglionic blocking, reduced the salivary secretion ( $129 \pm 13$  mg/7min) produced by ICV injection of pilocarpine (500 nmol) compared to control experiment ( $377 \pm 21$  mg/7min).

In conclusion, the present results showed that the AV3V lesion or LHA lesion reduced the salivary secretion produced by IP or ICV injection of the cholinergic agonist pilocarpine in rats, suggesting the participation of the (AV3V) region and the lateral hypothalamic area (LHA) in the increase on the salivary secretion produced by injection of pilocarpine.

## 11 - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

## 11 - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ANAND, B.K. & BROBECK, J.R. - Localization of a "feeding center" in the hypothalamus of the rats. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, *77*:323-24, 1951 a.
- ANAND, B.K. & BROBECK, J.R. - Hypothalamic control of food intake in rats and cats. *Yale J. Biol. Med.*, *24*:123-140, 1951 b.
- ARGONZ, J.J. - The action of isoproterenol on the salivary glands. *Acta Physiol. Latinoamer*, *12*:231-42, 1962.
- ARVY, L.; DEBRAY, C.H. & GABE, M. - Action de la thiourée sur la glande sous-maxillaire du rat albino. *C. R. Soc. Biol.*, *144*: 111-13, 1950.
- BAKER, B.L. & ABRAMS, G.D. - Growth hormone (somatotropin) and the glands of the digestive system. "In" : *The Hypophyseal growth Hormone, Nature and Actions*, R.W.Jr.; GAEBLER, O.H.; LONG, C.N.H. Ed. the Blokinston Div., McGraw-Hill, 1955.
- BAKER, B.L.; CLAPP, H.W. Jr. & LIGHT, J.A. - Hormonal influences on the cytology and physiology of salivary glands. "In" : SREEBNY, L.M. & MEYER, J. Eds. - *International Series of Monographs on Oral Biology*, new York, McMillan Co. vol.2, 1964.

- BELESLIN, N.T. & BELESLIN, D.B. - Salivation mediated by central M-2 muscarinic receptors in the cat. *Brain Res. Bull.*, *17*:279-281, 1986.
- BERK, M.L. & FINKELSTEIN, J.A. - Efferent connections of the lateral hypothalamic area of the rat: An autoradiographic investigation. *Brain Res. Bull.*, *8*:511-526, 1982.
- BIXLER, D.; MUHLER, J.C. & SHAFER, W.G. - The effects of castration, sex hormones, and desalivation on dental caries in the rat. *J. Dent. Res.*, Houston, *34*:889, 1955.
- BRENNER, G.M. & WULF, R.G. - Adrenergic beta receptors mediating submandibular salivary gland hypertrophy in the rat. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, *218*:608-12, 1981.
- BRODY, M.J.; FINK, G.D.; BUGHEY, J.; HAYWOOD, J.R.; GORDON, F.J. & JOHNSON, A.K. - The role of the anteroventral third ventricle (AV3V) region in experimental hypertension. *Circ. Res.*, *43* (Suppl. 1):11-13, 1978.
- CAMACHO, A. & PHILLIPS, M.I. - Horseradish peroxidase study in rat of the neural connections of the organum vasculosum of the lamina terminalis. *Neurosci. Letters*, *25*:201-204, 1981.

- CARITHERS, J.; BEALER, S.L.; BROOY, M.J. & JOHNSON, A.K. - Fine structural evidence of degeneration in supraoptic nucleus and subfornical organ of rats with lesions in the anteroventral third ventricle. *Brain Res.*, **201**: 1-12, 1980.
- CATELLI, J.M. & SAVED, A.F. - Lesions of the AV3V region attenuate sympathetic activation but not the hypertension elicited by destruction of the nucleus tractus solitarius. *Brain Res.*, **439**:330-36, 1988
- CHERNICK, W.; BOBYOCK, E. & BRADFORD, P. - 5 - Hydroxytryptamine modulation of rat parotid salivary gland secretion. *J. dent. Res.*, **68**:59-63, 1989.
- CONTRERA, M.G.D.; VALERI, V. & LOPES, R.A. - Estudo morfológico e morfométrico das alterações provocadas pela secção do nervo corda lingual na glândula submandibular do rato. *Rev. Fac. Odont.*, Ribeirão Preto, **23**:89-99, 1986.
- CONTRERAS, R.J.; GOMEZ, N.M. & NORGREN, R. - Central origins of cranial nerve parasympathetic neurons in the rat. *J. comp. Neurol.*, **190**:373-394, 1980.
- DAVIS, J.R. - Weight loss, slower growth and lower fasting heat production rates following LH lesions in female rats. *Physiol. Behav.*, **23**:121-27, 1979.

