

mt
VALDIR SEIJE ITO

EFEITOS DA XEROSTOMIA NAS ESTRUTURAS BUCAIS DO RATO

mt
Orientador: Prof. Dr. OSLEI PAES DE ALMEIDA

t.
Tese apresentada ao Curso de Pós-Graduação em Biologia e Patologia Buco-Dental (Área de Patologia), Faculdade de Odontologia de Piracicaba, Universidade Estadual de Campinas, para obtenção do Título de Mestre em Ciências.

PIRACICABA - S. P.
- 1990 -

A meus Pais,
SEITE E MARIA.

A meu Irmão,
ARMANDO CIN MEMORIANO

Ac Prof. Dr. OSLEI PAES DE ALMEIDA; pela orientação e amizade que muito me valeu durante este período, fornecendo toda a dedicação e mostrando os difíceis caminhos da pesquisa científica.

A G R A D E C I M E N T O S

- A Profa. Dra. TEREZA L. S. BARRICHELLO
Coordenadora do Curso de Mestrado em Biologia e Patologia
Bucco-Dental, Faculdade de Odontologia de Piracicaba/UNICAMP.
- Aos Prof's. Drs. LOURENÇO BOZZO e MARIO ROBERTO VIZIOLI, da
Disciplina de Patologia da Faculdade de Odontologia de Piraci-
caba/UNICAMP.
- Ao Prof. RONALDO S. WADA pela Análise Estatística.
- Aos demais Professores do Curso de Mestrado em Biologia e
Patologia Bucco-Dental.
- Ao Dr. ANTONIO KERCHES DE CAMPOS - Técnico do Laboratório de
Patologia pela ajuda durante o período experimental.
- Ao ALEXANDRE ROCHA ARBEX - pela ajuda no Processamento da Tese
no Computador.
- Ao ELISEO APARECIDO BERTTI - na confecção dos gráficos e
tabelas.
- A FABIANA FACCO CASAROTTI e MARIA HELENA DE VASCONCELOS PERON -
Técnicas do Laboratório de Patologia na colaboração de técnicas
histológicas no período experimental.
- ROSA MARIA FORNASIARI - Secretária do Departamento de Patolo-
gia, pela colaboração na parte de datilografia.
- SUZETE REGINA TOBIAS - Pela ajuda de datilografia.
- Ao MARCOS ANTONIO RAPETTI - Técnico em Computação nas confec-
ções de gráficos e tabelas no Computador.

- Ao PEDRO DUARTE NOVAES, Técnico do Laboratório de Patologia, pela ajuda e colaboração e na grande amizade que proporcionou durante o período de experimentação.
- Ao ANTONIO OLAVO CARDOSO JORSE e PAULO EMILIO VILHENA DA SILVA - pela colaboração experimental.
- Aos Colegas de Curso GERSON EDUARDO ROCHA CAMPOS e WALTER NICOLLI FILHO que ao decorrer do Curso tornaram ótimos amigos.

Este trabalho foi realizado com o auxílio do
CNPq (Conselho Nacional de Pesquisa) processo
Nº 132397/85-4

ÍNDICE

1 - INTRODUÇÃO	1
2 - REVISÃO DA LITERATURA	2
2.1 - A Saliva e Suas Funções	2
2.2 - Controle Nervoso das Glândulas Salivares	3
2.3 - Funções Digestivas e Tampão Salivar	4
2.4 - Leucócitos Salivares e Funções Bactericidas	5
2.5 - Reparação Tecidual e Função Excretora	7
2.6 - Função Hormonal e Glândulas Salivares Menores e Mu- cinas	8
2.7 - Composição da Saliva e Xerostomia	9
2.8 - Efeitos da Sialoadenectomia em Ratos	11
2.9 - Objetivos	13
3 - MATERIAL E METODOS	14
3.1 - Sialoadenectomia e Controle de Peso, Consumo de Água, Ração de Ratos Normais e Sialoadenectomizados	14
3.2 - Técnicas Histológicas, Quantificação de Queratina e Cárie Dental	15
3.3 - Doença Periodontal e Placa Dental	16
3.4 - Quantificação de Bactérias e Quantificação da Saliva	18
4 - RESULTADOS	20
4.1 - Consumo de Ração e Água	20
4.2 - Controle de Peso	21
4.3 - Técnicas Histológicas	22
4.4 - Quantificação de Queratina	27
4.5 - Cárie Dental	28
4.6 - Doença Periodontal	30
4.7 - Placa Dental	32
4.8 - Quantificação de Bactérias	38
4.9 - Quantificação de Saliva	41

5 - DISCUSSÃO	42
6 - RESUMO	48
7 - SUMMARY	48
8 - REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS	49
9 - APENDICE	58

INTRODUÇÃO

A saliva tem importante papel em várias funções, como mastigação e deglutição, lubrificação dos tecidos moles e duros da boca, proteção contra penetração de substâncias na mucosa bucal, manutenção do equilíbrio ecológico e do pH, maturação pós-eruptiva do esmalte e normalidade do paladar (Galili, Maller & Brightman, 1978; Mandel, 1987). A xerostomia pode ocorrer em variados graus de intensidade, chegando ao extremo de completa falta de saliva (McDonald e cols., 1986). Segundo Dawes (1987), o sintoma de ressecamento da mucosa oral aparece quando o fluxo salivar é reduzido a 40-50% ao volume normal.

Em humanos a xerostomia é acompanhada de alto índice de cárie dental, além da sintomatologia de secura da mucosa e necessidade de beber água com frequência (Smith & Smith, 1977). Segundo Wallace & Petrusneck (1985) a atrofia da mucosa oral observada em indivíduos idosos está associada a diminuição da salivação. Em pacientes com síndrome de Sjogren, (Henkin e cols., 1972) descreveram alterações do paladar associadas a modificações ultraestruturais nas papilas gustativas.

Em ratos, está bem estabelecido desde os trabalhos de Cheyne (1939) e Weisberg, Nelson & Boyle (1940) que a sialoadenectomia é seguida de aumento na incidência da cárie dental. Com relação a mucosa oral, Nanda & Catalanotto (1981) descreveram hiperqueratose do epitélio lingual, assim como alterações das papilas circunvaladas em ratos sialoadenectomizados. O objetivo deste trabalho foi estudar em ratos os efeitos da xerostomia nas estruturas bucais, visto que apenas com relação a cárie dental o assunto tem sido extensivamente estudado.

REVISÃO DA LITERATURA

A SALIVA E SUAS FUNÇÕES

As glândulas salivares estão presentes nos vertebrados e muitos grupos de invertebrados, com funções diversas. Nas cobras venenosas servem para matar ou imobilizar a presa, enquanto que no sapo, a saliva é viscosa para facilitar a retenção de insetos na língua. Alguns pássaros usam a saliva na construção de ninhos. Ratos recém-nascidos não sobrevivem após a retirada das glândulas salivares em decorrência da falta de alimentação adequada, pois se ajudados durante a amamentação sobrevivem sem dificuldade Plagge (1938). Já em carneiros a retirada das parótidas leva à morte. A importância da saliva pode ser realçada pelos sintomas relatado por paciente com xerostomia acentuada, como citado por Mandel (1987).

"Minha boca e garganta são secas, ásperas, pegajosas"

"Não consigo falar confortavelmente"

"Não posso usar minha dentadura"

"Tenho que beber água frequentemente"

"Comer é difícil"

"A comida adere na mucosa e dentes"

"Não distingo bem o paladar"

"Tenho muitas cáries"

"Estou perdendo rapidamente os dentes"

As glândulas salivares e seus produtos de secreção podem ser divididos basicamente em dois tipos: seroso e mucoso. A saliva serosa é aquosa, rica em proteínas e a secreção está relacionada a estímulos olfatório, gustatório e mastigatório. A mucosa é composta de glicoproteínas altamente viscosas tendo secreção basal independente de estímulos conhecidos Suddick & Dowd (1980).

A saliva total presente na boca é a mistura das secreções das glândulas salivares, além de bactérias e leucócitos, estes últimos oriundos principalmente do fluido gengival. O total de volume salivar diário está em torno de 500

ml Jenkins (1978).

Para coletar a saliva total basta pedir ao indivíduo cuspir a cada 60 segundos num cilindro graduado, durante 5 minutos. A estimulação na formação da saliva, pode ser conseguida pela mastigação de 1-5g de parafina ou banda elástica. A estimulação química pode ser feita com 0,1 mol/l de ácido cítrico, colocando-se algumas gotas no dorso da língua em intervalos regulares de 15 a 60 segundos Dawes (1967). A saliva da parótida pode ser coletada por canulação ou usando-se o método descrito por Shannon & Chauncey, 1967), que emprega pequena câmara de sucção. (Fox e cols., 1986) coletaram saliva da submandibular e sublingual acumulada no assoalho da boca, bloqueando a secreção da parótida com algodão absorvente. De acordo com Dawes & Wood (1973) e Speirs (1984), a saliva das glândulas labiais e do palato mole, podem ser coletadas com pipeta ou papel de filtro.

CONTROLE NERVOSO DAS GLÂNDULAS SALIVARES

O papel da inervação no controle da secreção salivar, foi descrito recentemente por Garret (1967). Nas glândulas maiores (sublingual, submandibular e parótida) a inervação simpática controla a vaso-constricção e a parasimpática a atividade secretora. No homem, os ramos do parasimpático são oriundos do nervo facial para as glândulas submandibular e sublingual, e do glossofaríngeo para a parótida. As fibras do simpático se originam entre os 1º e 4º segmentos torácicos e passam pelo gânglio simpático superior. A redução do fluxo salivar pode ser conseguido com relaxadores da musculatura lisa dos vasos, visto que mudanças na pressão sanguínea fazem com que a glândula extraia mais ou menos água do sangue. A própria quantidade e composição da saliva dependem da natureza do estímulo que inicia a ação do simpático e parasimpático. Sabe-se que o estímulo simpático da glândula submandibular dá origem a secreção viscosa, enquanto que o parasimpático forma saliva fina e serosa.

Principais drogas que interferem na Secreção Salivar:

	<u>PARASIMPÁTICO</u>	<u>SIMPÁTICO</u>
ESTIMULANTES	Acetilcolina	Epinefrina
	Muscarina	Efedrina
	Pilocarpina	Anfetamina
	Fisostigmina	Sinefrina
DEPRESSORES	Atropina	Erfotamina
	Hioscina	Dibenzyl-B-Chloroetilamina

FUNÇÕES DIGESTIVAS

A secreção serosa das glândulas salivares é rica em amilase, entretanto sua função na digestão parece ser pequena. A maior parte do alimento é deglutido rapidamente e a amilase é inativada pela ação proteolítica do suco gástrico e pelo baixo pH. É possível que tenha ação efetiva nos locais onde há retenção de alimento. A ação de lipases salivares na digestão foi descrita por vários autores, especialmente nas glândulas de Von Ebner da língua (Hamosh & Burns, 1977; Field, Dromy & Hand, 1987). A saliva lubrificando a mucosa, facilita os movimentos mastigatórios e transforma o bolo alimentar numa massa semi-sólida, mais facilmente deglutida. A saliva também pode contribuir para a distinção dos sabores, visto que auxilia na dissolução de substâncias e segundo (Shatzman & Henkin, 1981) possui a proteína gustina, que é mediadora do paladar.

TAMPÃO SALIVAR

Os tampões salivares são compostos de bicarbonato, fosfato e proteínas. O principal tampão é o bicarbonato, que libera o ácido carbônico quando em presença de ácidos, sendo o gás carbônico rapidamente decomposto em água e CO_2 . A saliva não estimulada tem menos bicarbonato. O pH da saliva humana está entre 5,6 e 6,7, sendo que a estimulada está em torno de 7,0. (Dawes & Wood, 1973) verificaram que o pH da saliva das glândulas

menores está em torno de 7,0 e independe do fluxo. Por outro lado, em alguns animais como o rato e camundongos, o pH está em torno de 9,0. Quando a saliva é incubada durante 24 hs, o pH sobe para 8,0 devido a produção de amônia, através do metabolismo da uréia, o mesmo devendo ocorrer durante o sono, contribuindo assim para a halitose. Por outro lado, se carboidrato é adicionado à saliva, o pH cai, chegando a 5,0 após 3 horas. Estes dados indicam que a saliva contém bactérias que produzem ácido ou álcalis na dependência da presença de açúcar.

LEUCÓCITOS SALIVARES

A presença de leucócitos na saliva e a participação nos mecanismos de defesa das estruturas orais foi revisto por Ferraz (1987). Deve ser salientado que devido a hipotonicidade da saliva, muitos leucócitos, principalmente neutrófilos, estão em degeneração. Quando ocorre lise do neutrófilo, os componentes dos 80 a 120 lisossomos liberados, como a lisozima, lactoferrina e mieloperoxidase são incorporados na saliva. A principal via de acesso dos neutrófilos para a boca é o sulco gengival. Scully (1980) administrou endovenosamente em macacos, leucócitos marcados com In¹¹¹, e após 20 minutos coletou-os no fluido crevicular, sendo que um número mínimo passou por outras áreas da mucosa oral. As funções dos neutrófilos na saliva não são bem conhecidas, entretanto pode apresentar atividade fagocitária "in vivo" Rovelstad (1984), e "in vitro" (Kenney e cols., 1977). De acordo com Ferraz (1987) a migração de neutrófilos através da gengiva apresenta ritmo circadiano, sendo influenciada principalmente pelo sono.

FUNÇÕES BACTERICIDAS

Imediatamente após o nascimento a boca é estéril, mas nas primeiras 10 hs contém estreptococos, estafilococos e outros microrganismos. Após uma semana, predominam os estreptococos, estafilococos e alguns gram-negativos. Organismos anaeróbicos aparecem principalmente após o início da dentição.

A saliva é importante não apenas para a manutenção do equilíbrio da microbiota oral, como também para evitar infecções de feridas da boca. Fleming descreveu a lisozima, que possui ação da muramidase, atuando nas ligações 1:4 entre o ácido acetil-murânico e acetil glucosamina. Vários agentes antimicrobianos foram descritos posteriormente na saliva, como imunoglobulinas, peroxidase, mieloperoxidase e lactoferrina Tenovuo (1987).

Estas substâncias, em conjunto ou isoladamente podem aglutinar microorganismos ou inibir o metabolismo e a multiplicação das bactérias. Podem também, por mecanismos imunológicos ou não, participar da colonização das superfícies orais pelas bactérias, processo vital para a sobrevivência de muitas espécies na boca Mandel (1987). Os mecanismos envolvidos são complexos e (Simonsson e cols., 1987) estudaram vários parâmetros da saliva de indivíduos que formam placa intensamente ou não, e concluíram que nenhum dos fatores analisados isoladamente explicam a variação na intensidade de formação da placa dental. Por outro lado, a ação mecânica da saliva, auxiliada pelos movimentos dos lábios e língua efetivamente removem grande quantidade de bactérias das superfícies orais.

