

**CLÁUDIA HERRERA TAMBELI**  
Cirurgiã - Dentista

**INFLUÊNCIA DAS GLÂNDULAS  
SUBMANDIBULARES,  
SUBLINGUAIS E DA SALIVA NA  
SECREÇÃO E NA INTEGRIDADE  
DA MUCOSA GÁSTRICA  
DE RATOS.**

*Este exemplar foi  
devidamente corrigido  
conforme resolução CEP/1036/83  
Piracicaba, 11/25/94*

*Antônio*

**Tese apresentada à Faculdade de  
Odontologia de Piracicaba, da  
Universidade Estadual de Campinas,  
para obtenção do Grau de Mestre em  
Ciências, área de Fisiologia e Biofísica  
do Sistema Estomatognático.**

PIRACICABA - SP  
1994

T151j  
21989/BC

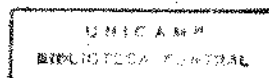
**CLÁUDIA HERRERA TAMBELI** 7/194  
Cirurgiã - Dentista

**INFLUÊNCIA DAS GLÂNDULAS  
SUBMANDIBULARES,  
SUBLINGUAIS E DA SALIVA NA  
SECREÇÃO E NA INTEGRIDADE  
DA MUCOSA GÁSTRICA  
DE RATOS.**

Tese apresentada à Faculdade de  
Odontologia de Piracicaba, da  
Universidade Estadual de Campinas,  
para obtenção do Grau de Mestre em  
Ciências, área de Fisiologia e Biofísica  
do Sistema Estomatognático.

**Orientador : Prof. Dr. Carlos Eduardo Pinheiro** t

PIRACICABA - SP  
1994



*Aos meus pais,*

por compartilharem meus ideais  
incentivando - me a prosseguir na jornada,  
por seus esforços e sacrifícios  
sempre presentes em minhas conquistas,

*dedico este trabalho.*

Às minhas irmãs *Márcia* e *Tânia* e à  
minha sobrinha *Thaís* pelo apoio, amizade  
e descontração no decorrer da realização  
deste trabalho e em todas as fases  
importantes da minha vida.

Ao Dr. *Carlos Eduardo Pinheiro*,

Professor Titular de Bioquímica  
da Faculdade de Odontologia de Bauru  
USP, pela amizade e orientação sempre  
segura e constante, sem a qual não seria  
possível a realização deste trabalho,

a minha sincera gratidão.

## AGRADECIMENTOS ESPECIAIS

A Dra. *Maria Cecília Ferraz de Arruda Veiga*,  
Professora da Disciplina de Fisiologia do  
Departamento de Ciências Fisiológicas da  
FOP - UNICAMP, *grande mestra e amiga*,  
pelos meus primeiros passos nos caminhos da  
Ciência e pelo apoio e incentivo  
na carreira universitária.

Ao Dr. *Alcides Guimarães*, Professor Titular da  
Disciplina de Fisiologia do Departamento de  
Ciências Fisiológicas e Coordenador do curso de  
Pós - Graduação de Fisiologia e Biofísica do  
Sistema Estomatognático da FOP - UNICAMP,  
pela amizade sincera, apoio e colaboração  
dispensada na elaboração deste trabalho.

## AGRADECIMENTOS

- Ao **Prof. Dr. José Dias Sobrinho**, Pró Reitor do Programa de Pós - Graduação, pela atenção e incentivo aos cursos de Pós - Graduação.

- Ao **Prof. Dr. Frab Norberto Bóscolo**, Coordenador dos Cursos de Pós - Graduação da FOP - UNICAMP, pelo apoio e estímulo aos alunos de Pós - Graduação.

- Ao **Prof. Dr. Norair Salviano dos Reis**, Chefe do Departamento de Histologia e Embriologia do Instituto de Biologia da UNICAMP, pela atenção e auxílio nas interpretações histológicas.

- A **Dra Sônia Vieira**, Professora Titular da área de Bioestatística do Departamento de Odontologia Social da FOP - UNICAMP, pela programação e orientação estatística.

- Ao **Dr. João Leonel José**, Prof. Livre Docente da Disciplina de Fisiologia do Departamento de Ciências Fisiológicas da FOP - UNICAMP, pela amizade e incentivo.

- A **Lúcia Helena**, amiga em todos os momentos, pelo apoio e pelas fotografias dos slides.

- Aos **Docentes da Área de Farmacologia** do Departamento de Ciências Fisiológicas da FOP - UNICAMP, pela colaboração e fornecimento da Pilocarpina.

- Ao **Carlos Alberto Aparecido Feliciano**, Técnico de Laboratório do Departamento de Ciências Fisiológicas da FOP - UNICAMP, pela amizade e colaboração durante a execução dos trabalhos laboratoriais.

- À **Shirley Rosana Sbravatti Moreto**, Secretária do Departamento de Ciências Fisiológicas e **Miris Cristina Recchia**, Secretaria da Área de Fisiologia da FOP - UNICAMP, pela amizade, boa vontade e auxílio prestado sempre que solicitadas.

- À Sra. **Sueli Duarte de Oliveira Soliani**, Bibliotecária da FOP- UNICAMP, pela colaboração prestada na organização das referências bibliográficas.

- Ao **Marcos Antonio Rapetti**, Operador de computador da área de Radiologia da FOP - UNICAMP, pela amizade e cooperação.

- Aos **docentes da Área de Radiologia** pela atenção e por cederem o computador sempre que preciso.



- Aos amigos dos Cursos de Pós - Graduação, especialmente a **Adriana, Rozângela, Evanise, Viviane, Chico e Reginaldo**, pelo companheirismo, apoio e colaboração, e a todos aqueles que de alguma forma contribuíram para a realização deste trabalho.

## **CONTEÚDO**

<b>01 - RESUMO.....</b>	<b>01</b>
<b>02 - ABSTRACT.....</b>	<b>05</b>
<b>03 - INTRODUÇÃO.....</b>	<b>08</b>
<b>04 - REVISTA DA LITERATURA.....</b>	<b>12</b>
<b>4.1- Efeitos da saliva e das glândulas salivares sobre a secreção e a mucosa gástrica.....</b>	<b>13</b>
<b>4.2- Sialoadenectomia e seus efeitos sobre o estômago.....</b>	<b>20</b>
<b>05 - PROPOSIÇÃO.....</b>	<b>28</b>
<b>06 - MATERIAIS E MÉTODOS.....</b>	<b>30</b>
<b>6.1 - Grupos Experimentais.....</b>	<b>31</b>
<b>6.2 - Coleta da saliva das glândulas submandibula- res e sublinguais.....</b>	<b>34</b>
<b>6.3 - Sialoadenectomia, secção dos ductos glandula- res e coleta e avaliação do suco gástrico.....</b>	<b>35</b>
<b>6.4 - Avaliação Histológica.....</b>	<b>38</b>
<b>6.5 - Análise Estatística.....</b>	<b>38</b>
<b>07 - RESULTADO.....</b>	<b>39</b>
<b>7.1 - Volume.....</b>	<b>47</b>
<b>7.2 - pH.....</b>	<b>50</b>
<b>7.3 - Acidez Livre.....</b>	<b>53</b>
<b>7.4 - Acidez Total.....</b>	<b>56</b>
<b>7.5 - Atividade Péptica.....</b>	<b>59</b>
<b>7.6 - Peso Glandular.....</b>	<b>62</b>
<b>7.7 - Análise Histológica.....</b>	<b>65</b>

<b>08 - DISCUSSÃO.....</b>	<b>72</b>
<b>09 - CONCLUSÕES.....</b>	<b>81</b>
<b>10 - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>	<b>84</b>
<b>11 - APÊNDICE.....</b>	<b>95</b>

***01 - RESUMO***

## 01 - RESUMO

Além das glândulas salivares contribuírem na primeira etapa do processo digestivo através do papel da saliva na mastigação, deglutição e digestão de amiláceos, há evidências de que elas produzem substâncias biologicamente ativas e que algumas dessas substâncias, secretadas na saliva ou liberadas na circulação sanguínea atuam diretamente sobre a mucosa gástrica, influenciando os processos de secreção e crescimento da mesma.