- DE GROOT, J. - The rat forebrain in stereotaxic coordinate.  
*Ver. K. Ned. Akad. Wet.*, 52:1-40, 1959.
- DE LUCA Jr., L.A.; SAAD, W.A.; CAMARGO, L.A.A.; RENZI, A.; MENANI, J.V. & SAAD, W.A.- Carbachol injection into the medial preoptic area induces natriuresis, kaliuresis and antidiuresis in rats. *Neurosci. Letter*, 105:333-37, 1989.
- DELFS, U. & EMMELIN, N. - Parasympathetic degeneration secretion of saliva in rats. *Quarterly J. Exp. Physiol.*, 64:109-117, 1979.
- EAGER, R.P.; CHI, C.C. & WOLF, G. - Lateral hypothalamic projections to the hypothalamic ventromedial nucleus in the albino rat: demonstration by means of a simplified ammoniacal silver degeneration method. *Brain Res.*, 29:128-132, 1971.
- EMMELIN, N. & MUREN, A. - Acetylcholine release at parasympathetic synapses. *Acta Physiol. Scand.*, 20:13-32, 1950.
- EMMELIN, N.; GARRET, J.R. & OHLIN, P. - Neural control of salivary myoepithelial cells. *J. Physiol.*, 196:381-403, 1968.
- EMMELIN, N.; GARRET, J.R. & OHLIN, P. - Secretory activity and the myoepithelial cells of salivary glands after duct ligation in cats. *Arch. oral Biol.*, 19:275-83, 1974.



- FINK, G.D.; BUGGY, J.; JOHNSON, A.K. & BRODY, M.J. - Prevention of steroid-salt hypertension in the rat by anterior forebrain lesion. *Circulation*, 56:111-242, 1977.
- FLYNN, F.W.; SCHIRER, D.L. & MITCHELL, J.C. - Reduced salivation in rats following ventromedial hypothalamic lesions. *Physiol. Behav.*, 24:451-55, 1980.
- FLYNN, F.W.; EVEY, L.A. & MITCHELL, J.C. - Heat-induced saliva secretion and thermoregulation in female rats with ventromedial hypothalamic lesions. *Physiol Behav.*, 26:779-782, 1981.
- FOLKOW, B. & RUBINSTEIN, E.H. - Behavioural and autonomic patterns evoked by stimulation of the lateral hypothalamic area in cat. *Acta Physiol. Scand.*, 65:292-99, 1965.
- FONSECA, E.C.; CASTRO, A.L. & MATHEUS, G. - Contribuição ao estudo das glândulas submandibulares após a lesão da eminência do hipotálamo em ratos. *Rev. Odont. UNESP*, 18:165-174, 1989.
- FUJIMOTO, K.; SHIRASUNA, K.; MIYAZAKI, T.; SHIODANI, Y.; SAKAGAMI, M. & BAN, T. - Ultrastructural changes in rabbit parotid-gland induced by electrical stimulation of the hypothalamus. *Med. J. Osaka Univ.*, 22:215-43, 1972.
- GARRET, J.R. & PARSONS, P.A. - Changes in the main submandibular salivary duct of rabbits resulting from ductal ligations. *Z. mikrosk-anat. Forsch.*, 93:593-608, 1979.

- GRAD, B. & LEBLOND, C.F. - The necessity of testis and thyroid hormones for the maintenance of the serous tubules of the submaxillary glands in the male rats. *Endocrinol.*, 45:250-56, 1949.
- GREEN, G.J.; WILSON, H. & YATES, M.S. - The effect of clonidine on centrally and peripherally evoked submaxillary salivation. *European J. Pharmacol.*, 53:297-300, 1979.
- GUYTON, A.C. - *Tratado de Fisiologia Médica*. 6a. ed. Rio de Janeiro, Ed. Interamericana, 1984. p. 809-11.
- HAINSWORTH, F.R. & EPSTEIN, A.N. - Severe impairment of heat-induced saliva-spreading in rats recovered from lateral hypothalamic lesions. *Science*, 153:1255-57, 1966.
- HARKIN, A. - Connection between the parotid glands and the generative organs. *Lancet*, 1:374, 1886.
- HARRISON, J.D. & GARRET, J.R. - Histological effects of duct ligation of salivary glands of the cat. *J. Path.*, 118:245-54, 1976.
- ROUSSAY, A.B. & UGARTE, C.A.A. - On the mechanism of the hypertrophy of the retrolingual glands of the rat induced by incisor amputations. *Archs. oral Biol.*, 14:63-9, 1969.