A IgA da saliva é em sua maior parte produzida pelas glândulas salivares, e a capacidade de inibir a aderência bacteriana é uma de suas principais características (McNabb & Tomasi, 1981). A produção de vacina anticárie tem como método mais promissor a produção de IgA pelas glândulas salivares. O trabalho de Michalek e cols., (1976) mostrou a redução do índice de cárie em 63%.

Babu e cols., (1986) isolaram uma glicoproteína com peso molecular de 60.000 daltons que é capaz de aglutinar Streptococcus mutans. A lactoferrina salivar equivalente a transferrina, é capaz de competir com as bactérias na captação de ferro (Arnold e cols., 1980). A Peroxidase salivar faz parte de um sistema que envolve a oxidação de tiocianato pelo peróxido de hidrogênio, gerado pelas bactérias, em hipotiocianito, que afeta o metabolismo bacteriano Tenovuo e col., (1982). Embora alguns vírus possam ser transmitidos pela saliva (caxumba, raiva), a

saliva provavelmente tem também propriedades antiviróticas como demonstrado para o vírus da Herpes simples Heineman & Greenberg (1981).

REPARAÇÃO TECIDUAL

Todos já observaram o cão lamber suas feridas, e conhecem a passagem bíblica em que Lázaro teve suas lesões tratadas pela saliva de um cão. Embora necessite de melhor explicação científica, a saliva parece ter propriedades cicatriciais. O sangue em contato com a saliva tem seu tempo de coagulação diminuído Doku (1960), Lundblad & Puryear (1971) o que deve contribuir para o início do processo de reparação. Segundo (Hutson e cols., 1979) a remoção das glândulas submandibulares de camundongos diminui a capacidade de contração das feridas, o mesmo não ocorrendo com a parótida.

O Fator de Crescimento da Epiderme está presente na saliva de animais e humanos (Starkey & Orth, 1977), Sporn e cols., (1985) também descreveram fatores de crescimento isolados da saliva de bovinos que estimulam o processo de reparo "in vivo". Entretanto, mais estudos são necessários para se entender a participação da saliva na reparação de feridas da boca.

FUNÇÃO EXCRETORA

Garret (1975) descreveu as funções atribuídas à saliva na Idade Média, e dentre elas estava a de excretar substâncias nocivas presentes no corpo. Realmente, drogas e álcool são excretados pelas glândulas salivares, embora em pequena quantidade. Na saliva pode-se encontrar traços de muitas substâncias presentes no sangue, e eventualmente podem ser úteis para medir indiretamente a concentração plasmática Peligrinoti (1987).

FUNÇÃO HORMONAL

A relação entre as glândulas salivares e endócrinas é controversa e o assunto foi revisto por Lima em sua Tese de Doutorado (1978). Mais recentemente alguns fatores encontrados na saliva, ou isolados das glândulas salivares foram sugeridos como tendo ação hormonal, fator de crescimento epidermal, fator de crescimento nervoso e fator de transformação do crescimento Olsen (1984).

GLÂNDULAS SALIVARES MENORES E MUCINAS

As glândulas salivares menores estão distribuídas nos lábios, língua, palato duro e mole e mucosa jugal, estando ausentes na gengiva e porção anterior do palato duro. Ao contrário das glândulas maiores que secretam em resposta a estímulos mecânicos, térmicos, químicos e psíquicos, as menores secretam continuamente. No homem, 8-10% da saliva total corresponde a contribuição das glândulas menores. O principal produto das glândulas menores é a mucina, que corresponde a 70% do encontrado na saliva.

As mucinas são glicoproteínas de alto peso molecular contendo mais de 50% dos carboidratos na forma de oligosacarídeos neutros ou ácidos, que podem conter galactose, fucose, N-acetilglucosamina, ácido siálico e N-acetilgalactosamina. As porções peptídicas das mucinas consistem de 30-40% de serina e treonina, contendo também prolina, ácido glutâmico, glicina e alanina (Herp e cols., 1979).

Uma das principais funções da saliva é a de lubrificar as estruturas da boca, facilitando a fonação, mastigação e movimentação das mucosas orais, e a mucina é a principal substância envolvida neste processo. As mucinas apresentam baixa solubilidade, alta viscosidade, elasticidade e adesividade, podendo formar barreira efetiva contra as bactérias e ressecamento da mucosa oral (Tabak e cols., 1982). As mucinas parecem ser importantes no controle da permeabilidade da mucosa oral Adams (1974, 1975), e dificultam a penetração de substâncias

nocivas como carcinogênicos Stormby & Wallenius (1964). Negus (1963, 1967) sugeriu que o muco é uma barreira para a desidratação dos tecidos e demonstrou que a mucosa não mantém o balanço hídrico sem a camada de muco. Existem também evidências de que as moléculas de carboidrato da mucina são importantes no controle não imunológico da flora oral (Gibbons & Houte, 1975; Tabak e cols., 1980). Em contato com a mucina alguns microorganismos são aglutinados, não se aderindo às superfícies teciduais. Por outro lado, as mucinas são degradadas "in vivo", principalmente por enzimas elaboradas por bactérias da flora, servindo portanto como substrato específico para algumas bactérias, e esta seria outra forma de regular a flora Savage (1978).

COMPOSIÇÃO DA SALIVA

Um litro de saliva contém 994 gramas de água, 1g de material sólido, 2g de material inorgânico e 3g de orgânico Jenkins (1978). A parte sólida contém células epiteliais ($6-600.10^3/ml$), leucócitos ($25-65.10^3/ml$), bactérias ($6-7.10^7/ml$), fungos, alguns protozoários e restos alimentares. O sódio e potássio são os ions mais abundantes. As concentrações de cloro e sódio aumentam com o fluxo salivar, e o potássio permanece relativamente constante. A difusão de ions, cálcio, fósforo, magnésio e flúor para o esmalte aumentam a sua dureza e diminuem a permeabilidade, aumentando a resistência à cárie Shaw & Wollman (1958).

Dentre as substâncias orgânicas encontradas na saliva tem-se glicose, colesterol, amônia, uréia, ácido úrico, globulinas, lisozima, albumina, amilase, niacina, riboflavina, aglutinogênios, A, B, O, fosfatase alcalina, fosfatase ácida, lipase, peroxidase, aldolase, hialuronidase.

XEROSTOMIA

A xerostomia pode ocorrer em variados graus de intensidade, chegando ao extremo de completa falta de saliva.

Deve-se considerar que o fluxo salivar é muito variável entre os indivíduos, sendo portanto difícil determinar se um paciente tem ou não fluxo diminuído, e que possa caracterizar um certo grau de xerostomia. Com exceção dos casos extremos, o indivíduo é classificado como tendo xerostomia, baseando-se nos sintomas de sensação de secura da boca. Dawes (1987) observou que o sintoma de ressecamento da mucosa aparece quando o fluxo salivar é reduzido a 40-50% do volume normal.

A xerostomia pode ser temporária devido a sialodente ou uso de medicamentos contendo atropina ou anti-histamínicos (Shafer, Hine & Levy, 1974). Xerostomia mais grave ocorre após radioterapia; na Síndrome de Sjogren, e em casos de aplasia glandular. Segundo Wallace & Petrusneck (1985) a atrofia da mucosa oral observada em indivíduos idosos está associada a diminuição da salivação.

A xerostomia pode estar associada a:

- maior incidência de cárie
- doença periodontal
- estagnação de restos alimentares
- atrofia da mucosa oral
- dificuldades para uso de próteses
- dificuldades de deglutição e fonação
- redução do paladar
- sensação de mucosa ressecada

A ausência total ou parcial das glândulas salivares é rara, entretanto existem vários relatos na literatura. Alguns casos sugerem a participação de fator hereditário, enquanto que outros não tem aparente relação com qualquer causa.

Austin & Steggerda (1936) descreveram o caso de um paciente com xerostomia acentuada, e que com 21 anos perdeu todos os dentes, exceto os incisivos laterais inferiores. A prótese superior só parava com espessa camada de substância viscosa aplicada no palato. Injetando subcutaneamente 6,0g de pilocarpina em indivíduos normais a secreção salivar aumentou de 3,2ml/5min para 21ml, enquanto que no paciente com xerostomia coletou-se 0,1ml de saliva espessa e viscosa. Segundo estes mesmos autores, o paciente bebia a mesma quantidade de água que os controles,

apenas que mais frequentemente.

Smith & Smith (1977) fizeram uma revisão da literatura concernente a ausência congênita das glândulas salivares, e descreveram alta incidência de cárie em criança de 5 anos de idade com aplasia das mesmas. McDonald (1986) descreveu num paciente com aplasia das glândulas salivares maiores, evidentes glândulas menores no lábios e palato. É possível que a gravidade da xerostomia esteja relacionada com a quantidade de saliva produzida pelas glândulas menores. Em cães, Montgomery (1931) observou que o consumo de água não se altera após a extirpação das glândulas salivares maiores, e que as glândulas mucosas do cão são suficientes para manter a mucosa oral úmida. A mesma autora não observou cárie nos cães sialoadenectomizados.

EFEITOS DA SIALOADENECTOMIA EM RATOS

São controversos os estudos sobre o papel endócrino das glândulas salivares em ratos. Matheus & Martinelli (1974 a,b), verificaram que a parotidectomia acelera a formação de tecido de granulação de ratos. Martinelli (1976), descreveu que as glândulas salivares tem ação no metabolismo dos proteoglicanos. Bixler e cols., (1955) verificaram perda de peso corporal em ratos machos e fêmeas após a remoção das glândulas salivares, sendo que o consumo de comida era menor apenas nos machos. Shaw & Wollman (1958) descreveram retardo no crescimento em ratos de ambos os sexos, sendo que os animais operados consumiram mais água e comida. Haldi & Winfrey (1963), para melhor controlar o consumo de ração, alimentaram os ratos através de sonda gástrica, e em média houve perda de 19 gramas nos animais sialoadenectomizados em relação aos controles, e concluíram que a perda de peso não era devido a problemas de digestão ou absorção. Lima (1978) verificou que a parotidectomia não altera o peso de ratos, mas a retirada da submandibular é seguida de diminuição da perda do peso corporal.

Com relação a cárie dental, a remoção das glândulas salivares é seguida de grande aumento na incidência de cárie (Cheyne, 1939; Weisberg, Nelson & Boyle, 1940; Muhler & Shafer,

1954; Shaw & Wollman, 1958). Não encontramos nenhum trabalho relacionando xerostomia em ratos com doença periodontal. Takai e cols., (1985) estudando ratos suscetíveis e resistentes a inflamação gengival nos incisivos inferiores, observou que o fluxo salivar nos últimos era maior, sugerindo que a saliva pode ser importante no desenvolvimento deste tipo de gengivite.

OBJETIVO

O objetivo deste trabalho foi estudar as alterações das estruturas bucais no rato, decorrentes da xerostomia provocada pela retirada cirúrgica das glândulas salivares maiores. Foram analisados os seguintes parâmetros:

- Peso corporal,
- Consumo de água e ração,
- Mucosa oral,
- Microbiota bucal,
- Cárie Dental,
- Doença periodontal,
- Placa bacteriana e
- Quantificação de saliva.

MATERIAL E MÉTODOS

SI ALOADENECTOMIA

Neste trabalho foram usados 204 ratos Wistar (Rattus norvegicus), albinos, cujos sexos e pesos estão especificados em cada experimento. Para provocar a xerostomia, foi feita a retirada cirúrgica das glândulas salivares parótida, submandibular e sublingual como descrito por Cheyne (1939). Os animais foram anestesiados com hidrato de cloral na concentração de 400 mg/kg de peso corporal injetado intraperitonealmente. Após tricotomia da região cervical e antissepsia com merthiolate, foi feita incisão na pele na porção cervical mediana, e o tecido subjacente dissecado, evitando-se os grandes vasos. Inicialmente foi exposta a glândula parótida, que se estende da região massetérica até a altura da clavícula, apresentando seu maior eixo na direção céfalo-caudal, e toda a glândula foi retirada com auxílio de pequenas pinças. Posteriormente as glândulas submandibulares e sublinguais foram expostas simultaneamente, visto que formam uma massa única facilmente distinguida dos linfonodos adjacentes. As glândulas foram removidas cortando-se os ductos e vasos, após prévia ligadura com fio de seda. Em nenhum dos animais operados houve problema pós-cirúrgicos que pudessem prejudicar os experimentos.

CONTROLE DE PESO, CONSUMO DE ÁGUA E RAÇÃO DE RATOS NORMAIS E SI ALOADENECTOMIZADOS

Vinte ratos fêmeas e vinte machos, pesando 50-90 gramas foram utilizados para se verificar os efeitos da sialoadenectomia no peso corporal, consumo de água e de ração. O peso inicial correspondeu ao obtido imediatamente antes da remoção das glândulas, e os animais colocados dois a dois em gaiolas apropriadas foram pesados semanalmente, por período de 14 semanas. O consumo de água e ração, foi medido diariamente. Os valores obtidos corresponderam ao consumo diário de dois animais,

transformados em valores médios para cada rato.

TÉCNICAS HISTOLÓGICAS

Cinco ratos fêmeas controles e cinco experimentais, 14 semanas após a sialoadenectomia, foram usados para estudos histológicos. Os animais foram sacrificados por deslocamento cervical, e pequenas áreas do lábio inferior, bochecha, língua, palato duro e palato mole fixados em líquido de Bouin por 24 horas. O material foi incluído em parafina e os cortes corados com hematoxilina e eosina, e pela técnica de PAS. Para as observações do tecido gengival, após a fixação, as mandíbulas foram descalcificadas em ácido tricloroacético, incluídas em parafina e cortadas no sentido mesio-distal.

QUANTIFICAÇÃO DE QUERATINA

Cortes histológicos preparados para a observação das superfícies dorsal e ventral da porção média da língua foram também utilizados para a quantificação de queratina. Inicialmente o epitélio e a região queratinizada foram desenhados com auxílio de microscópio de câmara clara e objetiva de 10x numa folha de papel sulfite, e posteriormente foi calculada a área em mm^2 com planímetro polar Zeiss.

CARIE DENTAL

Para o estudo da incidência da cárie dental, foram usados 10 ratos machos normais e 10 ratos, 60 dias após sialoadenectomia, pesando inicialmente 180-200 gramas. Os animais foram mortos por deslocamento cervical, as mandíbulas e maxilares retirados, e o tecido mole removido mecanicamente. Os dentes molares foram examinados em lupa estereoscópica Zeiss, com aumento de 12x, atribuindo-se valores de 0,5 para as cáries superficiais e 1,0 para as médias e profundas. Quando houve a destruição da coroa do dente, foi atribuído o valor máximo cinco (5,0) significando cárie profunda nas cinco faces da coroa

dental.