O fator de crescimento epidermal ( EGF ), um polipeptídeo produzido principalmente pelas glândulas submandibulares e sublinguais, participa desse processo devido às suas propriedades de inibição da secreção gástrica e proteção da mucosa gástrica através do estímulo à proliferação celular e à cicatrização de úlceras gástricas.

Assim sendo, diante da existência dessa interação entre as glândulas salivares e o estômago, propusemo - nos a investigar a influência das glândulas submandibulares e sublinguais e de suas respectivas secreções na secreção e na integridade da mucosa gástrica, considerando - se os seguintes parâmetros : pH, volume, acidez livre , acidez total e atividade péptica do suco gástrico, e as características histológicas da mucosa gástrica.

Para isso, 70 ratos machos adultos foram divididos em 7 grupos experimentais: **Cirurgia Simulada** ( ratos submetidos ao mesmo estresse cirúrgico dos animais dos grupos Sialoadenectomizados e Secção dos ductos glandulares ) ; **Secção dos Ductos Glandulares** ( ratos submetidos a secção dos ductos

das glândulas submandibulares e sublinguais ); **Sialoadenectomizado** ( ratos submetidos a remoção cirúrgica das glândulas submandibulares e sublinguais ); **Normal + NaCl e Normal + Saliva** ( ratos nos quais se administrou, via intragástrica, 0,5 ml de NaCl a 0,9 % durante os últimos 4 dias do experimento e saliva das glândulas submandibulares e sublinguais de ratos machos, diariamente, durante todo o período experimental, respectivamente ); **Sialoadenectomizado + NaCl e Sialoadenectomizado + Saliva** ( ratos sialoadenectomizados nos quais se administrou, via intragástrica, 0,5 ml de NaCl a 0,9 % durante os últimos 4 dias do experimento e 0,5 ml de saliva das glândulas submandibulares e sublinguais, diariamente, durante todo período experimental, respectivamente ).

Após 14 dias, os ratos foram deixados em jejum por 72 h, anestesiados por inalação de éter e submetidos à ligação do piloro para a coleta de suco gástrico durante 4 h. Logo em seguida, foram sacrificados e o estômago, juntamente com as glândulas submandibulares e sublinguais, foram removidos para as análises histológicas.

Os resultados obtidos mostraram que a secção dos ductos das glândulas submandibulares e sublinguais reduziu a atividade péptica do suco gástrico, a secreção gástrica ácida e promoveu severa atrofia nessas glândulas e discreta atrofia na mucosa gástrica. A sialoadenectomia reduziu a atividade péptica do suco gástrico num grau muito maior que a redução causada pela secção dos ductos glandulares, diminuiu a secreção gástrica ácida e promoveu severa atrofia na mucosa gástrica. Por outro lado,

administração intragástrica de saliva nos ratos normais e sialoadenectomizados reduziu a acidez gástrica e a atividade péptica do suco gástrico apenas dos ratos normais e não afetou o volume e nem a estrutura da mucosa gástrica dos animais desses 2 grupos experimentais.

Os resultados sugerem que as glândulas submandibulares e sublinguais influenciam a secreção e o crescimento da mucosa gástrica e que a ação tópica da saliva dessas glândulas no estômago de ratos normais, interfere na acidez e na atividade péptica do suco gástrico, provavelmente devido aos fatores biologicamente ativos que contém.

**0 2 - ABSTRACT**



## 02 - ABSTRACT

There are evidences that besides contributing to digestion through the role of saliva in mastication, deglutition and starch digestion, salivary glands produce biologic substances. Some of these substances, secreted in saliva or blood stream, affect gastric mucosal and influence its secretion and growth process.

Epidermal Growth Factor ( EGF ), a polipeptide first purified from mouse submandibular glands, is believed to participate in this process. Numerous studies have demonstrated that EGF has many effects such as inhibition of gastric acid secretion and protection of gastric mucosal through stimulation of DNA synthesis and healing of gastric ulcers.

The present study was designed to investigate the effects of submandibular-sublingual glands on gastric mucosal secretion and integrity. Volume, pH, free acidity, total acidity of the gastric juice and histologic characteristics of gastric mucosal were evaluated.

Seventh male rats, weighing 300 - 350 g, were divided into seven groups: **Simulated Surgery** ( rats submitted to the same surgery stress of the rats from Sialoadenectomized and Sectionated Glandular Ducts groups ); **Sectionated Glandular Ducts** ( rats submitted to the section of the submandibular-sublingual glands ducts ); **Sialoadenectomized** ( rats submitted to resection of the sub-mandibular-sublingual glands ); **Normal + NaCl** and **Normal + Saliva** ( rats that recieved, intragastrically, 0,5 ml of NaCl 0,9 % and 0,5 ml of saliva obtained from submandibular-sublingual

glands, daily, during the last 4 days of the experiment, respectively); **Sialoadenectomized + NaCl** and **Sialoadenectomized + Saliva** (rats submitted to resection of the submandibular-sublingual glands that received, intragastrically, 0,5 ml of NaCl 0,9 % and 0,5 ml of saliva obtained from submandibular-sublingual glands, daily, during all experimental period, respectively).

After 14 days, the animals were fasted for 72h. Under ether anesthesia the pylorus was ligated and the animals were sacrificed after 4 h. The stomach and the submandibular-sublingual glands were dissected out to subsequent histologic analysis.

Results demonstrated that the section of submandibular-sublingual glands ducts reduced peptic activity of the gastric juice, gastric acid secretion and promoted a discrete atrophy of the submandibular-sublingual glands and mucosal gastric, respectively.

Sialoadenectomy reduced peptic activity of gastric juice in a higher degree than section of submandibular-sublingual glands ducts, decreased gastric acid secretion, and promoted severe atrophy of the gastric mucosal. Although intragastric administration of saliva has decreased the gastric acidity and peptic activity of gastric juice in normal rats, it did not affect volume and gastric mucosal structure of the normal and sialoadenectomized rats.

The results suggest that submandibular-sublingual glands plays an important role in secretion and growth of gastric mucosal, and saliva influences acidity and peptic activity of gastric juice via a direct luminal effect in the stomach of normal rats, probably due its biologically active factors.

**03 - INTRODUÇÃO**

### 03 - INTRODUÇÃO

As glândulas salivares, principalmente suas atividades endócrinas e exócrinas, têm sido exaustivamente estudadas sob os mais variados aspectos. Com relação ao seu papel na homeostase orgânica, destaca-se a sua participação no processo digestivo.

Já é conhecido na literatura que a saliva é essencial na manutenção da saúde da cavidade oral devido ao seu efeito tampão e às suas propriedades antimicrobianas e remineralizantes, que protegem os dentes contra a cárie.

As disfunções salivares que causam redução parcial ou total da produção de saliva, condição esta conhecida como xerostomia, muitas vezes proporcionam o desenvolvimento de cáries rampantes e inflamações na mucosa oral o que leva à dor e até perda dentária.

Como a cavidade oral é o local onde inicia-se o processo digestivo, todas essas alterações que resultam na perda da função mastigatória acabam comprometendo esse processo parcial ou mesmo totalmente.