- IKAI, Y.; ABE, K.; SASAKI, S.; MINAMI, N.; MUNAKATA, M.; YUMITA, S.; NOBUNAGA, T.; SEKINO, H. & YOSHINAGA, K. - Role of vasopressin in cardiovascular response to central cholinergic stimulation in rats. *Hypertension*, *13*:549-557, 1989.
- JOHNSON, A.K. & BUGBY, J. - Periventricular preoptic-hypothalamus is vital for thirst and normal water economy. *Am. J. Physiol.*, *234*:R122-R129, 1978.
- KANOSUE, K.; NAKAYAMA, T.; TANAKA, H.; YANASE, M. & YASUDA, H. - Modes of action of local hypothalamic and skin thermal stimulation on salivary secretion in rats. *J. Physiol.*, *424*:459-471, 1990.
- KISSILEFF, H.R. & EPSTEIN, A.N. - Exaggerated prandial drinking in the "recovered lateral" rat without saliva. *J. comp. Physiol. Psychol.*, *67*:301-308, 1969.
- KONING, J.F.R. & KLIPPEL, R.A. - The rat brain a stereotaxic atlas of the forebrain and lower parts of the brain stem. Roberto E. Krieger Publishing Co., Huntington, 1963.
- LANGLEY, J.N. - On the physiology of the salivary secretion. V. The effect of stimulating the cerebral secretory nerves upon the amount of saliva obtained by stimulating the sympathetic. *J. Physiol. (Lond)* *10*:291-328, 1889.

LEBLOND, C. & GRAD, B. - Control of the serous acini of the rat submaxillary gland by the thyroid hormone. *Anat. Rec.*, **100**:750, 1948.

MASAI, H. - Die veränderungen in feineren bau der speicheldrüsenzellen infolge elektrischer reizung des autonomen zentrums. *Okaka Daig Igaker Zasshi*, **3**:169-79, 1951.

MAXIMOW, A.A. - Beiträge zur histologie und physiologie der speicheldrüsen. *Arch. mikr. Anat.*, **58**:1-134, 1901.

MENANI, J.V.; MACHADO, B.H.; KRIEGER, E.M. & SALGADO, H.C. - Tachycardia during the onset of one-kidney, one-clip renal hypertension: role of the renin-angiotensin system and AV3V tissue. *Brain. Res.*, **446**:295-302, 1988.

MENANI, J.V.; SAAD, W.A.; CAMARGO, L.A.A.; RENZI, A.; DE LUCA Jr., L.A. & COLOMBARI, E. - The anteroventral third ventricle (AV3V) region is essential for pressor, dipsogenic and natriuretic responses to central carbachol. *Neurosci. Lett.*, **113**:339-344, 1990.

MISELIS, R.R. - The efferente projections of the subfornical organ of the rat: a circumventricular organ within a neural network subserving water balance. *Brain Res.*, **230**:1-23, 1981.

- MONTASTRUC, P.; BERLAN, M. & MONTASTRUC, J.L. - Effects of yohimbine on submaxillary salivation in dogs. *Br. J. Pharmacol.*, **98**:101-104, 1989.
- MONTENURRO, D.G. & STEVENSON, J.A.F. - Adipsia produced by hypothalamic lesions in the rat. *Can. J. Biochem. Physiol.*, **35**:31-37, 1957.
- NOBERG, J.A. & OLSON, L. - Adrenergic innervation of the salivary glands in the rat. *Z. Zellforsch.*, **68**:183-89, 1965.
- OGATA, I.; ITO, Y.; NOZAKI, Y. & OKABE, S. - Studies on the salivary gland hormones. Reports I-XII. *J. pharm. Soc. Japan*, **64**: 79-88, 1944.
- OPSAHL, C.A. - Sympathetic nervous system involvement in the lateral hypothalamic lesion syndrome. *Am. J. Physiol.*, **232**(3): R128-R136, 1977 a.
- OPSAHL, C.A. & POWLEY, T.L. - Body weight and gastric acid secretion in rats with subdiaphragmatic vagotomy and lateral hypothalamic lesions. *J. comp. physiol. Psychol.*, **91**:1284-1296, 1977 b.
- PAZO, J.H.; TUMILASCI, O.R. & MEDINA, J.H. - Studies on the mechanisms of alfa-dopa-induced salivary secretion. *European J. Pharmacol.*, **69**: 255-61, 1981.