DOENÇA PERIODONTAL

Para o estudo da influência da xerostomia na doença periodontal, foram usados 20 ratos fêmeas, pesando de 150-200 gramas, sendo 10 normais e 10 experimentais. Nos animais sialoadenectomizados, após 7 dias foi colocado fio de algodão marca Corrente N° 24 na região cervical do 1° molar inferior direito, de acordo com a técnica de Johnson (1975), sendo o lado esquerdo usado como controle. Sessenta dias após a colocação do irritante gengival, os animais foram sacrificados por deslocamento cervical, as mandíbulas retiradas, e o tecido mole removido, expondo o osso alveolar e os dentes molares. Com auxílio de lupa estereoscópica Zeiss e ocular milimetrada (Leitz Wetzlar) foi medida a distância entre a crista óssea e a junção amelo-cementária na face lingual do 1° molar inferior de acordo com o esquema a seguir (Figura 1).

- A - raiz mesial
- B - região interradicular
- C - raiz medial
- D - região interradicular
- E - raiz distal

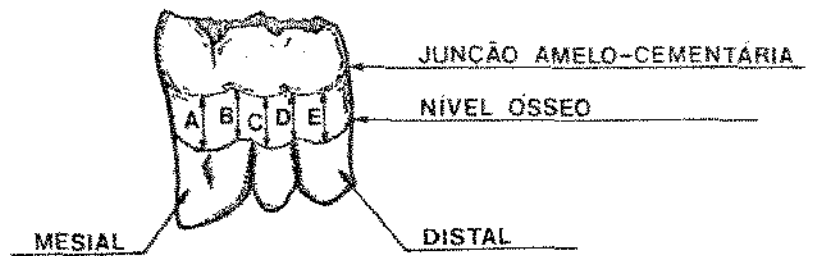


Figura 1 - Esquema mostrando as cinco regiões onde a distância entre a junção amelo-cementária à crista óssea foi quantificada na face lingual do primeiro molar inferior de ratos normais e sialoadenectomizados.

PLACA DENTAL

Para se verificar os efeitos da xerostomia na placa dental, foram utilizados 42 ratos fêmeas normais e 42 sialoadenectomizados, pesando 150-200 gramas. Após diferentes períodos experimentais, os animais foram mortos por deslocamento cervical, a mandíbula e maxila retiradas, e a superfície dos dentes corados com fucsina básica a 2%. As observações foram

feitas com auxílio de lupa estereoscópica Zeiss. Os seguintes grupos foram usados:

A - Dez ratos normais e dez experimentais que ficaram sem as glândulas salivares maiores durante vinte dias, alimentados com ração e água "ad libitum".

Deste grupo foram incluídos para observações em microscopia eletrônica um (01) incisivo inferior de rato controle e um (01) experimental. Os dentes foram cortados ao nível da gengiva, e a porção erupcionada fixada em glutaraldeído a 2,5% em tampão fosfato 0,1 M. O material foi descalcificado em EDTA Warshawsky & Moore (1957), e após tratamento com tetróxido de ósmio incluído em araldite. Os cortes, feitos com navalha de vidro, foram corados com acetato de uranila e citrato de chumbo, e observados no microscópio Zeiss EM-10 da Faculdade de Odontologia de Piracicaba - UNICAMP.

B - Dez ratos normais e dez experimentais alimentados com ração e água "ad libitum", e sacrificados 1 a 10 dias após a retirada das glândulas salivares. Para cada período foi usado um (01) animal controle e um (01) experimental.

C - Dez ratos controles e dez experimentais, alimentados com ração triturada misturada com água. Um animal de cada grupo foi usado no período de 1 a 10 dias, após a retirada das glândulas salivares maiores.

D - Sete ratos controles e sete experimentais deixados em jejum 1 a 7 dias, sendo sacrificados diariamente um animal de cada grupo.

E - Cinco ratos normais e cinco após 120 dias da sialoadenectomia, alimentados com água e ração "ad libitum", foram sacrificados por deslocamento cervical, as maxilas e as mandíbulas retirados e as superfícies dos dentes corados com fucsina básica a 2% durante um minuto. A presença de placa bacteriana foi verificada em lupa estereoscópica Zeiss com aumento de 12x, nas faces vestibulares e linguais dos dentes molares e nas faces distais dos incisivos. Nos molares, as áreas recobertas pela placa bacteriana de cada uma das faces foram desenhadas em ficha apropriada. A quantificação da placa foi realizada, baseando-se no índice proposto por Quigley & Hein

(1962), modificado, atribuindo-se valores de 0 a 5 de acordo com a extensão do acúmulo de placa. Nos incisivos, para a comparação da quantidade de placa foram feitos esquemas representando as faces distais dos dentes examinados, onde as áreas com placa foram desenhadas.

A presença de resíduos e pêlos impactados nos espaços interproximais, foram anotados contando-se o número de espaços que apresentaram impacções.

QUANTIFICAÇÃO DE BACTÉRIAS

Para a quantificação de bactérias foram usados 20 ratos machos, sendo 10 controles e 10 sialoadenectomizados por período de 60 dias. Os ratos foram anestesiados com éter etílico, e com auxílio de espátula de metal foram coletadas células epiteliais da superfície dorsal da língua, e corados pelo Gram. De cada animal foram analisadas pelo menos 80 células epiteliais, usando-se objetiva de imersão, sendo classificadas como tendo zero, 1-10, 10-30, 30-50, 50-80 ou mais de 80 bactérias aderidas à superfície das células.

QUANTIFICAÇÃO DA SALIVA

Para a quantificação de saliva usou-se dez ratos fêmeas, pesando inicialmente 170-180 gramas, sendo cinco normais e cinco sialoadenectomizados. Os animais foram anestesiados com 45mg/kg de peso corporal de Thionembutal e posicionados em suporte próprio. A saliva presente foi removido com auxílio de algodão e pinça, e foram então posicionados quatro esferas ("bolinhas) de algodão previamente pesadas, no dorso da língua, no assoalho da boca e uma na bochecha direita e outra na esquerda. Decorridos quinze minutos, os algodões foram removidos e pesados imediatamente. As diferenças de peso encontrados nas quatro esferas foram somadas, obtendo-se a quantidade de saliva coletado durante quinze minutos. Após a primeira quantificação, os animais foram injetados intraperitonealmente com 8,0mg/kg de peso corporal de pilocarpina (Sigma), e a saliva quantificado

novamente, pelo mesmo método. As medidas foram realizadas 10, 50 e 120 dias após a sialoadenectomia.

RESULTADOS

Os ratos com xerostomia consumiram mais água e ração do que os controles, entretanto não houve diferenças com relação ao ganho de peso (Tabela 1, Figura 2). Embora não tenha sido quantificado, observou-se que os animais experimentais bebiam água mais frequentemente que os controles. Tanto no consumo de água e ração como no ganho de peso, os ratos machos apresentavam valores mais altos que as fêmeas.

TABELA 1 - Médias e desvio padrão do consumo diário de ração e água, durante 14 semanas, de ratos normais e sialoadenectomizados. Através do Teste T, verificou-se que os animais experimentais consumiram mais ração e água do que os controles ($P < 0,05$) $n = 10$.

ANIMAIS		RAÇÃO (g)	ÁGUA (ml)
MACHO	CONTROLE	17.41 \pm 1.65	30.12 \pm 3.36
	EXPERIMENTAL	20.14 \pm 2.26	41.80 \pm 4.69
FÊMEA	CONTROLE	11.99 \pm 1.25	20.19 \pm 2.24
	EXPERIMENTAL	14.86 \pm 1.34	24.86 \pm 3.26

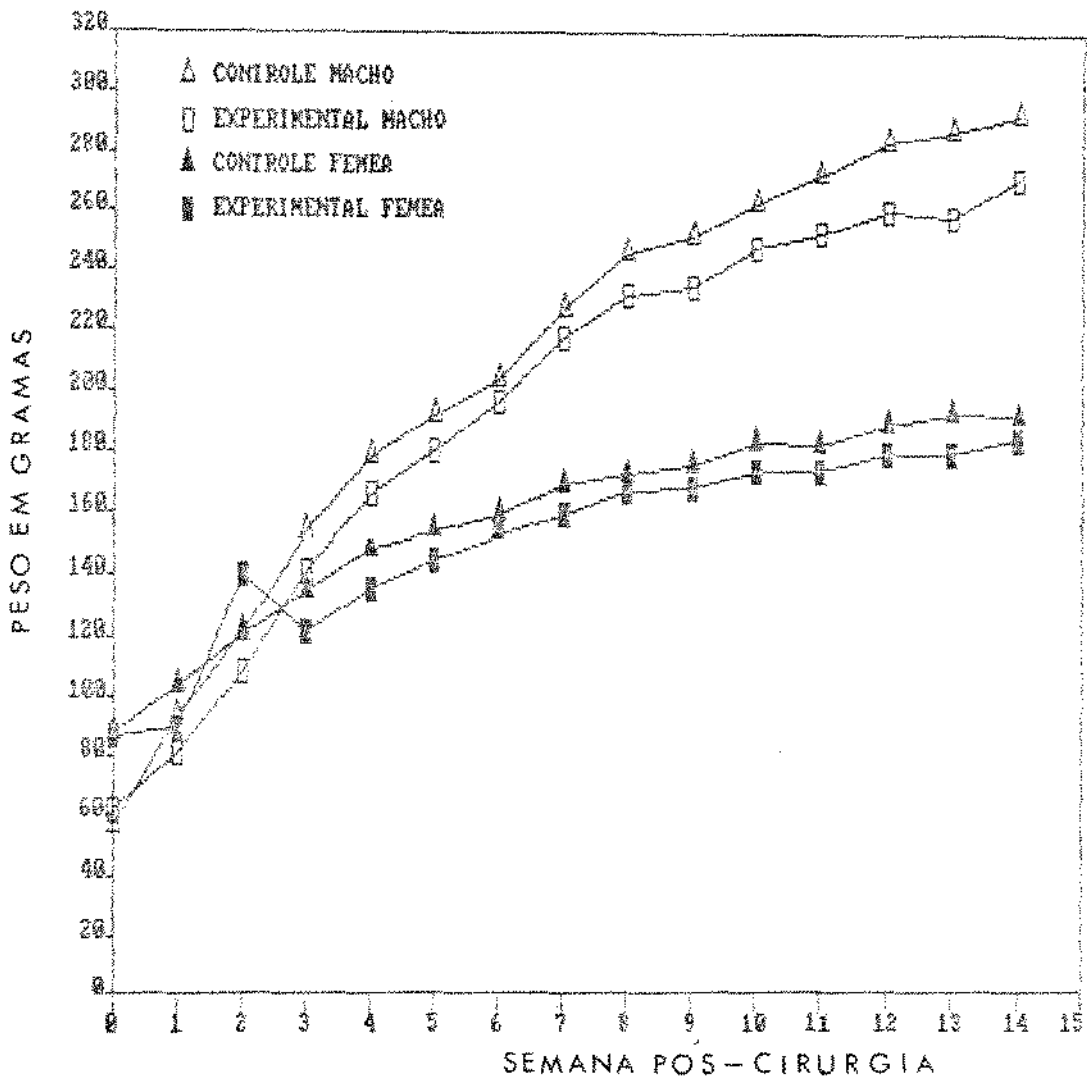


FIGURA 2 - Peso em gramas de ratos machos e fêmeas, controle e experimental, até 14 semanas após a retirada cirúrgica das glândula salivares maiores. n = 10.

Durante todo período experimental, foi evidente a xerostomia nos ratos sialoadenectomizados. Nos animais normais, a mucosa oral apresentava-se umidecida enquanto que nos experimentais o ressecamento era acentuado. Após a administração de Pilocarpina, coletava-se dos animais normais cerca de 2,5 ml de saliva durante o período de 30 minutos. No grupo experimental não foi possível coletar quantidade que pudesse ser medida, sendo que geralmente obtinha-se o suficiente apenas para umedecer pequenas áreas de papel de filtro, colocados na superfície dorsal ou ventral da língua. Pode-se também observar que a saliva dos animais sialoadenectomizados apresentava alta viscosidade.

RESULTADOS HISTOLÓGICOS

Embora clinicamente a xerostomia fosse bem evidente, não se observou, pelos métodos usados, alterações morfológicas na mucosa oral dos ratos sialoadenectomizados. Segue-se descrição sucinta das estruturas observadas microscopicamente, que correspondem as observações feitas nos dois grupos.

LÁBIO INFERIOR

A mucosa do lábio inferior do rato é revestida por epitélio queratinizado, com a camada granulosa evidente, e a interface epitélio-conjuntivo não apresentando interdigitações. O conjuntivo situado entre o epitélio e tecido muscular, mostra além dos feixes de colágeno, fibras nervosas e vasos, mastócitos, fibroblastos e alguns eosinófilos. A pele, situada em oposição a mucosa labial, distingue-se não apenas pela presença dos apêndices foliculares e glândulas sebáceas, como também pela organização do epitélio e dos feixes de colágeno.

MUCOSA JUGAL

Como o lábio, a mucosa jugal está externamente recoberta pela pele, que apresenta epitélio escamoso queratinizado formado de 3 a 4 camadas de células, além dos apêndices foliculares. Abaixo do conjuntivo, entre a pele e mucosa oral, o tecido muscular é bastante desenvolvido. A mucosa oral está recoberta por epitélio queratinizado, sendo que as fibras de colágeno do córion não formam feixes compactos como na pele. Na região de transição entre a pele e mucosa, destaca-se grande acúmulo de glândulas sebáceas.

LÍNGUA - PORÇÃO ANTERIOR

A língua é formada por tecido muscular estriado, entrecortado por conjuntivo rico em mastócitos. A superfície ventral está recoberta por epitélio escamoso queratinizado, com a

camada basal formando poucas interdigitações com o conjuntivo. A camada granulosa é bem desenvolvida, assim como a de queratina, que apresenta superfície plana e homogênea, sem evidências de bactérias aderidas a superfície. A porção dorsal está recoberta por epitélio queratinizado, com inúmeras papilas filiformes e algumas fungiformes. Aderidas à superfície das papilas filiformes, há frequentemente colônias de bactérias, o que não ocorre na superfície ventral. O epitélio apresenta inúmeras interdigitações com o conjuntivo, e nestas áreas a celularidade é mais pronunciada.

LINGUA - PORÇÃO MÉDIA

A porção média da língua apresenta estrutura semelhante a descrita anteriormente. A região dorsal está formada principalmente de papilas filiformes, mostrando também algumas fungiformes (Figura 3). Bactérias coradas pela hematoxilina podem ser observadas aderidas as camadas mais superficiais de queratina. Na superfície ventral a camada de queratina é mais delgada, desprovida de papilas, e a camada basal do epitélio não forma interdigitações com o conjuntivo, que apresenta-se pouco celularizado. Vasos sanguíneos e linfáticos, de grande calibre e parede relativamente delgada, são proeminentes na porção ventral.