Além das glândulas salivares influenciarem o processo digestivo indiretamente, através da atuação da saliva na integridade da cavidade oral, há evidências de que elas contêm inúmeras substâncias biologicamente ativas e que algumas dessas substâncias, secretadas na saliva ou liberadas na circulação

sanguínea, parecem agir sobre a mucosa gástrica. Dentre elas, o fator de crescimento epidermal, um polipeptídeo isolado por COHEN ( 1962 ) a partir das glândulas submandibulares de ratos, tem recebido grande atenção dos pesquisadores pelas suas propriedades de inibição da secreção gástrica ácida e proteção da mucosa gástrica através do estímulo à proliferação celular e cicatrização de úlceras gástricas. (BOWER et al., 1975, JOHNSON & GUTHRIE, 1980, DEMBINSKI & JOHNSON, 1984, KONTUREK et al., 1991).

Assim sendo, nos últimos 40 anos, antes mesmo da descoberta do fator de crescimento epidermal, muitos autores têm sugerido a possibilidade das glândulas salivares e da saliva, influenciarem a atividade de secreção e a integridade da mucosa gástrica, ( CODE et al., 1949, MENGUY & BERLINSKI, 1967, KOBAYASHI et al., 1972, LI et al., 1983, TEPPERMAN & SOPER, 1984). É muito comum indivíduos portadores da Síndrome de Sjögren, uma doença autoimune caracterizada pela destruição das glândulas salivares, apresentarem gastrite atrófica crônica, acloridria e baixo nível sérico de pepsinogênio (VALDEZ & FOX, 1991).

A remoção cirúrgica do complexo glandular submandibular-sublingual tem revelado uma redução na resistência da mucosa gástrica, em resposta à presença de injúrias leves ( A - TEPPERMAN et al. , 1989, B - TEPPERMAN et al., 1989, TEPPERMAN & SOPER, 1990), e apesar de algumas divergências, este fato tem sido associado a uma inibição da

secreção gástrica ácida (LEVINE, 1965, SKINNER & TEPPERMAN, 1981, EVANGELISTA et al., 1990).

Assim sendo, considerando - se a importância da interação fisiológica entre as glândulas salivares e a mucosa gástrica, pareceu - nos interessante investigar alguns fatores que possam estar envolvidos nesse mecanismo, com o objetivo de fornecer alguma contribuição para a elucidação deste importante processo fisiológico.

***04 - REVISTA DA LITERATURA***

## 04 - REVISTA DA LITERATURA

### 4.1- Efeitos da saliva e das glândulas salivares sobre a secreção e a mucosa gástrica.

A primeira comunicação a respeito da influência da saliva sobre a secreção gástrica foi feita por **CODE et al.** em 1949. Esses autores injetaram um precipitado de mucina salivar de porcos em cães, por via endovenosa, e observaram claramente uma inibição da secreção gástrica. A partir daí, vários pesquisadores se dedicaram ao estudo do princípio ativo salivar inibidor da secreção gástrica.

**MENGUY & BERLINSKI ( 1967 )** estudaram a origem salivar desse princípio ativo. Para isso, coletaram saliva humana das glândulas parótidas, submandibulares e sublinguais. Após liofilização e dissolução em solução fosfato pH 7,0, as amostras foram injetadas endovenosamente em ratos com ligação do piloro e a atividade inibidora da secreção gástrica foi avaliada após 4 h. Os resultados demonstraram que apenas as salivas das glândulas submandibulares e sublinguais apresentavam atividade inibitória. Esses mesmos autores sugeriram a existência, na saliva dessas glândulas, de um princípio ativo inibidor da secreção gástrica ao qual denominaram de Sialogastrona.



**MENGUY et al ( 1967 )**, através de métodos bioquímicos, conseguiram obter uma preparação bruta da sialogastrona e verificaram que a proteína obtida era de alto peso molecular, rica em carboidratos, resistente ao calor e à hidrólise ácida.

Outros autores como **KOBAYASHI et al. (1972)** estudando a presença da sialogastrona no extrato aquoso das glândulas salivares e de outros órgãos de camundongos, ratos, coelhos e cães, verificaram a presença de atividade anti - secretória em apenas duas frações obtidas das glândulas submandibulares de camundongos. Ainda em 1972, **KOBAYASHI & YAMAMOTO** isolaram o fator inibidor da secreção gástrica do extrato aquoso das glândulas submandibulares de camundongos pelos processos de filtração a gel em Sephadex G- 100, cromatografia em coluna sobre DEAE - celulose e uma segunda filtração em Sephadex G- 100. A fração ativa obtida foi caracterizada quimicamente como proteína de peso molecular ao redor de 50.000 daltons, totalmente inativada pelo calor e pela proteólise.

**LI et al. ( 1983 )** verificaram que o aumento da secreção salivar das glândulas submandibulares de camundongos machos, provocado por injeções intraperitoneais de isoproterenol ( 6mg / kg de peso ), aumentava o conteúdo de DNA e RNA das células da mucosa intestinal, estimulando portanto a proliferação celular.

Em 1984, **TEPPERMAN & SOPER** observaram que o extrato aquoso das glândulas submandibulares e sublinguais inibia a secreção gástrica ácida estimulada pela pentagastrina, quando administrado intraperitonealmente em 2 doses diárias na concentração de 4mg de proteína em 0,8 ml, durante 18 dias. Ainda nessas mesmas condições experimentais, os autores detectaram, em ratos submetidos à ação tópica de agentes ulcerógenos, uma redução no aparecimento luminal de Na e K, normalmente associado com a ruptura da mucosa gástrica, demonstrando portanto, que essas glândulas apresentam um efeito protetor sobre a mucosa gástrica.

Assim sendo, a partir da década de 70, dois polipeptídeos, mais precisamente o fator de crescimento epidermal ( EGF ) e a urogastrona ( URO ) começaram a despertar a atenção dos pesquisadores, como prováveis agentes salivares com atuação na mucosa gástrica. Um deles, o fator de crescimento epidermal, foi descoberto e isolado por **COHEN ( 1962 )** das glândulas submandibulares de camundongos machos. Esse polipeptídeo quando injetado subcutaneamente em camundongos recém nascidos, promovia a abertura dos olhos e a erupção dos incisivos precocemente. Em 1963, o mesmo autor verificou que as atividades biológicas desse princípio ativo eram devidas a uma estimulação direta da proliferação e queratinização do tecido epidermal, razão pela qual o mesmo foi denominado de fator de crescimento epidermal.

Por sua vez, a existência do outro fator, a urogastrona, um inibidor da secreção gástrica encontrado na urina humana, já era conhecida desde a década de 40 ( GRAY, 1940, ELDER et al., 1975 e GREGORY & WILLSHIRE, 1975). Após a identificação da estrutura primária do fator de crescimento epidermal por SAVAGE et al.,1972, e da urogastrona por GREGORY, 1975, ficou evidenciado que esta era muito semelhante ao EGF, visto que dos 53 resíduos de aminoácidos que compunham esses dois polipeptídeos, 37 eram comuns a ambos. Além da existência de uma grande semelhança química entre esses fatores, tudo indica que eles compartilham as mesmas ações biológicas para as quais foram testados, particularmente inibição da secreção gástrica e proliferação das células epiteliais.

BOWER et al. ( 1975 ) verificaram que a administração endovenosa de EGF em cães ( 0,5 µg / kg de peso ) e em ratos ( 10 µg / kg de peso ) reduzia drasticamente a secreção gástrica ácida estimulada por injeções subcutâneas de histamina ( 300 µg /kg de peso ).

HOLLENBERG & GREGORY ( 1976 ) demonstraram que assim como o EGF, a urogastrona também atua sobre o tecido epidermal, já que ambos competem pelo mesmo sítio receptor em cultura de fibroblastos humanos.