- POWLEY, T.L. - The ventromedial hypothalamic syndrome satiety and a cephalic phase hypothesis. *Psychol.Rev.*, *84*: 89-126, 1977.
- RAMOS, J.M.J.; CASTILLO, M.E. & PUERTO, A. - Submandibular and parotid salivary secretion after eletrolytic lesioning of the brainstem nucleus parvocellularis in the rat. *Physiol. Behav.*, *44*:173-180, 1988.
- RAWLINSON, H.E. - The changes in the alveolar and demilune cells of the simple and the stimulated paralytic submaxillary gland of the cat. *J. Anat.* (Lond.), *70*:143-48, 1935.
- RENZI, A.; UTRILLA, L.S.; CAMARGO, L.A.A.; SAAD, W.A.; DE LUCA Jr., L.A.; MENANI, J.V. & ROSLINDO, N.C. - Morphological alterations of the rat submandibular gland caused by lesion of the ventromedial nucleus of the hypothalamus. *Rev. Odont. UNESP*, *18*:157-164, 1989.
- RENZI, A.; LOPES, R.A.; SALA, M.A.; CAMARGO, L.A.A.; MENANI, J.V.; SAAD, W.A. & CAMPOS, G.M. - Morphological morphometric and stereological study of submandibular gland in rats with lesion of the anteroventral region of the third ventricle (AV3V). *Exp. Pathol.*, *38*:117-187, 1990.
- ROMANIVK, A.; BRUDZYNSKI, S. & GRONSKA, J. - Rage reaction evoked by intrahypothalamic injection of carbachol in cats. *Acta Physiol. Pol.*, *24*:623-630, 1973.

- ROZKOWSKA, E. & FONBERG, E. - Impairment of salivary reflexes after lateral hypothalamic lesions in dogs. *Acta Neurobiol. Exp.*, **32**:711-20, 1972.
- ROZKOWSKA, E. & FONBERG, E. - Salivary reactions after ventromedial hypothalamic lesions in dogs. *Acta. Neurobiol. Exp.*, **33**:553-62, 1973.
- SCHALLERT, T.; LEACH, L.R. & BRAUN, J.J. - Saliva hypersecretion during aphagia following lateral hypothalamic lesions. *Physiol. Behav.*, **21**:461-463, 1978.
- SHAFER, W.G. & MUHLER, J.C. - Effect of gonadectomy and sex hormones on the structure of the rat salivary glands. *J. dent. Res.*, **32**:22-48, 1953.
- SHAFER, W.G. & MUHLER, J.C. - The effect of desiccated thyroid, propylthiouracil, testosterone and fluorine on the submaxillary glands of the rat. *J. dent. Res.*, **35**:922-29, 1956.
- SHAFER, W.G. & MUHLER, J.C. - Endocrine influences upon the salivary glands. *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, **85**:215-27, 1960.
- SNELL, R.S. & GARRET, J.R. - The effect of preganglionic parasympathectomy on the structure of the submandibular and sublingual glands of the rat. *Zellf. Mik. Anat.*, **52**:686-96, 1960.

SPENCER, S.E.; SAWYER, W.B. & LOEWY, A.D. - Lateral hypothalamic area: role in cardiovascular control. *Soc. Neurosci. Abst.*, 14:971, 1988.

SREEBNY, L.M.; MEYER, J. & BACHEM, E. - Hormonal control of the proteolytic activity of the submaxillary gland and the pancreas. *J. dent. Res.*, 37:485-491, 1958.

SUDDICK, R.P. & DOWD, F.J. - Mecanismos de secreção de saliva. "In" : *Caries dentárias - bases histológicas*. MENAKER L., Guanabara Koogan, 1984. pp.60-101.

TAMARIN, A. & SREEBNY, L.M. - Effects of total inanition on the submaxillary gland of the rat. *Archs. oral Biol.*, 7:480-99, 1962.

TAMARIN, A. - Submaxillary gland recovery from obstruction. II. Election microscopic alterations of acinar cells. *J. Ultrastruct. Res.*, 34:288-302, 1971.

TEITELBAUM, P. & STELLAR, E. - Recovery from the failine to eate produced by hypothalamic lesions. *Science*, 120:894-895, 1954.

TEITELBAUM, P. & EPSTEIN, A.N. - The lateral hypothalamic syndrome: recovery of feeding and drinking after lateral hypothalamic lesions. *Physiol. Rev.*, 69:74-90, 1962.



THESLEFF, P. - An electrophysiological in-vivo study on the effects of nerve stimulation and denervation in the parotid gland of the rat. *Acta Physiol. Scand.*, 136:235-243, 1989.

UTRILLA, L.S. - *Aspectos histológicos e histoquímicos das glândulas, submandibular e sublingual de ratos, submetidos à lesão do núcleo paraventricular do hipotálamo*. Araraquara, 1977 (Tese - Faculdade de Odontologia).

WANG, J.X.; ROESKE, W.R.; HAWKINS, K.N.; GEHLERT, D.R. & YAMAMURA, H.I. - Quantitative autoradiography of  $M_2$  muscarinic receptors in the rat brain indentified by using a selective radiolizand [H] AF-DX 116. *Brain. Res.*, 477:322-326, 1989.

WELLS, H. & MUNSON, P.L. - Experimental enlargement of submandibular salivary gland of rats. *Am. J. Physiol.*, 199:63-66, 1960.

YOSHIMURA, F. - Cytological changes in rat salivary glands following hypophysectomy and somatrophic hormone administration. *Okajimas Folia Anat. Jpn.*, 28:195-205, 1956.