FIGURA 3 - Superfície dorsal do terço médio da língua de rato normal. A camada granulosa é bem desenvolvida, sendo proeminente na base das papilas filiformes. A camada superficial de queratina está recoberta por pequenos pontos, que correspondem a bactérias aderidas. 150X. H.E.

LÍNGUA - PORÇÃO POSTERIOR

O terço posterior da língua mostra na porção dorsal maior número de papilas fungiformes do que as regiões anterior e média, apresentando frequentemente bactérias aderidas na camada queratinizada. Entre as fibras musculares, há tecido glandular seroso, cuja quantidade é variável de acordo com a região de incidência do corte histológico, sendo evidentes as glândulas de Von Ebner na submucosa da papila valada. Na porção ventral o epitélio é mais delgado, e a camada de queratina mais uniforme, devido a ausência das estruturas especializadas presentes no dorso (Figura 4).

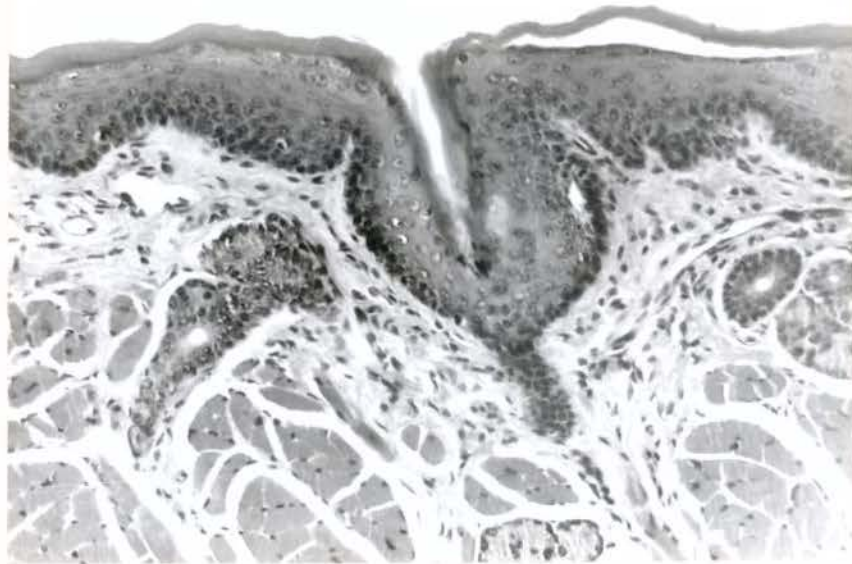


FIGURA 4 - Superfície lateral do terço posterior da língua de rato sialoadenectomizado. A camada de queratina é mais delgada e uniforme do que na região dorsal, e não há bactérias aderidas na superfície da queratina. A porção do epitélio que penetra o conjuntivo subjacente forma o ducto de glândula salivar menor, cujos ácinos podem ser observados no conjuntivo, próximo ao tecido muscular. 150X. H.E.

PALATO MOLE

O palato mole está recoberto por epitélio queratinizado, sendo bem distintas as camadas basal, espinhosa e granulosa. O epitélio forma pequenas interdigitações com o conjuntivo subjacente que constitui-se numa delgada faixa de tecido fibroso, contendo fibroblastos, mastócitos e alguns leucócitos. O córion abaixo da faixa de colágeno é formado de ácinos de glândulas mucosas, entremeadas de conjuntivo frouxo, e na superfície do epitélio encontra-se aberturas de ductos de glândulas salivares. Os ácinos mucosos coraram-se intensamente nos animais controle e experimental, e frequentemente observou-se, principalmente pelo PAS, mucina aderida à porção mais superficial da queratina (Figuras 5 e 6), e em alguns casos pode-se distinguir microrganismos aderidos a mucina.

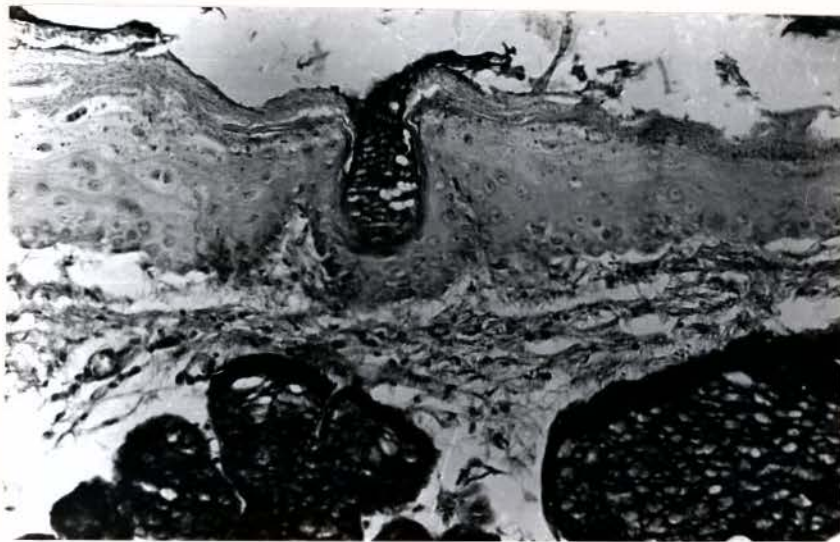


FIGURA 5 - Palato mole de rato com xerostomia, 14 semanas após a retirada das glândulas salivares maiores. As estruturas escuras no conjuntivo correspondem a ácidos mucosos. No tecido epitelial observa-se um ducto contendo mucina. 150X. H.E.

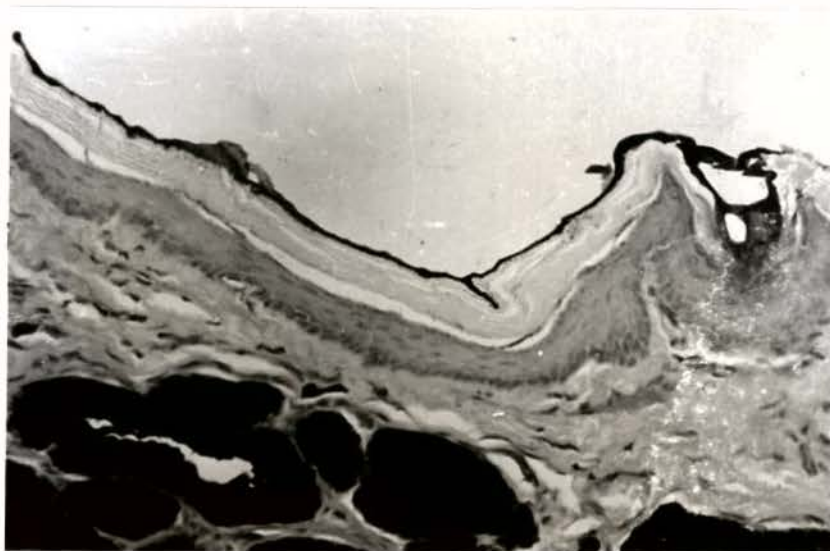


FIGURA 6 - Palato mole de rato com xerostomia, 14 semanas após a retirada das glândulas salivares maiores. O conjuntivo é rico em ácidos mucosos, e a superfície da queratina está recoberta por camada de mucina. P.A.S. 80X.

PALATO DURO

O palato duro de rato está recoberto por epitélio escamoso estratificado queratinizado. A camada granulosa é evidente e a queratina frequentemente apresenta-se separada do restante do epitélio. As rafeles do palato aparecem no corte histológico como projeções em forma de dedo de luva, sendo que apenas nestas regiões a queratina está firmemente aderida a camada granulosa. A interface epitélio-conjuntivo pode ser retilínea ou apresentar interdigitações. Nas interdigitações as fibras do conjuntivo são mais delgadas e a densidade celular é maior, o mesmo ocorrendo nas áreas das rafeles. Abaixo da camada mais densa de colágeno, o conjuntivo apresenta células adiposas, mastócitos, vasos, feixes nervosos e mais internamente o periósteeo.

GENGIVA

A gengiva da face mesial do 1º molar inferior direito é formada por epitélio escamoso estratificado, com exceção da porção que forma a junção dento-gengival. Entre as células do epitélio juncional há grande quantidade de neutrófilos, e o córion apresenta evidente infiltrado inflamatório, com predominância de neutrófilos. Na papila interdental o epitélio não é queratinizado, emitindo projeções para o córion subjacente que geralmente apresenta-se inflamado e ricamente vascularizado.

QUANTIFICAÇÃO DE QUERATINA

Os aspectos morfológicos do tecido epitelial das superfícies dorsal e ventral da língua foram semelhantes nos dois grupos estudados. A quantificação da camada epitelial e de queratina também não mostraram diferenças significativas (Tabela 2).

TABELA 2 - Médias e desvio padrão da área do epitélio e queratina das porções dorsal e ventral da língua de ratos normais e sialoadenectomizados. As medidas foram feitas com auxílio de microscópio de câmara clara, OBJ 10x e planímetro polar Zeiss. Os resultados estão expressos em mm^2 n = 10. Através do Teste T não se observou diferenças estatísticas entre os grupos estudados.

REGIÃO	EPITELIO	QUERATINA	TOTAL
PORÇÃO DORSAL (N)	190.90 + 49.66	98.48 + 44.75	289.38 + 86.75
DA LÍNGUA (S)	175.28 + 23.76	103.86 + 28.91	279.14 + 49.86
PORÇÃO VENTRAL (N)	151.78 + 22.73	45.32 + 15.16	197.11 + 35.58
DA LÍNGUA (S)	123.95 + 16.19	44.91 + 11.10	168.86 + 25.06

N = NORMAL

S = SIALOADENECTOMIZADO

CÁRIE DENTAL

Os molares superiores dos animais controles praticamente não apresentaram cárie, enquanto que 16 cáries superficiais foram encontrados nos ratos sialoadenectomizados. Na mandíbula, os animais controles apresentaram 17 cáries superficiais e 3 médias, e no grupo experimental o índice de cárie aumentou cerca de seis vezes, sendo frequentes a destruição de toda a coroa (Tabela 3). A face mais atingida pela cárie foi a oclusal, não havendo alterações nas outras superfícies sem o envolvimento desta (Figuras. 7, 8, 9 e 10).

TABELA 3 - Índice de cárie dental em ratos normais e sialoadenectomizados durante 60 dias. Houve aumento de cárie nos dentes superiores e inferiores dos animais experimental, sendo que na mandíbula os valores foram bem mais elevados do que na maxila (n = 10).

ANIMAIS		1° M	2° M	3° M	TOTAL
MAXILA	CONTROLE	0.5	1.0	zero	1.5
	SIALOADENECTOMIZADOS	1.5	4.0	2.5	8.0
MANDÍBULA	CONTROLE	3.5	7.5	0.5	11.5
	SIALOADENECTOMIZADOS	26.0	31.5	11.0	68.0



FIGURAS 7, 8, 9 e 10 - A figura 7, mostra molares inferiores de rato normal. Nas figuras 8, 9 e 10, observa-se cárie dental em diferentes graus de severidade nos animais sialoadenectomizados. 6.5X.

DOENÇA PERIODONTAL

O fio de algodão colocado na região cervical dos primeiros molares inferiores, provocou acúmulo de placa dental, restos alimentares e alterações gengivais semelhantes nos ratos normais e xerostômicos. Na face vestibular, a gengiva ficou hiperplásica, cobrindo a maior parte do fio de algodão, enquanto que na lingual a margem gengival estava bem abaixo do nível normal. O terço cervical da raiz estava exposto, com extenso envolvimento do septo interdental. Nos molares esquerdo, usados como controle, o nível ósseo foi semelhante nos ratos normais e com xerostomia. O irritante gengival causou acentuada perda óssea, entretanto não houve diferenças significativas entre os dois grupos estudados (Tabela 4) e (Figuras. 11 e 12).



FIGURA 11 - Mandíbulas de rato normal para ilustrar a intensa perda óssea provocada pelo irritante gengival (fio de algodão) colocado na região cervical do 1º molar inferior durante 60 dias.

- A - Sem irritante gengival
- B - Com irritante gengival

TABELA 4.- Distância em mm da junção amelo-cementária à crista óssea de 1ª molares inferiores com e sem irritante gengival de ratos normais e xerostômicos. N = 10

ANIMAIS	SEM IRRITANTE GENGIVAL MM	COM IRRITANTE GENGIVAL MM
CONTROLE	0,8534 ± 0,3450	1,4383 ± 0,2290
SI ALOADENECTOMIZADOS	0,9010 ± 0,3230	1,3140 ± 0,2970

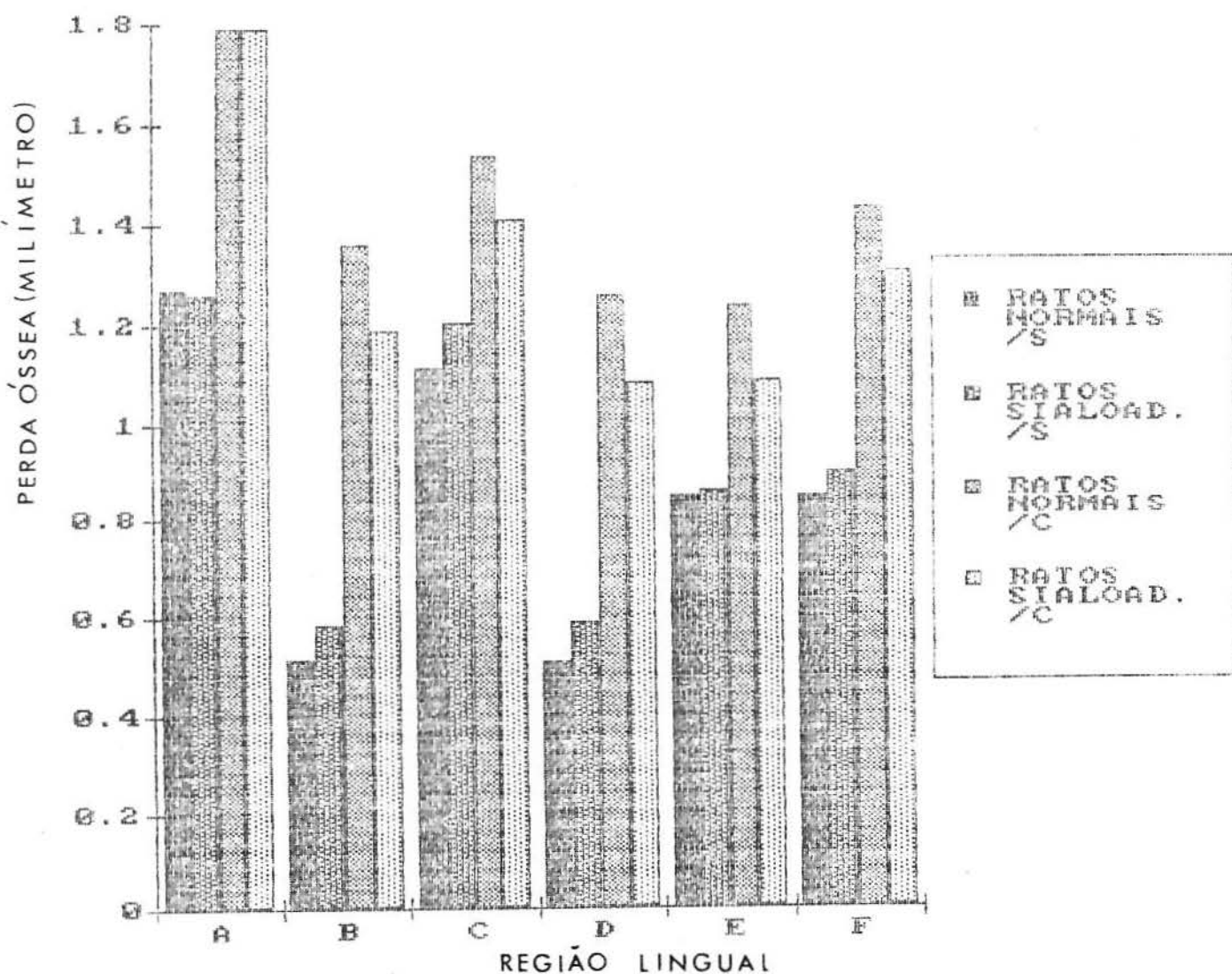


FIGURA 12 - Distância em mm da junção amelo-cementária à crista óssea da superfície lingual dos 1ª molares inferiores de ratos normais e sialoadenectomizados com e sem irritante gengival. O irritante gengival aumentou intensamente a perda óssea, entretanto não houve diferenças entre ratos normais e com xerostomia. No direito usado como controle. N = 10