Assim sendo, considerando ainda que, através de técnicas de imunohistoquímica e radioimunoensaio, esses dois polipeptídeos têm sido identificados praticamente nos mesmos

tecidos e fluídos orgânicos tais como glândulas submandibulares, glândulas de Brunner ( HEITZ et al., 1978, ELDER et al., 1978 ), plasma ( GREGORY et al., 1979 ), rim ( HIRATA & ORTH, 1979 ), leite materno ( TEPPERMAN & SOPER, 1989 ), pâncreas ( JAWOREK & KONTUREK, 1990 ) e saliva e suco gástrico ( ORSINI et al., 1991 ), tem sido proposto o termo Fator de crescimento epidermal / Urogastrona ( EGF / URO ).

Vários trabalhos têm relatado, sob diferentes aspectos, as inter-relações existentes entre o EGF / URO e as funções gástricas em animais experimentais.

Em 1980, JOHNSON & GUTHRIE, observaram que a administração exógena de EGF, através de seis injeções subcutâneas (10 µg/kg de peso cada) durante 48 h, aumentava significativamente a síntese de DNA da mucosa gástrica oxíntica de ratos adultos .

Resultados semelhantes foram obtidos por DEMBINSKI & JOHNSON ( 1984 ) com ratos recém nascidos. Esses autores constataram que a administração intraperitoneal de 3 doses diárias de EGF ( 20µg / kg de peso ) , durante 5 dias, em ratos com 10 dias de idade, estimulava o crescimento da mucosa gástrica oxíntica através do aumento do conteúdo de DNA, RNA, e proteínas.

KONTUREK et al. ( 1984 ) verificaram em cães e em glândulas gástricas isoladas de coelhos, que o EGF é um potente inibidor da secreção gástrica ácida. Outros autores têm demonstrado

que esse fator também exerce um efeito protetor sobre a mucosa gástrica de ratos submetidos à ação irritante de várias substâncias químicas. Assim sendo, **KONTUREK et al. (1988)** demonstraram que o EGF, quando administrado via oral ou subcutânea ( 10µg/kg de peso ), acelerava a cicatrização de úlceras gástricas induzidas experimentalmente pelo ácido acético e aumentava o conteúdo de DNA, RNA e o peso da mucosa gástrica, provavelmente devido ao seu efeito mitogênico. Posteriormente, esses resultados foram confirmados pelas pesquisas de **KUWARA & OKABE (1989)** e **YAMAGUCHI & TAKAHASHI (1989)**.

Em 1990, através de técnicas de radioimunoensaio, **MACCINI & VEIT** observaram que indivíduos portadores de úlcera péptica apresentavam uma menor concentração de EGF salivar quando comparados com indivíduos normais. Diante disso, os autores sugeriram que a baixa concentração salivar desse fator poderia reduzir os mecanismos defensivos responsáveis pela proteção da mucosa gástrica frente a injúrias induzidas por agentes fisicoquímicos, contribuindo portanto, com o desenvolvimento de úlcera.

**KONTUREK et al ( 1991 )**, através de uma extensa revisão da literatura confirmaram os resultados de prévios estudos e afirmaram que o EGF é produzido em grandes quantidades pelas glândulas salivares e pancreáticas, secretado principalmente no lúmen intestinal e parcialmente liberado na circulação sanguínea, de onde é depurado pelo rim e excretado na urina como urogastrona. Embora suas atividades biológicas ainda estejam sob investigação,

elas incluem: inibição da secreção gástrica, estímulo ao crescimento e à diferenciação celular, proteção da mucosa gástrica contra vários irritantes tópicos e cicatrização de úlceras gástricas.

Entretanto, apesar de todas essas pesquisas contribuírem efetivamente para o conhecimento das interações existentes entre as glândulas salivares e o estômago e sugerirem a participação do EGF nesse mecanismo, é bem provável que outros fatores encontrados nas glândulas salivares e / ou na saliva também estejam envolvidos nesse processo.

#### **4.2- Sialoadenectomia e seus efeitos sobre o estômago.**

Em busca de maiores conhecimentos a respeito das inter-relações existentes entre as glândulas salivares e o estômago, muitos autores se propuseram a estudar os efeitos causados pela ausência dessas glândulas e / ou de suas respectivas secreções sobre a secreção e a mucosa gástrica.

Em 1965, LEVINE observou que a exclusão da secreção salivar para o estômago, através de sialoadenectomia ou ligação esofageana, reduzia a secreção gástrica ácida em ratas 4h após a ligação do piloro e que essa resposta era revertida, pelo menos em parte, pela administração intragástrica de saliva. Baseado nesse fato, ele concluiu que a saliva estimulava a secreção gástrica ácida.

**SUKOHODOLO & VASILYEV ( 1980 ) e VASILYEV & SUKOHODOLO ( 1980 )** verificaram em cães e em ratos, que a remoção cirúrgica das glândulas submandibulares reduzia a secreção e aumentava a acidez gástrica, respectivamente, sugerindo a participação dessas glândulas no processo de regulação da secreção gástrica.

Em 1981, **SKINNER & TEPPERMAN** demonstraram que a remoção cirúrgica do complexo glandular submandibular-sublingual e a ligação dos ductos das parótidas

atenuava a resposta secretória ácida do estômago de ratos submetidos à ação estimulante da pentagastrina injetada endovenosamente ( 0,1 - 0,4  $\mu\text{g}/\text{kg}$  de peso ) e aumentava a magnitude de ulcerações gástricas induzidas pela administração intragástrica de solução de sal de bile ( 5mM em 150 mM de HCl ) 4 semanas após a sialoadenectomia.

**OLSEN et al. ( 1984 )** não encontraram alterações na secreção gástrica ácida de ratas 15 dias após à remoção das glândulas submandibulares. Contudo, observaram que esses animais desenvolviam um alto grau de úlceras gástricas e duodenais após a administração subcutânea do agente ulcerógeno "cysteamine" ( 300 mg / kg de peso ) 10 dias após a sialoadenectomia, e que o desenvolvimento dessas lesões era significativamente reduzido pela administração intragástrica de saliva com EGF numa concentração semelhante à obtida na secreção salivar estimulada pela norepinefrina ( 300 nmol / l de saliva ) segundo **OLSEN et al. ( 1985 )**, e não se alterava na presença de saliva sem EGF. Diante disso, os autores sugeriram que é bem provável que a secreção exócrina das glândulas submandibulares contribua, fisiologicamente, com os mecanismos de defesa responsáveis pela manutenção da integridade da mucosa gástrica.

Resultados semelhantes foram obtidos por **TEPPERMAN & SOPER (1984)** em relação à proteção ao desenvolvimento de úlceras gástricas a partir do sal de bile, em ratos sialoadenectomizados.



Ainda em 1984, SKINNER et al. através da análise do grau de incorporação de [ 3 H ] timidina pelo DNA, avaliaram o crescimento da mucosa gastrointestinal de ratos, 30 dias após a remoção cirúrgica das glândulas submandibulares e sublinguais e ligação dos ductos das parótidas, e observaram uma redução na síntese de DNA e no conteúdo de DNA e RNA da mucosa gástrica oxíntica. Sugeriram ainda, que o efeito da sialoadenectomia deveria ser mediado por algum fator trófico do tecido salivar, provavelmente o EGF, pois a administração de injeções intraperitoneais do extrato aquoso das glândulas submandibulares e sublinguais nesses animais, aumentava a taxa de síntese de DNA e o conteúdo total de DNA e RNA da mucosa oxíntica.

LEITCH ( 1985 ) observou que a remoção das glândulas submandibulares não promovia alterações estatisticamente significantes nas secreções gástrica ácida e de pepsina estimuladas pela administração subcutânea de histamina ( 50 µg / kg de peso/h), em ratos e ratas submetidos à ligação do piloro por um período de 2 h. No entanto, contrariando os resultados de OLSEN (1984), ele verificou que dentre os animais sialoadenectomizados, apenas os machos apresentaram uma exacerbação nas ulcerações gástricas induzidas pela ação tópica do ethanol à 30%.

Subsequentemente, OLSEN et al. ( 1986 ) estudaram, em ratas, os efeitos da remoção cirúrgica das glândulas submandibulares sobre a secreção gástrica ácida e úlceras gástricas crônicas, induzidas pela administração intragástrica de 100 µl de

ácido acético por 120 seg. 30 dias após a sialoadenectomia . Os dados obtidos revelaram que a ausência dessas glândulas não apresentava nenhuma influência sobre a secreção gástrica ácida após um período de 15 dias, mas retardava a cicatrização das úlceras examinadas 50, 100 e 200 dias após a administração intragástrica do agente ulcerógeno. Os autores também constataram que a administração oral de EGF /URO ( 5 nmol / kg / dia ) acelerava esse processo de cicatrização quando examinado 25 e 50 dias após o tratamento. Diante disso, concluíram que além das glândulas submandibulares participarem dos mecanismos responsáveis pela proteção da mucosa gástrica, como descrito na literatura, elas também influenciam benéficamente a cicatrização de úlceras gástricas experimentais, provavelmente devido ao EGF que contêm.

SAROSIEK et al. ( 1988 ) abordaram um outro aspecto da influência das glândulas submandibulares e sublinguais sobre o estômago. Através de microscopia de contraste de fase e análises bioquímicas, eles determinaram que a remoção cirúrgica dessas glândulas reduzia em 31% a espessura da cobertura de muco da superfície da mucosa gástrica e provocava uma série de alterações na composição química da mesma, tais como: uma redução de 38% no conteúdo de mucina aderida, uma diminuição no nível de carboidratos, lipídeos, ácidos gordurosos ligados covalentemente e um aumento na concentração proteica após um período de 18 dias. Em seguida, verificaram que a administração intragástrica de 3 dose diárias de EGF ( 15 µg / kg de peso ) durante 5 dias, 12 dias após a sialoadenectomia, restaurava

completamente todas as características físicoquímicas da cobertura de muco.

Através de um estudo comparativo, **TEPPERMAN et al. ( 1989 )** analisaram o efeito de diferentes glândulas salivares sobre a integridade da mucosa gástrica de ratos, frente à administração intragástrica de 1 ml de ethanol a 100%. Após 1 h os animais foram sacrificados e os autores verificaram que a remoção de todas as glândulas salivares maiores (parótidas, submandibulares e sublinguais) apresentava o mesmo resultado que a remoção isolada do complexo glandular submandibular-sublingual após um período de 4 semanas, ou seja, aumentava a magnitude da lesão mediada pelo agente ulcerógeno, enquanto que a remoção isolada das parótidas não aumentava o grau da lesão em relação ao grupo controle. Dessa forma, concluíram que os agentes que influenciam a integridade da mucosa gástrica, em ratos, se encontram no complexo glandular submandibular - sublingual e sugeriram que é bem provável que o efeito da remoção dessas glândulas sobre a mucosa gástrica, esteja relacionado com o EGF, já que elas representam a maior fonte de produção e secreção dessa substância.

A citoproteção adaptativa, fenômeno pelo qual a mucosa gástrica aumenta a sua resistência quando submetida à aplicação direta de irritantes leves, foi abordada por **B - TEPPERMAN et al. ( 1989 )** num trabalho que investigou a possível influência das glândulas salivares sobre esse fenômeno, através do estudo da mucosa gástrica de ratos submetida à

aplicação tópica de ethanol a 10%, 15 min. antes da administração oral do ethanol a 100%, 4 semanas após a sialoadenectomia. A mucosa gástrica foi avaliada 1 h após a administração do ethanol e resultados obtidos demonstraram que a remoção das glândulas salivares reduziu ou aboliu a proteção da mucosa gástrica diante da exposição ao ethanol a 10%, e que a administração subcutânea do extrato aquoso das glândulas submandibulares e sublinguais na concentração de 10 mg/ml, uma vez ao dia, durante 3 dias, era capaz de reverter essa resposta, sugerindo mais uma vez a influência das glândulas salivares sobre a integridade da mucosa gástrica.

Comprovando os resultados anteriores onde se postula a estreita relação entre as glândulas submandibulares e sublinguais e a resistência da mucosa gástrica à produção de úlceras experimentais, A - **TEPPERMAN & SOPER (1989)** verificaram que a sialoadenectomia aumentava a extensão da inflamação da mucosa gástrica de ratos, em resposta à administração intragástrica de ethanol a 50 %, através da análise da atividade da mieloperoxidase, já que ela é aceita como um índice de infiltração de neutrófilos, que correspondem à maior fonte de mediadores da inflamação. Observaram ainda, que a administração subcutânea de EGF na dosagem de 5 µg / kg de peso, 15 minutos antes da administração intragástrica do ethanol, não alterava o grau da lesão da mucosa gástrica dos ratos controles em relação a dos sialoadenectomizados quando avaliada após 1h, mas produzia uma significativa redução na atividade da mieloperoxidase dos ratos controles.

Os mesmos autores, em 1990, examinaram a relação temporal entre o crescimento da mucosa gástrica e a susceptibilidade da mesma à ação ulcerógena do ethanol a 100% em ratos sialoadenectomizados, e observaram um aumento significativo nas lesões gástricas a partir da segunda semana após a cirurgia, e uma considerável redução na concentração de DNA da mucosa a partir da quarta semana após a cirurgia, demonstrando portanto, que os efeitos causados pela sialoadenectomia sobre a resistência da mucosa gástrica antecedem qualquer alteração na taxa de crescimento da mesma.

Ainda em relação à sialoadenectomia e à resposta secretória do estômago, **EVANGELISTA et al. ( 1990 )** demonstraram que a remoção cirúrgica do complexo glandular submandibular - sublingual reduzia a secreção gástrica ácida de ratos 3 h após a ligação do piloro, e sugeriram que o EGF contido nessas glândulas poderia participar na regulação da secreção gástrica ácida.

Mais recentemente, **KONTUREK et al. ( 1991 )** verificaram que a remoção cirúrgica do complexo glandular submandibular - sublingual de ratos submetidos a diferentes situações estressantes , tais como permanência em gaiolas que causam imobilização e imersão em água a 23°C, promovia um aumento na susceptibilidade de formação de úlceras gástricas, uma diminuição na síntese de DNA da mucosa gástrica, um aumento na secreção gástrica ácida, e uma redução no conteúdo de EGF da mucosa gástrica. A administração intragástrica de EGF ( 17 nmol /

Kg / h ) apresentava-se totalmente ineficaz na inibição da secreção gástrica, mas prevenia, pelo menos em parte, a formação de lesões gástricas.

***05 - PROPOSIÇÃO***

## 05 - PROPOSIÇÃO

Diante dos resultados observados na literatura, propusemo - nos a continuar o estudo da inter-relação fisiológica entre glândulas salivares e mucosa gástrica, utilizando o rato como animal experimental com o objetivo de se avaliar:

1- A influência das glândulas submandibulares, sublinguais e da saliva na secreção gástrica, através da análise do volume, pH, acidez livre, acidez total e atividade péptica do suco gástrico;

2- A influência das glândulas submandibulares, sublinguais e da saliva na integridade da mucosa gástrica.



***06 - MATERIAIS E MÉTODOS***

## 06 - MATERIAIS E MÉTODOS

Para a realização do presente trabalho, foram utilizados 70 ratos machos ( *Rattus norvegicus*, albinus, Wistar ), adultos, com aproximadamente 4 meses de idade, pesando entre 300 a 350 gramas, oriundos do Biotério Central da UNICAMP.

Os animais foram alimentados com ração balanceada padrão e água "ad libitum" e mantidos, individualmente, em gaiolas de aço inoxidável com assoalho de malhas largas para não haver retenção de fezes, durante todo o período experimental de 17 dias.