PLACA DENTAL

Nos dentes molares, tanto superiores quanto inferiores, foram quantificados aderência de placa bacteriana nas faces vestibular e lingual de ratos normais e sialoadenectomizados. Em ambos os grupos não foram observados diferenças significativas (Tabela 5). Quanto ao número de impacção de resíduos e pêlos nos espaços interproximais, os animais sialoadenectomizados apresentou número bem superior do que o grupo controle (Tabela 6). Nos incisivos inferiores bem como os superiores de ambos os grupos foram desenhados área de aderência de placa bacteriana na região distal, sendo que o grupo controle apresentou uma placa compacta e bastante homogênea, já o grupo experimental apresentaram ponto isolados de placa aderida à superfície do dente em menor quantidade (Figura 13).

Vinte dias após a sialoadenectomia, houve perda de grande parte da placa dental destas superfícies (Figuras. 14, 15 e 16).

Através da microscopia eletrônica observou-se que as bactérias não estão em contato direto com a superfície do cimento, indicando a existência de uma película não preservado na metodologia usada. A placa dental apresentou duas camadas distintas, sendo a mais interna formada por bactérias com acentuadas alterações morfológicas, e a mais externa por bactérias íntegras e mais próximas entre si (Figuras. 17, 18 e 19). Vinte dias após a sialoadenectomia, bactérias foram observadas irregularmente e isoladamente na superfície do cimento (Figura 20).

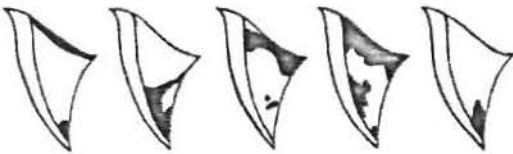
INCISIVOS SUPERIORES

ESQUERDO
NORMAIS

DIREITO



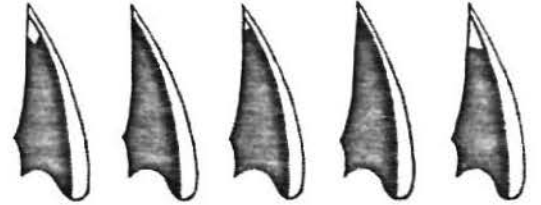
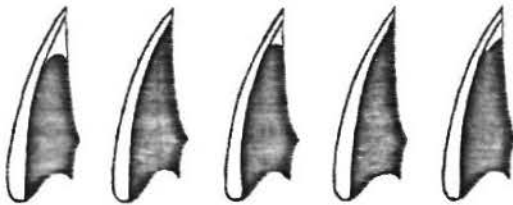
SIALOADENECTOMIZADOS



INCISIVOS INFERIORES

ESQUERDO
NORMAIS

DIREITO



SIALOADENECTOMIZADOS



Figura 13 - Desenho esquemático de incisivos inferiores de ratos normais e sialoadenectomizados, mostrando acúmulo de placa bacteriana aderido na face distal.

TABELA 5 - Quantificação de placa bacteriana nos dentes molares superiores e inferiores nas faces vestibular e lingual em ratos normais e após 120 dias de sialoadenectomia, baseado no índice de Quigley & Hein (1962) modificado.

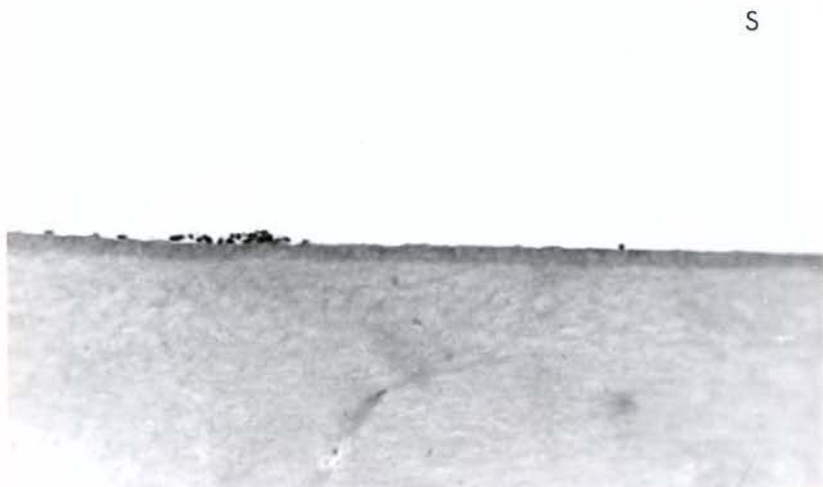
RATO N°	NORMAIS	SI ALOADENECTOMIZADOS
1	1,83	1,83
2	1,58	1,92
3	1,87	1,50
4	1,50	2,33
5	1,93	2,04
MÉDIA/DESVIO PADRÃO	1,74 ± 0,19	1,92 ± 0,30

TABELA 6 - Número de espaços interproximais de ratos normais e sialoadenectomizados com impacção de resíduos e pelos.

RATOS	NORMAIS	SI ALOADENECTOMIZADOS
1	2	4
2	2	8
3	0	6
4	0	4
5	2	4
MÉDIA/DESVIO PADRÃO	1,2 ± 1,1	5,2 ± 1,78



FIGURA 14 - Superfície distal de incisivos inferiores de rato normal (N) e sialodectomizado (S) durante 20 dias. A placa dental corada com fucsina básica a 2% é bem evidente apenas no incisivo de rato normal. 10X.



FIGURAS 15 e 16 - Superfície distal de incisivos inferiores de ra-
tos normais (N) e sialoadenectomizados (S) du-
rante 20 dias. Nos normais (Figura 15) observa
camada espessa de placa dental enquanto que no
sialoadenectomizado (Figura 16) observa poucas
bactérias aderidas ao cimento. Corte semi-fino
corado com azul de toluidina. 1000 X.
D - Dentina
C - Cimento

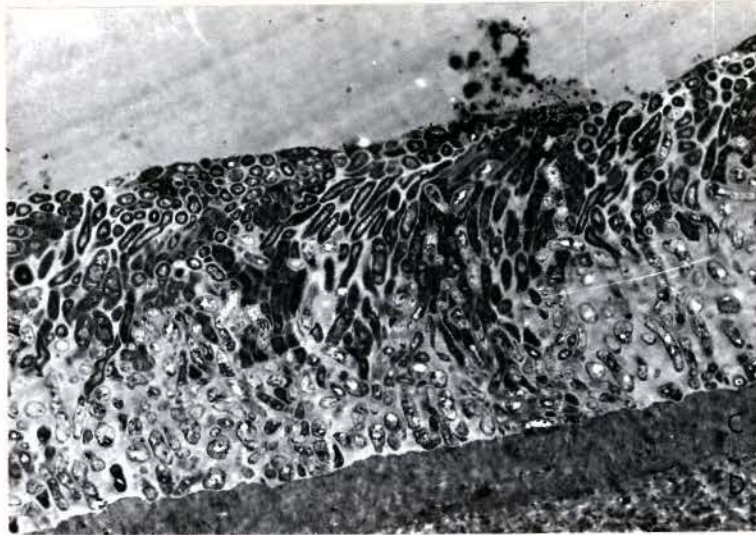


FIGURA 17 - Microscopia eletrônica da placa dental de incisivo inferior de rato normal, aderida à superfície do cimento. Na camada mais interna da placa dental as bactérias mostram sinais de vacuolização e a substância intercelular é mais abundante, enquanto que na porção mais externa as bactérias estão mais próximas e coradas mais intensamente. A predominância é de formas cocóides e bastonetes. 2000 X.
D - Dentina
C - Cimento

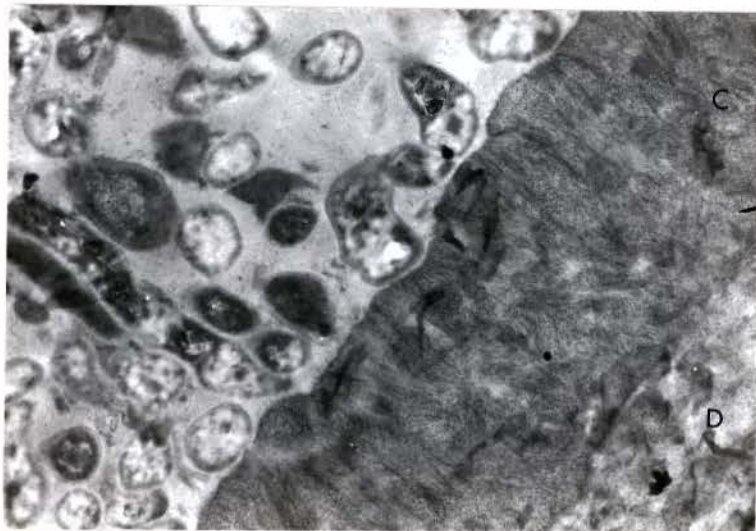


FIGURA 18 - Aumento maior da figura anterior mostrando as bactérias próximas a superfície do cimento. As bactérias apresentam-se pouco coradas, sugerindo intensa perda de material citoplasmático. O cimento não mostra alterações. 10.000 X.

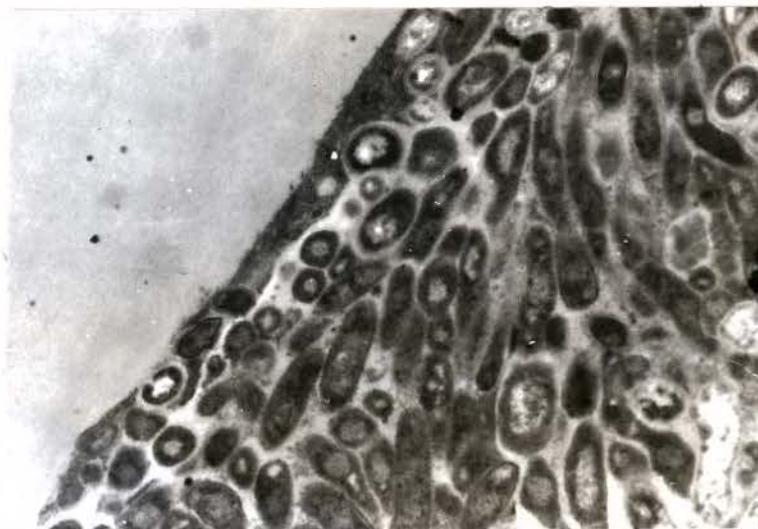


FIGURA 19 - Microscopia eletrônica mostrando a camada mais externa da placa dental. As bactérias estão próximas umas as outras, e estão bem coradas em relação as presentes na região interna. Na superfície observa-se material amorfo recobrindo as bactérias, provavelmente de origem salivar. 4.000 X.

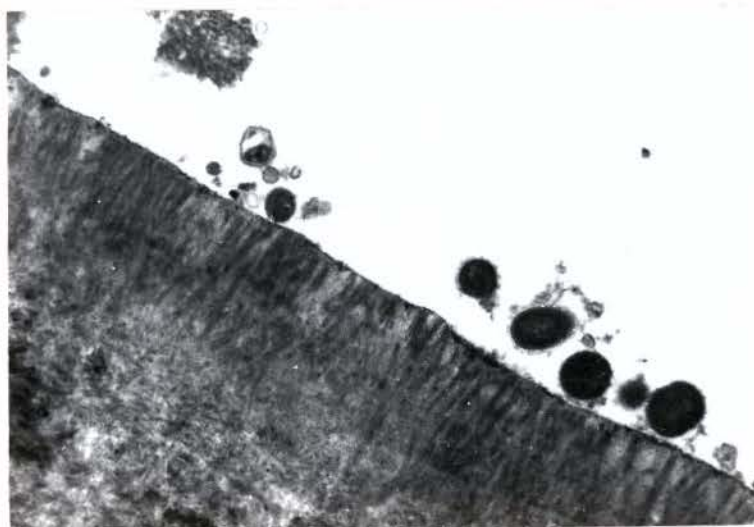


FIGURA 20 - Microscopia eletrônica da superfície do cimento de rato sialoadenectomizado. O cimento está íntegro, e não se observa a placa dental. Algumas bactérias estão presentes, além de traços de material amorfo distribuído irregularmente. 8000 X.

Para melhor estudar o mecanismo de destruição da placa dental dos incisivos inferiores de rato os experimentos adicionais, descritos em material e métodos, foram realizados. A partir do 4º dia, após a xerostomia era nítida a perda de material da placa dental, e no 6º e 7º dias o aspecto era semelhante aos casos de xerostomia com 20 dias. Quando os animais foram alimentados com ração pulverizada, houve pequeno aumento da quantidade de placa nos animais normais, principalmente na superfície mesial, com formação de grumos oriundos de restos alimentares. Nos ratos sialoadenectomizados, a perda de placa dental foi semelhante aos tratados com ração normal, exceto pela presença de pequenos grumos de ração (Figura 21).

Quando os ratos foram deixados em jejum, os resultados nos animais normais e sialoadenectomizados foram semelhantes aos descritos anteriormente. Deve-se ressaltar que quando do estudo da placa dental, observou-se que a superfície da mucosa oral também se corava pela fucsina, e especialmente na pré-maxila era nítido o aumento de coloração nos animais sialoadenectomizados.

QUANTIFICAÇÃO DE BACTÉRIAS

Os ratos controle e com xerostomia não apresentaram diferenças quanto ao número de bactérias aderidas à superfície das células epiteliais coletadas da porção dorsal da língua (Figura 22). Deve-se ressaltar que num mesmo animal a variabilidade foi alta, o que provavelmente dificultou a detecção de possíveis diferenças entre os grupos.

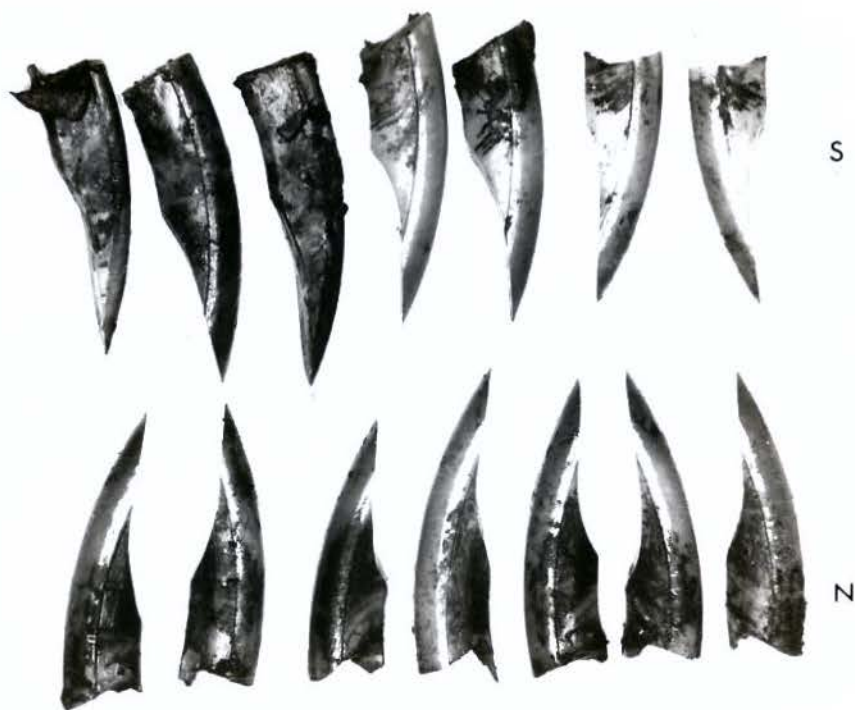


FIGURA 21 - Incisivos de ratos normais e sialoadenectomizados, sacrificados 1 a 7 dias após a retirada das glândulas salivares maiores, e alimentados com ração pulverizada e misturada com água. Nos ratos normais (N) a placa dental, evidenciada pela fucsina básica, pode ser observada em todos os dentes, enquanto que nos sialoadenectomizados (S), a partir do 4° dia, é evidente a diminuição da placa. 4X.

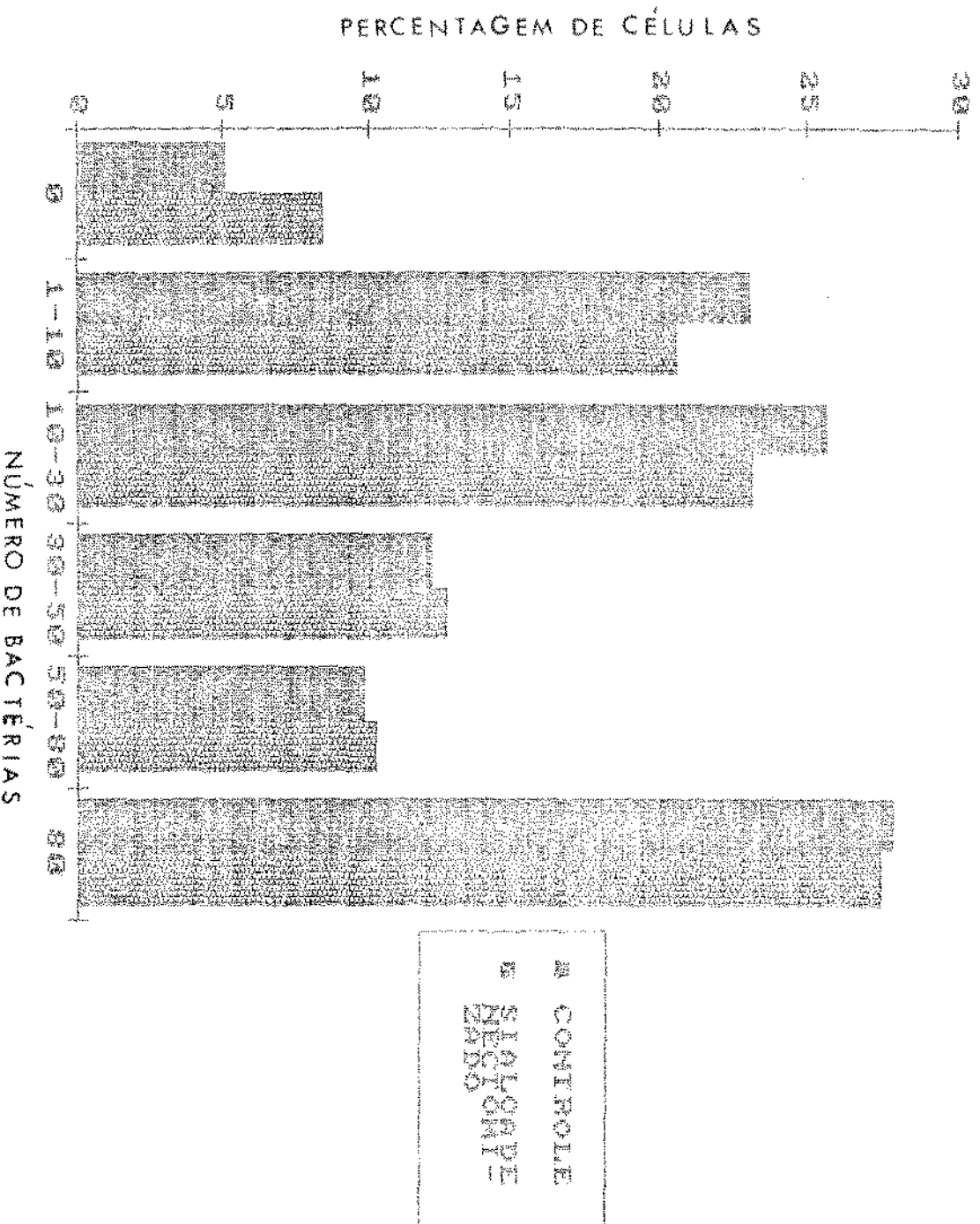


FIGURA 22 - Células epiteliais do dorso da língua de ratos normais e com xerostomia classificadas de acordo com a quantidade de bactérias aderidas a membrana celular. Os dados estão apresentados em percentagem e representam a média e desvio padrão de valores obtidos de 10 animais.

QUANTIFICAÇÃO DE SALIVA

A xerostomia provocada pela sialoadenectomia foi bastante acentuada, podendo-se observar clinicamente a mucosa ressecada e a alta viscosidade da saliva presente. A pilocarpina provocou aumento na quantidade de saliva nos animais controles e xerostômicos, sendo que os valores obtidos nos sialoadenectomizados foi cerca de 3x menor que nos normais (Tabela 7).

TABELA 7 - Quantificação de saliva em ratos normais e sialoadenectomizados no período de 10, 50 e 120 dias, antes e após a injeção de 8,0 mg/kg de peso corporal de pilocarpina.

DIAS	RATOS NORMAIS (N=5)		RATOS SIALOADENECTOMIZADOS (N=5)	
	SEM	COM PILOCARPINA (mg)	SEM	COM PILOCARPINA (mg)
10	17,71 ± 9,01	463,7 ± 117,3	5,8 ± 3,6	194,8 ± 52,4
50	21,5 ± 9,5	621,6 ± 85,9	4,2 ± 2,37	169,9 ± 23,8
120	29,9 ± 19,8	599,5 ± 166,3	4,8 ± 0,88	174,82 ± 24,5

DISCUSSÃO

A retirada cirúrgica das glândulas salivares maiores do rato, provocou acentuada xerostomia, facilmente observada clinicamente. Nos animais normais pode-se observar acúmulo de saliva na região sub-lingual, e a administração de pilocarpina permitiu a coleta de 2 a 3 ml de saliva, enquanto que nos sialoadenectomizados foi possível apenas umedecer pequenos círculos de papel de filtro colocados na região sub-lingual. Este umedecimento deve ter sido devido a mucina secretada pelas glândulas salivares menores.

Os animais xerostômicos bebiam água mais frequentemente que os normais, e os resultados mostram que o consumo de água realmente foi maior. Estes dados podem ser explicados pela maior necessidade de água, para compensar a diminuição do fluxo salivar, para a ingestão da ração oferecida na forma sólida. Em seres humanos os resultados são controversos, e segundo Austin & Steggerda (1936), os pacientes com xerostomia acentuada bebem água mais frequentemente, sem entretanto aumentar o consumo. Em cães, Montgomery (1931) também observou o não aumento do consumo de água, concluindo que as glândulas menores do cão são suficientes para manter a mucosa oral úmida. Os dados deste trabalho indicam o aumento no consumo de ração, sem correspondente ganho de peso dos animais sialoadenectomizados, em relação aos controles. Deve ser levado em consideração a possível influência das glândulas salivares no sistema endócrino, mas o assunto também é muito controvertido (Lima, 1978).

Macroscopicamente e microscopicamente não se verificou qualquer modificação da mucosa oral dos ratos estudados neste trabalho. Esta observação parece paradoxal, levando-se em consideração que os animais xerostômicos tinham diminuição acentuada da salivação. Apesar do consumo de água ter sido mais frequente, e em maior volume nos sialoadenectomizados, é pouco provável que a água substitua a saliva na manutenção da integridade da mucosa oral. Nos seres humanos a xerostomia tem sido associada a atrofia da mucosa oral (Wallace & Petrusneck,

1985), em particular do dorso da língua. Em vista disto, tentou-se verificar alterações quantitativas da camada de queratina da mucosa lingual, mas não se observou diferenças entre os grupos controle e experimental. Estes dados indicam que a mucosa oral de rato é bastante resistente, e que mesmo na ausência de saliva consegue manter seus padrões morfológicos. Deve-se considerar que a mucosa oral de rato é queratinizada, e provavelmente mais resistente que áreas da mucosa oral humana recoberta com paraqueratina. É possível que estas diferenças morfológicas tenham relação com a não ocorrência no rato de lesões orais comuns no homem, com afta, no rato e alta resistência destes animais à carcinomas bucais espontâneos ou provocados experimentalmente.

A quantificação de bactérias aderidas à superfície das células epiteliais do dorso da língua também não mostrou diferenças entre os dois grupos estudados. Pelo método usado é difícil a distinção entre bactérias aderidas ou simplesmente sobrepostas a membrana celular, além de não permitir a classificação das diversas espécies presentes. Gibbons Van & Houte (1975) descreveram a preferencial aderência de S. salivarius e S. sanguis às células epiteliais em relação à superfície dentária. Entretanto, neste trabalho o fator possivelmente mais relevante que dificultou a interpretação dos resultados e a detecção de possíveis diferenças, foi a alta variabilidade entre animais do mesmo grupo. Apesar destas dificuldades, Branchi e cols., (1981) verificaram por este método que o cloreto de cetil piridínio diminui o número de bactérias aderidas às células epiteliais de humanos. No homem, a xerostomia em tempos relativamente curtos pode causar o aparecimento de candidíase, indicando desequilíbrio da flora bucal, cuja normalidade é reestabelecida com a volta do fluxo salivar. Sabe-se que as bactérias orais são influenciadas pelas glicoproteínas salivares na aderência seletiva às superfícies do esmalte e mucosa oral (Koop e cols., 1987), e que a secreção das glândulas mucosas menores, preservadas neste estudo, são as principais secretoras destas substâncias. Seria interessante um estudo mais detalhado, usando-se métodos microbiológicos quantitativos e qualitativos,

para se determinar a modificação da flora bucal do rato, quando há diminuição do fluxo salivar e comparar estes resultados com o que ocorre nos seres humanos.

Como citado anteriormente, a interpretação dos resultados deste trabalho, deve ser levado em consideração que embora a remoção das glândulas salivares maiores tenha provocado acentuada xerostomia, as glândulas menores, que são essencialmente mucosas, continuaram presentes e produzindo muco. Sabe-se que a retirada unilateral da parótida, sublingual e submandibular provoca aumento de volume das glândulas restantes, e é provável, embora ainda não demonstrado, que após a sialoadenectomia das glândulas maiores ocorra maior atividade das menores. Em casos de aplasia das glândulas salivares em seres humanos, é comum a confirmação da presença de glândulas menores no lábio e palato, e da alta viscosidade da saliva (McDonald e cols., 1986), entretanto não tem sido feita menção da relação entre quantidade de mucina e as alterações das estruturas bucais. Como enfatizado por Green & Embery (1984), as propriedades químicas e biológicas das secreções das glândulas menores fazem-nas prováveis candidatos a importantes funções na fisiologia e patologia bucal.

Nas várias regiões da mucosa oral do rato, e em particular no palato mole, observou-se através do PAS camada de material mucóide com características semelhantes nos animais controle e sialoadenectomizados. No homem 8-10% da saliva total corresponde a contribuição das glândulas menores, cujo produto principal é a mucina. Segundo (Tabak e cols., 1982) a mucina é barreira efetiva contra bactérias e ressecamento da mucosa oral, controlando também parte da permeabilidade tecidual (Adams 1974, 1975), dificultando a penetração de agentes carcinogênicos Stormby & Wallenius (1964). Adams (1974) descreveu o aumento da permeabilidade do epitélio oral a corantes fluorescentes após a aplicação de agentes mucolíticos como neuraminidase e N-acetil cisteína, para melhor avaliar o papel da mucina na proteção da mucosa oral, assim como os efeitos da xerostomia, seria interessante desenvolver um modelo que permitisse associar a remoção das glândulas maiores com a diminuição na formação de

mucina pelas menores. Substâncias químicas poderiam ser usadas, mas a diminuição seria temporária e poderia ter efeitos colaterais na própria mucosa oral.

Nos seres humanos a xerostomia é acompanhada por maior incidência de cárie dental, que ocorre rapidamente e envolvendo a maioria dos dentes (Smith & Smith, 1977; McDonald, 1986). Em ratos, mesmo nas espécies mais resistentes a cárie, a sialoadenectomia também é acompanhada por alta incidência de cárie nos dentes molares, principalmente na face oclusal. Navia (1977), por exemplo, observou que animais controles apresentavam 8,0 lesões cariosas, a retirada das sublinguais aumentou o índice para 1,5; das submandibulares 5,6; das parótidas 12,7 e de todas 23,8. Nosso trabalho confirmou estes resultados, mostrando que os dentes inferiores foram mais comprometidos, provavelmente por favorecer a deposição de restos alimentares. Nos animais usados neste trabalho, a cárie atingiu preferencialmente a coroa dental, entretanto Bowen & Pearson (1985) do Centro de Cariologia de Rochester (USA), estudando a incidência de cárie em ratos sialoadenectomizados e infectados com Streptococcus mutans e A. viscosus enfatizaram o envolvimento da raiz, sugerindo como modelo para estudo de cárie radicular. O aumento drástico da cárie dental está associado a diminuição do fluxo salivar, mas outros fatores devem ser considerados, como maior retenção de alimento e maturação pós-eruptiva do esmalte.