### 6-1- Grupos Experimentais

Os animais foram distribuídos aleatoriamente em 7 grupos constituídos de 10 ratos cada um.

**GRUPO I- Cirurgia Simulada** - Animais submetidos ao mesmo estresse cirúrgico dos animais dos grupos I e II.

**GRUPO II - Ducto Glandular Seccionado** - Animais nos quais foi realizada a secção dos ductos das glândulas submandibulares e sublinguais.

**GRUPO III - Sialoadenectomizado** - Animais submetidos à remoção cirúrgica do complexo glandular submandibular-sublingual.

**GRUPO IV - Normal + NaCl** - Animais nos quais se administrou diariamente, via intragástrica, durante os últimos 4 dias do experimento, 0,5 ml de NaCl a 0,9 %.

**GRUPO V - Normal + Saliva** - Animais nos quais se administrou diariamente, via intragástrica, nos últimos 4 dias do experimento, 0,5 ml de saliva coletada das glândulas submandibulares e sublinguais de ratos machos.

**GRUPO VI - Sialoadenectomizado + NaCl** - Animais nos quais se realizou a remoção cirúrgica das glândulas submandibulares e sublinguais, e se administrou via intragástrica, diariamente, 0,5 ml de NaCl a 0,9 % ,durante todo o período experimental.

**GRUPO VII - Sialoadenectomizado + Saliva** - Animais nos quais também se realizou a remoção cirúrgica das glândulas submandibulares e sublinguais, e se administrou via intragástrica, diariamente, 0,5 ml de saliva coletada das glândulas submandibulares e sublinguais de ratos machos, durante todo o período experimental

**TABELA 6-1 - Distribuição dos animais segundo os grupos experimentais e tratamentos.**

TRATAMENTO GRUPO	CIRURGIA SIMULADA	SECÇÃO DOS DUCTOS GLANDULARES	SIALOADE- NECTOMIA	NaCl 0,9 %	SALIVA SUBM. SUBL.
I	+				
II		+			
III			+		
IV				+	
V					+
VI			+	+	
VII			+		+

## **6-2- Coleta da saliva das glândulas submandibulares e sublinguais.**

Para a realização da coleta da saliva das glândulas submandibulares e sublinguais, foram utilizados aproximadamente 150 ratos machos normais. Esses animais foram anestesiados com Thionembutal a 5 % na dosagem de 40 mg / kg de peso, e em seguida, os ductos das glândulas parótidas foram expostos cirurgicamente e amarrados com um fio de sutura .

Após a sutura da ferida cirúrgica, os animais receberam uma injeção intraperitoneal de pilocarpina na dosagem de 1 mg / kg de peso ( RENZI, 1991 ) e foram colocados sobre um suporte de madeira levemente inclinado, de forma que a saliva secretada era coletada em beakers individuais ( figura 6-1 ). Em seguida, foi realizado um "pool" de saliva, o qual foi armazenado a - 20°C até o momento de sua utilização. Sempre que possível, ou seja, quando os animais não morriam no momento da coleta, eles eram novamente utilizados para coleta de saliva em dias subsequentes

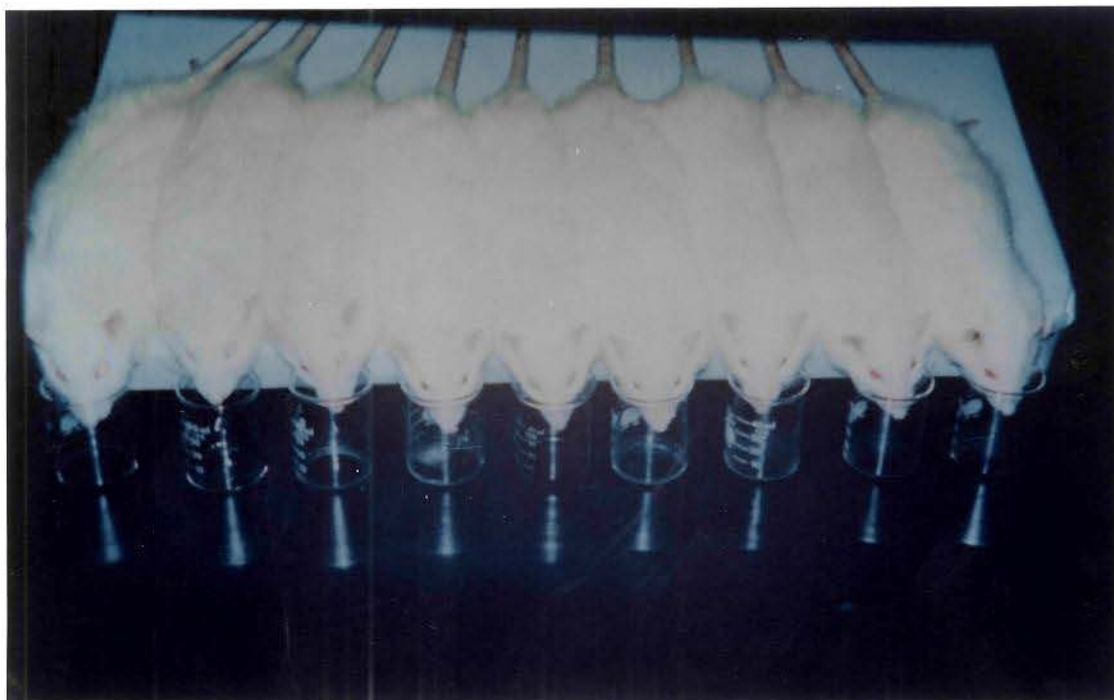


Figura 6-1 - Coleta da saliva de ratos submetidos à ligação dos ductos das parótidas e à ação estimulante da pilocarpina.

### 6-3- Sialoadenectomia, secção dos ductos glandulares, coleta e avaliação do suco gástrico.

O primeiro dia do experimento foi marcado pela distribuição dos animais em seus respectivos grupos experimentais. Assim sendo, para a secção dos ductos das glândulas submandibulares e sublinguais ou remoção dessas glândulas, os animais foram anestesiados por inalação de éter sulfúrico em uma campânula de vidro e fixados numa prancha cirúrgica em decúbito dorsal. Após tricotomia, os animais do **Grupo II** foram submetidos à secção dos ductos das glândulas submandibulares e sublinguais após o isolamento dos mesmos, com o objetivo de se eliminar a presença da saliva das respectivas glândulas no estômago e ao mesmo tempo mantê-las em atividade, os do **Grupo III, VI e VII** foram sialoadenectomizados pela remoção cirúrgica do complexo glandular submandibular- sublingual e os dos **grupos IV e V** simplesmente colocados em suas respectivas gaiolas.

Quatorze dias após, os animais de todos os grupos experimentais foram colocados em jejum por 72 h e durante esse período receberam para beber uma solução aquosa de glicose a 8 % e NaCl a 0,2 %. Os animais dos grupos Normal + NaCl, Sialoadenectomizado + NaCl, Normal + Saliva, e Sialoadenectomizado + Saliva também receberam NaCl e Saliva, respectivamente, durante o período de jejum. No 17º dia do experimento, para a coleta do suco gástrico

( método de SHAY et al., 1959 ), os animais foram anestesiados por inalação de éter sulfúrico, o piloro foi exposto cirurgicamente e amarrado com um fio de seda. Em sequência, a ferida cirúrgica foi suturada e os animais retornaram às suas respectivas gaiolas para se recuperarem da anestesia . O NaCl ou a Saliva foram administrados pela última vez minutos antes da realização da ligação do piloro.

Após 4 h , os animais foram sacrificados por inalação de éter. A porção distal do esôfago foi pinçada e o estômago removido. Imediatamente após, ele foi lavado com água destilada e seco por meio de uma gaze.

A seguir, o estômago foi cortado sobre uma placa de Petri e seu conteúdo transferido para tubos graduados para a medida de volume e posterior centrifugação a 3.000 r.p.m., por 15 min..

O suco gástrico obtido foi submetido às análises de pH ( peagâmetro DIGIMED DMPH - 2 ) e determinação da acidez livre e total pela titulação com NaOH a 0,1 N, em microbureta, utilizando - se como indicadores o azul de bromofenol e a fenoftaleína, respectivamente. A acidez livre corresponde à concentração de  $H^+$  resultante da dissociação iônica do HCl, e a acidez total à concentração de  $H^+$  resultante da dissociação iônica de toda e qualquer substância capaz de liberar  $H^+$ . Os valores obtidos foram expressos em  $\mu Eq / 4h$ .

A atividade péptica do suco gástrico foi determinada de acordo com o método de SCHLAMOWITZ & PETERSON



( 1959 ), utilizando - se como substrato para a pepsina, a albumina desnaturada pela uréia em pH 3,5. Os resultados foram expressos em unidades enzimáticas totais tomando - se como comparação um padrão de pepsina constituído por uma solução de gasterase numa concentração de 4 µg de pepsina / ml.

#### **6-4- Avaliação Histológica**

Imediatamente após a coleta do suco gástrico, as glândulas submandibulares e sublinguais dos animais dos Grupos I, II, IV e V foram removidas, e juntamente com pequenos fragmentos do estômago contendo a mucosa gástrica dos animais de todos os grupos experimentais, foram fixadas em formol a 10 % à temperatura ambiente por 72 h e incluídas em parafina de acordo com as técnicas histológicas de rotina. A microtomia foi realizada na espessura de 6 micrômetros e os cortes foram corados com hematoxilina e eosina. Posteriormente, as lâminas foram analisadas ao microscópio óptico.

#### **6-5- Tratamento estatístico**

Para as análises estatísticas foram utilizados os esquemas de análise de variância de ensaios inteiramente ao acaso, e para a comparação das médias, foi usado o teste de Tukey, em nível de 5 % de probabilidade.

## ***07 - RESULTADOS***

## 07 - RESULTADOS

Os dados contidos nas tabelas 1 a 6 foram submetidos a análise de variância inteiramente ao acaso. Os resultados dessa análise encontram - se no apêndice ( tabelas 7 a 12 ) e demonstram que existem diferenças estatisticamente significantes ao nível de 5% de probabilidade entre os grupos experimentais.

TABELA 1 - Volume ( ml ) do suco gástrico de ratos de diferentes grupos experimentais.

GRUPO AMOSTRA	CIRURGIA SIMULADA	DUCTO GLANDULAR SECCIONADO	SIALOADE- NECTOMIZADO	NORMAL + NaCl	NORMAL + SALIVA	SIALOADE- NECTOMIZADO + NaCl	SIALOADE- NECTOMIZADO + SALIVA
1	4,5	1,5	2,5	4,3	3,1	2,5	1,6
2	5,0	1,5	2,0	6,2	3,1	2,8	1,8
3	8,0	2,7	1,8	6,3	3,0	2,0	1,8
4	5,0	2,8	1,8	6,4	4,1	2,5	1,7
5	5,3	3,1	2,5	4,2	4,8	2,0	2,0
6	3,5	2,7	2,0	4,5	5,6	2,3	3,2
7	7,5	1,7	2,5	5,5	5,2	3,5	3,9
8	3,7	2,1	2,8	5,0	6,3	3,3	1,7
9	4,5	1,5	2,0	5,3	4,0	3,1	2,2
10	6,0	1,2	2,0	5,4	3,1	2,5	1,9
médla	5,30	2,08	2,19	5,31	4,23	2,65	2,18

TABELA 2 - pH do suco gástrico coletado 4 h após a ligação do piloro de ratos de diferentes grupos experimentais.

GRUPO AMOSTRA	CIRURGIA SIMULADA	DUCTO GLANDULAR SECCIONADO	SIALOADE- NECTOMIZADO	NORMAL + NaCl	NORMAL + SALIVA	SIALOADE- NECTOMIZADO + NaCl	SIALOADE- NECTOMIZADO + SALIVA
1	1,20	2,25	1,53	0,94	1,27	1,43	2,73
2	1,40	3,77	3,52	1,03	1,80	0,93	3,21
3	1,02	2,01	2,01	0,93	1,02	2,28	1,56
4	1,36	1,22	2,03	0,97	2,70	1,74	1,32
5	1,15	1,46	2,12	1,28	1,96	1,93	1,21
6	1,48	1,15	3,60	0,87	1,29	2,20	1,75
7	1,08	2,02	1,43	0,84	1,26	1,08	1,30
8	1,34	1,82	1,00	1,23	2,42	1,98	2,17
9	1,10	2,03	2,28	1,07	2,90	2,01	1,92
10	1,12	2,34	1,21	1,12	2,36	1,52	3,26
média	1,22	2,00	2,07	1,02	1,89	1,71	2,04

TABELA 3 - Acidez livre ( $\mu\text{Eq} / 4\text{h}$ ) do suco gástrico de ratos de diferentes grupos experimentais.

GRUPO AMOSTRA	CIRURGIA SIMULADA	DUCTO GLANDULAR SECCIONADO	SIALOADE- NECTOMIZADO	NORMAL + NaCl	NORMAL + SALIVA	SIALOADE- NECTOMIZADO + NaCl	SIALOADE- NECTOMIZADO + SALIVA
1	207,3	82,7	200,2	387,0	269,7	150,0	64,0
2	305,5	48,5	120,0	533,2	167,4	238,0	37,8
3	840,1	121,0	140,7	617,4	270,0	70,0	102,6
4	395,2	240,1	157,1	640,0	164,0	140,6	136,0
5	503,7	170,5	102,0	252,0	75,2	180,0	196,0
6	266,0	95,3	148,3	324,0	358,4	92,0	188,8
7	697,0	77,8	150,2	363,5	317,2	236,5	382,2
8	244,5	113,0	238,8	355,2	207,9	204,6	170,0
9	360,1	92,7	70,0	339,7	64,0	96,1	158,4
10	348,3	51,3	142,2	577,8	78,3	127,5	61,7
média	416,7	109,2	146,9	438,9	197,2	153,5	149,7

TABELA 4 - Acidez total ( $\mu\text{Eq} / 4\text{h}$ ) do suco gástrico de ratos de diferentes grupos experimentais.

GRUPO AMOSTRA	CIRURGIA SIMULADA	DUCTO GLANDULAR SECCIONADO	SIALOADE-NECTOMIZADO	NORMAL + NaCl	NORMAL + SALIVA	SIALOADE-NECTOMIZADO + NaCl	SIALOADE-NECTOMIZADO + SALIVA
1	454,7	134,0	255,6	594,6	387,5	242,5	112,0
2	530,2	180,2	240,2	725,4	285,2	310,8	95,4
3	896,0	310,0	190,1	749,7	351,0	140,0	178,2
4	570,0	344,1	210,7	793,6	274,7	278,1	193,8
5	720,2	254,8	175,0	382,2	120,0	300,0	266,0
6	465,1	189,3	206,0	427,5	504,0	168,0	316,8
7	795,0	131,0	242,3	550,0	452,4	309,7	510,9
8	414,3	214,0	264,3	475,0	384,4	300,3	306,0
9	468,7	147,5	140,0	487,6	140,0	179,8	277,2
10	660,0	91,7	266,1	707,4	185,6	192,5	213,7
média	597,4	199,6	219,0	589,3	308,4	242,0	247,0

TABELA 5 - Atividade péptica ( unidades enzimáticas totais )\* do suco gástrico de ratos de diferentes grupos experimentais.