Diferentemente do que ocorre com a cárie, poucos trabalhos descrevem o envolvimento do periodonto em casos de diminuição do fluxo salivar. Ito, Azuma & Mori (1975) associaram a ocorrência de gengivite em incisivos inferiores de ratos susceptíveis a maior acúmulo de placa dental a redução do fluxo salivar. Não observamos neste trabalho modificações na quantidade de placa dental nos dentes molares, enquanto que houve diminuição nos incisivos inferiores. Peyser e cols. (1977) provocaram redução do fluxo salivar em cobaias através de sulfato de atropina e verificaram diminuição significativa da placa dental nos dentes molares, concluindo que isto ocorreu devido a menor absorção de glicoproteínas salivares à superfície dental. Deve-se salientar que os molares de cobaias, assim como os incisivos de

rato, são de crescimento contínuo e podem ter formação de placa controlado por mecanismos não iguais aos dos demais dentes. Além da ação direta da saliva, outros fatores podem estar associados a desorganização da placa após a xerostomia em dentes de crescimento contínuo. Por outro lado, quando a doença periodontal foi provocada pela colocação de irritante gengival na cervical dos 1^{os} molares inferiores, não houve diferenças quantitativas na perda óssea entre animais controles e sialoadenectomizados. Embora a xerostomia fosse evidente, deve-se considerar mais uma vez a presença de mucina, e no caso da doença periodontal o fluido gengival também deve ter papel relevante. Não encontramos trabalhos na literatura relacionando diminuição do fluxo salivar com modificações na formação do fluido gengival.

A placa dental presente nos incisivos inferiores de rato pode ser um modelo interessante para se estudar formação e degradação da placa dental. As características desta placa são provavelmente diferentes das dos dentes sem erupção contínua, como por exemplo sua espessura, que é relativamente constante. Esta placa deve ser lábil, visto que as bactérias estão frouxamente associados através da matriz intercelular, e 4-6 dias após a sialoadenectomia há intensa desintegração. Os mecanismos associados a desorganização da placa ainda não são conhecidos. Fatores mecânicos, como maior atrito durante o consumo de ração, podem ser relevantes, embora usando-se ração pulverizada e dissolvida na água tenha fornecido os mesmos resultados. O jejum também não evitou a remoção da placa dental. Modificações no metabolismo da placa, devido o ressecamento da superfície do cimento também devem ser considerados e abordados com metodologia adequada. Simonsson e cols. (1987) sugeriram que forças de Van der Waal e eletrostáticas estão envolvidas na aderência inicial da bactéria a superfície do dente, entretanto há participação de múltiplos fatores. Os mesmos autores concluíram que hábitos dietéticos, fluxo salivar, áreas dento-gengivais retentivas, fatores antimicrobianos e película adquirida, isoladamente não estão relacionados com maior ou menor formação de placa. Schemehorn e cols., (1984) sugeriram o incisivo de rato como modelo para o estudo da formação da placa de esmalte "in vivo", e

a placa da superfície do cimento é adequada principalmente para estudos morfológicos, visto que é preservado após a descalcificação. Pela facilidade técnica de se trabalhar com a placa dental dos incisivos de rato, e pelas peculiaridades inerentes deste dente, esta placa dental nos parece um bom modelo para o estudo da interação bactéria-dente, e certamente o seu estudo poderá contribuir para o melhor conhecimento da biologia da placa dental.

R E S U M O

Os efeitos da xerostomia, provocada pela retirada cirúrgica das glândulas salivares maiores, nas estruturas bucais foram estudados em ratos albinos Wistar. Houve significativo aumento de cárie dental, sendo que nos dentes inferiores os índices foram bem mais elevados do que nos superiores. Não se observou alterações da mucosa bucal, ou modificações na evolução da doença periodontal provocada pela colocação de irritante gengival na cervical dos primeiros molares inferiores. Após a sialcadenectomia houve perda de grande parte da placa dental dos incisivos inferiores, o mesmo ocorrendo quando os animais xerostômicos foram alimentados com ração pulverizada ou deixados em jejum. Estes resultados sugerem que as secreções das glândulas salivares maiores não são essenciais para a integridade da mucosa oral do rato, e que o incisivo inferior é interessante modelo para o estudo da formação e degradação da placa dental.

S U M M A R Y

The effects of xerostomia, provoked by removal of the major salivary glands, were studied in Wistar albino rats. Sialodenectomy resulted in an increase in dental caries, particularly in the lower molars. No alterations in the oral mucosa were observed. The development of periodontal disease caused by the placement of gingival irritant in the cervical region of the first lower molars was unchanged. Sialodenectomy was followed by loss of dental plaque from the lower incisor, and this was not modified by fasting or feeding powdery chow. It is suggested that the major salivary gland secretions are not essential for the integrity of the oral mucosa of the rat, and that the lower incisor is an interesting model to study dental plaque formation and degradation.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ADAMS, D. The effect of saliva on the penetration of fluorescent dyes into the oral mucosa of the rat and rabbit. Archs Oral Biol., 19: 505-509, 1974.
- ADAMS, D. The mucus barrier and absorption through the oral mucosa. J. Dent. Res., (Spec Issue): B19-B26, 1975.
- ARNOLD, R. R.; BREWER, M. & GAUTHIER, J. J. Bactericidal activity of human lactoferrin: Sensitivity of a variety of microorganisms. Infect. Immun., 28: 893-898, 1980.
- AUSTIN, V. T. & STEGGERDA, F. R. Congenital dysfunction of the salivary glands with observations on the physiology of thirst. Illinois Med. J., 69: 124-127, 1936.
- BABU, J. P.; BEACHEY, E. H.; HASTY, D. L. & SIMPSON, W. A. Isolation and characterization of a 60 Kilodalton salivary glycoprotein with agglutinating activity against strains of *Streptococcus mutans*. Infect. Immun., 51: 405-413, 1986.
- 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., 34: 889-892, 1955.
- BOWEN, W. H. & PEARSON, S. Rodent model to study root surface caries and periodontal disease. IADR/AADR. Abstracts, 293- , 1985.
- BRANCHI, A.; ANDRADE, A. M. & PACCA, C. A. D. Revista Brasileira Odontologia n° 3 maio/junho, 1981.
- CHEYNE, V. D. A description of salivary glands of the rat and a procedure for their extirpation. J. Dent. Res., 18: 457-468, 1939.

- DAWES, C. & WOOD, C. M. The contribution of oral minor mucous gland secretions to the volume of whole saliva in man. Archs. Oral Biol., 18: 337-342, 1973.
- DAWES, C. Physiological factors affecting salivary flow rate, oral sugar clearance, and the sensation of dry mouth in man. J. Dent. Res., 66: 648-653, 1987.
- DOKU, H. C. The thromboplastic activity of human saliva. J. Dent. Res., 39: 1210-1214, 1960.
- FERRAZ, C. Dinâmica da migração de leucócitos na cavidade bucal de humanos. (Tese de Mestrado) - FOP - UNICAMP 81 pg 1987.
- FIELD, R. B.; DROMY, R. & HAND, A. R. Regulation of secretion of enzymes from Von Ebner's Gland of rat tongue, J. Dent. Res., 66: 586-587, 1987.
- FOX, P. C.; VAN DER VEN, P. F.; SONIES, B. C.; WEIFFENBACH, J. M. & BAUM, B. J. Xerostomia: Evaluation of a symptom with increasing significance J. Am. Dent. Assoc., 110: 519-525, 1985.
- GALILI, D.; MALLER, O. & BRIGHTMAN, V. Effects of drugs desalivation on feeding and taste preferences in the rat. Arch. Oral Biol., 23: 459-464, 1978.
- GARRET, J. R. Changing attitudes on salivary secretion - A short history on spit. Proc. R. Soc. Med., 68: 563-560, 1975.
- GARRET, J. R. The proper role of nerves in salivary secretion. J. Dent. Res. 66: 387-397, 1987.
- GIBBONS, R. J. & VAN HOUTE, J. Bacterial adherence in oral microbial ecology. Ann. Rev. Microbiol., 29: 19-44, 1975.

- GREEN, D. R. J. & EMBERY, G. Partial chemical characterization and biological activities of sulphated glycoproteins isolated from in vivo Pilocarpine-stimulated secretions of rat minor salivary glands. Archs Oral Biol., 29: 859-863, 1984.
- HALDI, J. & WINFREY, W. Effect of sialoadenectomy on weight gain and body composition of albino rats. J. Dent. Res., 42: 11-15, 1963.
- HAMOSH, M. & BURNS, W. A. Lipolytic activity of human lingual glands (Ebner). Lab. Invest., 37: 603-608, 1977.
- HEINEMAN, H. S. & GREENBERG, M. S. Cell protective effect of human saliva specific for herpes simplex virus. Archs Oral Biol., 25: 257-261, 1981.
- HENKIN, R. I.; TALA, N.; LARSON, A. L. & MATTERN, C. F. T. Abnormalities of taste and smell in Sjogren's Syndrome. Ann. Int. Med., 76: 375-383, 1972.
- HERP, A.; WU, A. M. & MOSCHERA, J. Current concepts of the structure and nature of mammalian salivary mucous glycoproteins. Molec. & Cell Biochem., 23: 27-44, 1979.
- HUTSON, J. M.; NIALL, M.; EVANS, D. & FOWLER, R. Effect of salivary glands on wound contraction in mice. Nature, 279: 793-795, 1979.
- ITO, N.; AZUMA, Y. & MORI, M. Experimental gingivitis development of a new strain of plaque-susceptible rat. J. Dent. Res., 54: 425- , 1975.
- JENKINS, G. N. The physiology and biochemistry of the mouth. Blackwell Scientific Publications. p.501-541. London, 1978.

- JOHSON, I. H. Effects of local irritation and dextran sulphate administration on the periodontium of the rat. J. Periodont. Res., 10: 332-345, 1975.
- KENNEY, E. B.; KRAAL, J. H.; SAXE, S. R. & JONES, J. Effect of cigarette smoke on human oral polymorphonuclear leukocytes. J. Periodont. Res., 12: 227-234, 1977.
- KOOP, H. M.; BENZ, V.; AMERONGEN, A. V. N.; ROUKEMA, P. A. & GRAAF, J. Influence of human whole saliva on bacterial aggregation. J. Dent. Res., 66: 613-615, 1987.
- LIMA, J. E. O. Influência da remoção das glândulas salivares maiores sobre o ganho de peso corporal e o desenvolvimento ósseo do rato. (*Rattus norvegicus*, albinus linhagem Wistar). Tese de doutorado 72 pags. Bauru - 1978.
- LUNDBLAD, R. K. & PURYEAR, G. M. Human salivary coagulant activity: the stimulation by chymotrypsin. Arch. Oral Biol., 16: 985-988, 1971.
- MANDEL, I. D. The function of saliva. J. Dent. Res., 66: (Spec Iss); 623-627, 1987.
- MARTINELLI, C. Homoglycan and heteroglycans in dental germs of newborn rats from sialoadenectomized dams. Rev. Fac. Odont. Araçatuba, 5: 5-15, 1976.
- MATHEUS, G. & MARTINELLI, C. Processo de reparo de fratura ósseas em ratos parotidectomizados I. Estudo morfológico. Rev. Fac. Odont. Araçatuba, 3: 219-230, 1974.
- MATHEUS, G. & MARTINELLI, C. Processo de reparo de fratura óssea em ratos parotidectomizados II. Estudo histoquímico. Arq. Cent. Est. Cur. Odont., 11: 163-193, 1974.

- McDONALD, F. G.; MANTAS, J.; McEWEN, C. G. & FERGUSON, M. N. Salivary gland aplasia: an ectodermal disorder? J. Oral Path., 15: 115-117, 1986.
- McNABB, P. C. & TOMASI, T. B. Host defense mechanisms at mucosal surfaces. Ann. Rev. Microbiol., 35: 477-496, 1981.
- MENAKER, L. Experimentação em cáries. In: MENAKER, L.; MORHART, R. E. & NAVIA, J. M. Cáries Dentárias - Bases Biológicas. Traduzido por Flávio Fava de Moraes e cols. Rio de Janeiro, Guanabara Koogan, 1984. p. 436-449.
- MICHALEK M. S.; McGHEE, J. R.; MESTECKY, J.; ARNOLD, R. R. & BOZZO, L. Ingestion of *Streptococcus mutans* induces secretory immunoglobulin A and caries immunity. Science, 192: 1238-1240, 1976.
- MONTGOMERY, M. F. Am. J. of Physiol., 96: 36, 1931 apud AUSTIN, V. T. & STEGGERDA, F. R. Congenital dysfunction of the salivary glands with observations on the physiology of thirst. Illinois Med. J., 69: 124-127, 1936.
- MUHLER, J. C. & SHAFER, W. G. Experimental dental caries II. Effect of desalivation on dental caries and castration and desalivation on fluorine storage in the rat. J. Dent. Res., 33: 346, 1954.
- NANDA, R. & CATALANOTTO, F. A. Long terms effects of surgical desalivation upon taste acuity, fluid intake and taste buds in the rate. J. Dent. Res., 01: 69-76, 1981.
- NAVIA, J. M. The oral environment in experimental animals. Saliva and Salivary Glands in animal models in dental research. Edit. The University of Alabama Press, 226-254, 1977.

- NEGUS, V. E. The function of mucus. Acta Otolaryng. Stockh., 56: 204-214, 1963.
- NEGUS, V. E. Mucus. Proc. Roy. Soc. Med., 60: 75-77, 1967.
- OLSEN, P. S.; POULSEN, S. S.; KIRKEGAARD, P. & NEXO, E. Role of submandibular saliva and epidermal growth factor in gastric cytoprotections Gastroenterol., 87: 103-108, 1984.
- PELLIGRINOTTI, I. L. Análise comparativa das atividades da lacta todesidrogenase (LDH) e creatinafosfoquinase (CPK) no soro e na saliva de indivíduos treinados em (atletismo, futebol e voleibol) e não treinados, submetidos ao teste de Cooper. Tese de mestrado, 81 pags. FOP - UNICAMP - 1987.
- PEYSER, Y. M.; BRAYER, L.; PITAR, A. & GEDALIA, I. Plaque accumulation in guinea pigs of reduced saliva flow with and without sucrose administration. J. Dent. Res., 56: 1172, 1977.
- PLAGGE, J. C. The vital importance of salivary glands to newborn rats. Am. J. Physiol., 61: 612-620, 1938.
- QUIGLEY, G. A. & HEIN, J. W. Comparative cleaning efficiency of manual and power brushing. Journal of the American Dental Association, 65: 26-29, 1962.
- ROVELSTAD, G. H. Polymorphonuclear function in a human periodontal disease. J. Amer. Dent. Assoc., 68: 364-373, 1964.
- SAVAGE, D. C. Factors involved in the colonization of the gut epithelial surface. Am. J. Clinical Nutr., 31: 131-135, 1978.
- SCHEMEHORN, B. R.; McDONALD, J. L.; STOOKEY, G. K. & PARK, K. K. An incisor plaque model in rats. J. Dent. Res. 63: 32-36, 1984.

- SCULLY, C. M. Transport and function of polymorphonuclear leukocytes in crevicular fluid. In: borderland between caries and periodontal disease II. Eds. Lehner, T. & Gimasoni, G. Academic Press., pgs. 69-81, London, 1980.
- SHAFFER, W. G.; HINE, M. K. & LEVY, B. M. A textbook of oral pathology. W. B. Saunders Company - Philadelphia, 1974.
- SHANNON, I. L. & CHAUNCEY, H. H. A parotid fluid collection device with improved stability characteristics. J. Oral Therap. Pharmacol., 4: 93-97, 1967.
- SHATZMAN, A. R. & HENKIN, R. I. Gustin concentration changes relative to salivary zinc and taste in humans. Proc. Natl. Acad. Sci., USA. 78: 3867-3871, 1981.
- SHAW, J. H. & WOLLMAN, D. H. The influence of sialoadenectomy in rats on food and water consumption. J. Dent. Res. 37: 805-810, 1958.
- SIMONSSON, T.; RONSTROM, A.; RUNDEGREEN, J. & BIRKHED, D. Rate of plaque formation some clinical and biochemical characteristics of "heavy" and "light" plaque formers. Scand. J. Dent. Res., 95: 97-103, 1987.
- SMITH, N. J. D. & SMITH, P. B. Congenital absence of major salivary glands. Brit. Dent. J., 142: 259-260, 1977.
- SPEIRS, R. L. Secretion of human lip mucous glands and parotid glands in response to gustatory stimuli and chewing. Arch. Oral Biol., 29: 945-948, 1984.
- SPORN, M. B.; ROBERTS, A. B.; SHULL, J. H.; SMITH, J. M.; WARD, J. M. & SOCEK, J. Polypeptide transforming growth factors isolated from bovine sources and used for wound healing in vivo. Science, 219: 1329-1331, 1985.

- STARKEY, R. H. & ORTH, D. Radioimmunoassay of human epidermal growth factor (urogastrone). Clin. Endocrinol. Metab., 45: 1144-1153, 1977.
- STORMBY, N. G. & WALLENIUS, K. Effect of reduced salivation on oral tumor induction in hamsters by 9,10-dimethyl-1,2-benzin-thracene. Odontologists Rev., 13: 186-209, 1964.
- SUDDICK, R. P. & DOWD, F. J. Mechanism of secretion of saliva in: The Biological Basis of Dental Caries, L. Menaker, Ed., Hagerstown: Harper and Row, pp. 64-112, 1980.
- TABAK, L. A.; LEVINE, M. J. & STINSON, M. W. Evidence for specific binding of salivary mucin to *Streptococcus sanguis*. AADR ABS. 89. J. Dent. Res., 1980.
- TABAK, L. A.; LEVINE, M. J.; MANDEL, I. D. & ELLISON, S. A. Role of salivary mucins in the protection of the oral cavity. J. Oral Pathol., 11: 1-7, 1982.
- TAKAI, N.; SHINOHARA, M.; YOSHIDA, Y.; MORI, M. & KAKUDO, Y. Studies on saliva in Odu plaque-susceptible rats having experimental gingivitis. Journal of Periodontal Research., 20: 317-320, 1985.
- TENOVUO, J.; MANSSON-RAHEMTULLA, B.; PRUITT, K. M. & ARNOLD, R. R. Inhibition of dental plaque acid production by the salivary lactoperoxidase system. Infect. Immun., 34: 208-214, 1981.
- TENOVUO, J.; PRUITT, K. M. & THOMAS, E. L. Peroxidase antimicrobial system of human saliva: hypothiocyanite levels in resting and stimulated saliva. J. Dent. Res. 61: 982-985, 1982.

- TENOVUO, J.; GRATIN, E.; LEHTONEN, O. P.; HYYPPA, T.; KARHUVAARA, L. & VILJA, P. Antimicrobial factors in saliva: Ontogeny and relation to oral health. J. Dent. Res., 66: 475-479, 1987.
- WALLACE, M. C. & PETRUSNECK, F. The dental implications of xerostomia. J. Alabama Dent. Assoc., 69: 44-47, 1985.
- WARSHAWSKY, H. & MOORE, G. A technique for the fixation and descalcification of rat incisors for electron microscopy. J. Histochem. & Cytochem. 15: 542-549, 1967.
- WEISBERG, D.; NELSON, C. T. & BOYLE, P. E. The development of caries in the teeth of albino rats following extirpation of salivary glands. Americ. J. Orthod. Oral Surg., 26: 88- , 1940.

APÊNDICE

Tabela 1 - Dados da área do epitélio e queratina das porções dorsal e ventral da língua de ratos normais e sialoadenectomizados.

Média e Desvio-Padrão da espessura do epitélio e queratina da porção dorsal da língua de ratos normais.

Nº de Lâmina	EPI TÉLIO	QUERATINA	TOTAL
1	221,2	65,4	286,6
2	224,6	95,86	320,46
3	169,86	79,8	249,66
4	180,6	124,66	305,26
5	115,3	71,0	186,3
6	183,4	73,5	256,9
7	298,06	203,8	501,86
8	184,06	136,46	320,52
9	188,93	64,4	253,33
10	143,0	69,93	212,93
	190,901 ± 49,6683	98,481 ± 44,7536	289,38 ± 86,75

Média e Desvio-Padrão da espessura do epitélio e queratina da porção dorsal da língua de ratos experimentais.

Nº de Lâmina	EPI TÉLIO	QUERATINA	TOTAL
1	152,6	92,9	245,5
2	195,6	99,4	295,0
3	134,8	43,06	177,86
4	151,92	70,8	222,72
5	160,73	114,46	275,19
6	176,33	131,86	308,19
7	200,66	132,8	333,46
8	187,46	104,13	291,59
9	202,46	125,13	327,59
10	190,3	124,06	314,36
	175,286 ± 23,7609	103,86 ± 28,9137	279,146 ± 49,86

Média e Desvio-Padrão da espessura do epitélio e queratina da porção ventral da língua de ratos controles.

Nº de Lâmina	EPITÉLIO	QUERATINA	TOTAL
1	139,53	39,26	178,79
2	175,1	48,0	223,1
3	131,06	35,4	166,46
4	120,53	33,26	153,79
5	168,6	40,8	209,4
6	183,13	84,93	268,06
7	153,0	42,5	195,5
8	123,6	35,9	159,5
9	173,8	53,4	227,2
10	149,5	39,8	189,3
	151,78 ± 22,73	45,32 ± 15,16	197,11 ± 35,58

Média e Desvio-Padrão da espessura do epitélio e queratina da porção ventral da língua de ratos experimentais.

Nº de Lâmina	EPITÉLIO	QUERATINA	TOTAL
1	134,2	50,8	185,0
2	105,6	30,46	136,06
3	103,73	31,93	135,66
4	152,6	67,46	220,06
5	113,4	49,93	163,33
6	134,73	44,6	179,33
7	118,9	42,3	161,2
8	122,6	35,2	157,8
9	141,33	43,7	185,03
10	112,41	52,8	165,21
	123,95 ± 16,198	44,918 ± 11,106	168,86 ± 25,06

TABELA 2 - Distância em milímetros de 5 regiões (A, B, C, D, E, F) da junção amelocementária de ratos normais e sialoadenectomizados com e sem irritante gengival.

		RAIZ MESIAL	REGIÃO INTER(1º)	RAIZ MEDIAL	REGIÃO INTER(2º)	RAIZ DISTAL	MÉDIA
SEM IRRITANTE GENGIVAL	N	1,2729±0,1095	0,5140±0,0918	1,1165±0,1645	0,5106±0,1244	0,8532±0,1485	0,8534±0,3450
	S	1,2593±0,1494	0,5871±0,0994	1,2074±0,1284	0,5904±0,1321	0,8611±0,1319	0,9010±0,3230
COM IRRITANTE GENGIVAL	N	1,7910±0,1702	1,3639±0,1443	1,5369±0,1242	1,2595±0,1958	1,2402±0,2339	1,4383±0,2290
	S	1,7909±0,1317	1,1906±0,1644	1,4136±0,1833	1,0831±0,1716	1,0920±0,1162	1,3140±0,297

N = NORMAL

S = SIALOADENECTOMIZADO

Tabela 3 - Médias de 5 regiões do 1º molar inferior de ratos normais e sialoadenectomizados com e sem irritante gengival, face lingual.

Raiz 1

CV	GL	SQ	QM	F
TRAT	3	2,757	0,919	41,013 *
RES	36	0,807	0,022	
TOTAL	39	3,564		

* SIGNIF. 5%

MÉDIAS (Ordem Decrescente)

TRAT	MÉDIA
CC/B	1,791
EC/B	1,791
CS/B	1,273
ES/B	1,259

Teste de Tukey (5%)

dms = 0,179

1) CC/B, EC/B > CS/B, ES/B

- Não há diferença significativa entre CC/B e EC/B
- Não há diferença significativa entre CS/B e ES/B
- CC/B e EC/B diferem de CS/B e ES/B

- * Controle com barbante (CC/B)
- * Experimental com barbante (EC/B)
- * Controle sem barbante (CS/B)
- * Experimental sem barbante (ES/B)

Ralz 2

CV	GL	SQ	QM	F
TRAT	3	5,451	1,817	98,798 *
RES	36	0,562	0,018	
TOTAL	39	6,114		

* SIGNIF. 5%

MÉDIAS (Ordem Decrescente)

TRAT	MÉDIA
CC/B	1,364
EC/B	1,191
ES/B	0,587
CS/B	0,515

Teste de Tukey (5%)

dms = 0,162

1) CC/B, EC/B > ES/B, CS/B

- Em média CC/B é maior que todas as outras médias

- Em média EC/B é maior que ES/B e CS/B

- Não há diferença significativa entre as médias dos tratamentos ES/B e CS/B

Raiz 3

CV	GL	SQ	QM	F
TRAT	3	1,136	0,379	14,713 *
RES	36	0,926	0,026	
TOTAL	39	2,062		

* SIGNIF. 5%

MÉDIAS (Ordem Decrescente)

TRAT	MÉDIA
CC/B	1,537
EC/B	1,432
ES/B	1,207
CS/B	1,117

Teste de Tukey (5%)

dms = 0,194

1) CC/B, EC/B > ES/B, CS/B

- Não há diferença significativa entre CC/B e EC/B
- Não há diferença significativa entre ES/B e CS/B
- CC/B e EC/B diferem signif. de ES/B e CS/B

Raiz 4

CV	GL	SQ	QM	F
TRAT	3	4,041	1,347	48,142 *
RES	36	1,007	0,028	
TOTAL	39	5,048		

* SIGNIF. 5%

MEDIAS

TRAT	MEDIA
CC/B	1,260
EC/B	1,083
ES/B	0,590
CS/B	0,511

Teste de Tukey (5%)

dms = 0,202

1) CC/B, EC/B > ES/B, CS/B

- Não há diferença significativa entre CC/B e EC/B
- Não há diferença significativa entre ES/B e CS/B
- CC/B e EC/B diferem signif. de ES/B e CS/B

Raiz B

CV	GL	SQ	QM	F
TRAT	3	1,065	0,355	11,860 *
RES	36	1,077	0,030	
TOTAL	39	2,142		

* SIGNIF. 5%

MÉDIAS

TRAT	MÉDIA
CC/B	1,240
EC/B	1,092
ES/B	0,861
CS/B	0,853

Teste de Tukey (5%)

dms = 0,209

1) CC/B; EC/B > ES/B, CS/B

- Não há diferença significativa entre CC/B e EC/B
- Não há diferença significativa entre ES/B e CS/B
- CC/B e EC/B diferem de ES/B e CS/B

TABELA 4 - Quantidade de bactérias aderidas à superfície das células epiteliais do dorso da língua de ratos normais. De cada animal foram contadas pelo menos 80 células, sendo que os resultados estão expressos em percentagem.

ZERO	1 - 10	10 - 30	30 - 50	50 - 80	mais de 80
8,98	43,82	33,70	8,98	4,49	-
9,47	43,15	33,68	7,36	4,21	2,10
2,32	25,58	32,55	18,60	11,62	9,30
4,16	14,58	27,08	18,75	10,41	25,0
-	10,37	12,26	18,86	19,81	38,67
-	1,96	12,74	9,80	10,78	64,70
1,08	20,65	30,43	6,52	6,52	34,78
2,56	29,48	24,35	11,53	8,97	23,07
9,0	24,0	29,0	8,0	10,0	20,0
3,0	17,0	21,0	14,0	12,0	34,0
5,07±3,48	23,05±13,34	25,67±8,04	12,24±4,95	9,88±4,47	27,95±18,23

Quantidade de bactérias de ratos sialoadenectomizados aderidas à superfície das células epiteliais do dorso da língua de ratos com xerostomia. De cada animal foram contadas pelo menos 80 células. Sendo que os resultados estão expressos em percentagem.

ZERO	1 - 10	10 - 30	30 - 50	50 - 80	mais de 80
0,89	12,5	15,17	11,60	12,5	47,32
-	20,87	34,06	18,68	15,38	10,98
4,54	19,31	34,09	20,45	10,22	11,36
11,82	18,27	27,95	15,05	9,67	17,20
-	10,22	26,13	19,31	11,36	32,95
-	1,03	4,12	1,03	7,21	87,62
16,27	37,20	31,39	5,81	5,81	3,48
1,94	26,21	12,62	11,65	13,59	33,98
18,18	31,81	14,54	11,81	10,0	13,63
5,15	28,86	30,92	11,34	7,21	16,49
8,39 ± 6,98	20,62 ± 10,87	23,09 ± 10,59	12,67 ± 6,08	10,29 ± 3,02	27,50 ± 24,96

Rato nº

Grupo:

Gaiola:

Regime:

Dentes Mandibulares:						
Molares:						
ESQUERDO				DIREITO		
			BUCAL			
			LINGUAL			
INCISIVO						
			DISTAL			
Dentes Maxilares:						
Molares:						
ESQUERDO				DIREITO		
			BUCAL			
			LINGUAL			
INCISIVO						
			DISTAL			

FIGURA 1 - Ficha de quantificação de placa bacteriana, baseado no índice, proposto por Quigley & Hein (1962) com modificações.