GRUPO AMOSTRA	CIRURGIA SIMULADA	DUCTO GLANDULAR SECCIONADO	SIALOADE-NECTOMIZADO	NORMAL + NaCl	NORMAL + SALIVA	SIALOADE-NECTOMIZADO + NaCl	SIALOADE-NECTOMIZADO + SALIVA
1	6,83	4,33	1,25	4,10	1,51	2,73	1,20
2	8,24	4,00	1,32	5,04	1,20	2,24	1,12
3	6,45	2,56	3,26	5,30	1,86	2,14	1,67
4	7,78	3,97	3,90	4,16	1,92	1,12	1,28
5	4,52	4,13	4,51	5,63	1,14	3,00	1,39
6	5,05	2,69	1,24	6,43	2,09	2,58	1,83
7	6,94	5,90	1,75	4,56	2,16	2,44	1,52
8	5,32	3,31	2,03	4,15	3,60	2,88	0,44
9	8,50	5,85	1,50	4,06	2,46	2,82	1,62
10	6,65	4,99	3,07	4,83	3,00	1,25	1,75
média	6,62	4,17	2,38	4,82	2,09	2,32	1,38

\* unidades enzimáticas totais = 0,2 µg de pepsina



**TABELA 6 - Peso ( mg ) das glândulas submandibulares e sublinguais de ratos de diferentes grupos experimentais.**

<b>GRUPOS AMOSTRAS</b>	<b>CIRURGIA SIMULADA</b>	<b>DUCTO GLANDULAR SECCIONADO</b>	<b>NORMAL + NaCl</b>	<b>NORMAL + SALIVA</b>
1	525	300	529	402
2	630	245	500	339
3	530	401	383	352
4	431	208	448	358
5	520	206	434	408
6	472	236	418	465
7	425	165	543	449
8	411	190	437	496
9	445	193	388	402
10	526	152	442	506
<b>média</b>	<b>491,5</b>	<b>229,6</b>	<b>452,2</b>	<b>418,0</b>

## 7 - 1 - VOLUME

Para a comparação de médias de volume de suco gástrico entre os animais dos diferentes grupos experimentais, realizou-se o teste de Tukey ( 5% ). Os resultados encontram - se na tabela 7-1 e podem ser visualizados na figura 7-1.

**Tabela 7-1 - Comparação das médias de volume de suco gástrico ( ml ) de ratos de diferentes grupos experimentais.**

<b>GRUPO EXPERIMENTAL</b>	<b>MÉDIA</b>	<b>5 %</b>
<b>CIRURGIA SIMULADA</b>	<b>5,300</b>	<b>A</b>
<b>DUCTO GLANDULAR SECCIONADO</b>	<b>2,080</b>	<b>B</b>
<b>SIALOADENECTOMIZADO</b>	<b>2,190</b>	<b>B</b>
<b>NORMAL + NaCl</b>	<b>5,300</b>	<b>A</b>
<b>NORMAL + SALIVA</b>	<b>4,230</b>	<b>A</b>
<b>SIALOADENECTOMIZAO + NaCl</b>	<b>2,250</b>	<b>B</b>
<b>SIALOADENECTOMIZADO + SALIVA</b>	<b>2,180</b>	<b>B</b>

Médias seguidas por letras distintas diferem entre si ao nível de significância de 5 % . DMS = 1,233

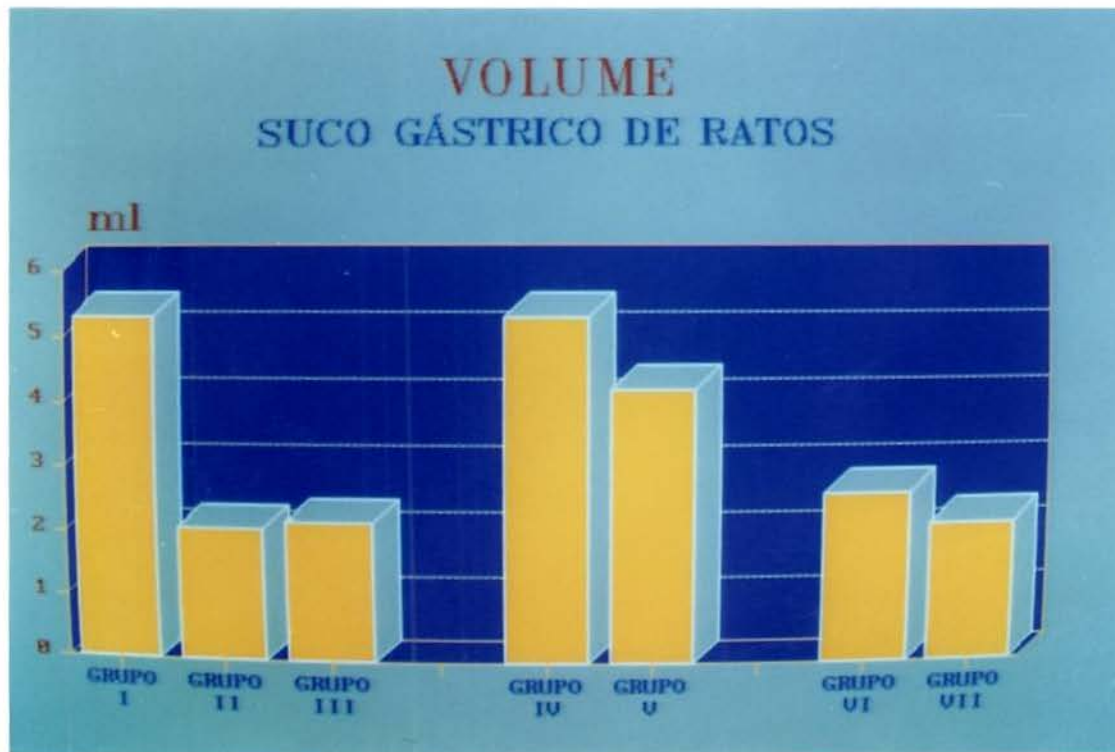


Figura 7-1 - Médias dos valores de volume ( ml ) do suco gástrico de ratos de diferentes grupos experimentais.

- GRUPO I - Cirurgia Simulada
- GRUPO II - Ducto Glandular Seccionado
- GRUPO III - Sialoadenectomizado
- GRUPO IV - Normal + NaCl
- GRUPO V - Normal + Saliva
- GRUPO VI - Sialoadenectomizado + NaCl
- GRUPO VII - Sialoadenectomizado + Saliva

Os dados obtidos revelaram que a secção dos ductos das glândulas submandibulares e sublinguais, assim como a remoção cirúrgica das mesmas, reduziram o volume do suco gástrico coletado 4h após a ligação do piloro. A administração intragástrica de saliva não provocou alterações estatisticamente significantes no volume do suco gástrico dos animais sialoadenectomizados em relação aos animais sialoadenectomizados que receberam NaCl.

## 7-2 - pH

Os resultados do teste de Tukey ( 5% ) para a comparação das médias de pH do suco gástrico entre os diferentes grupos experimentais estão contidos na tabela 7-2. Os valores das médias de pH também podem ser visualizados na fig. 7-2.

**TABELA 7-2 - Comparação das médias de pH do suco gástrico de ratos de diferentes grupos experimentais.**

GRUPO EXPERIMENTAL	MÉDIA	5 %
CIRURGIA SIMULADA	1,225	BC
DUCTO GLANDULAR SECCIONADO	2,007	AB
SIALOADENECTOMIZADO	2,073	A
NORMAL + NaCl	1,028	C
NORMAL + SALIVA	1,898	AB
SIALOADENECTOMIZADO + NaCl	1,710	ABC
SIALOADENECTOMIZADO + SALIVA	2,043	AB

Médias seguidas por letras distintas diferem entre si ao nível de significância de 5 % . D. M. S. = 0,838

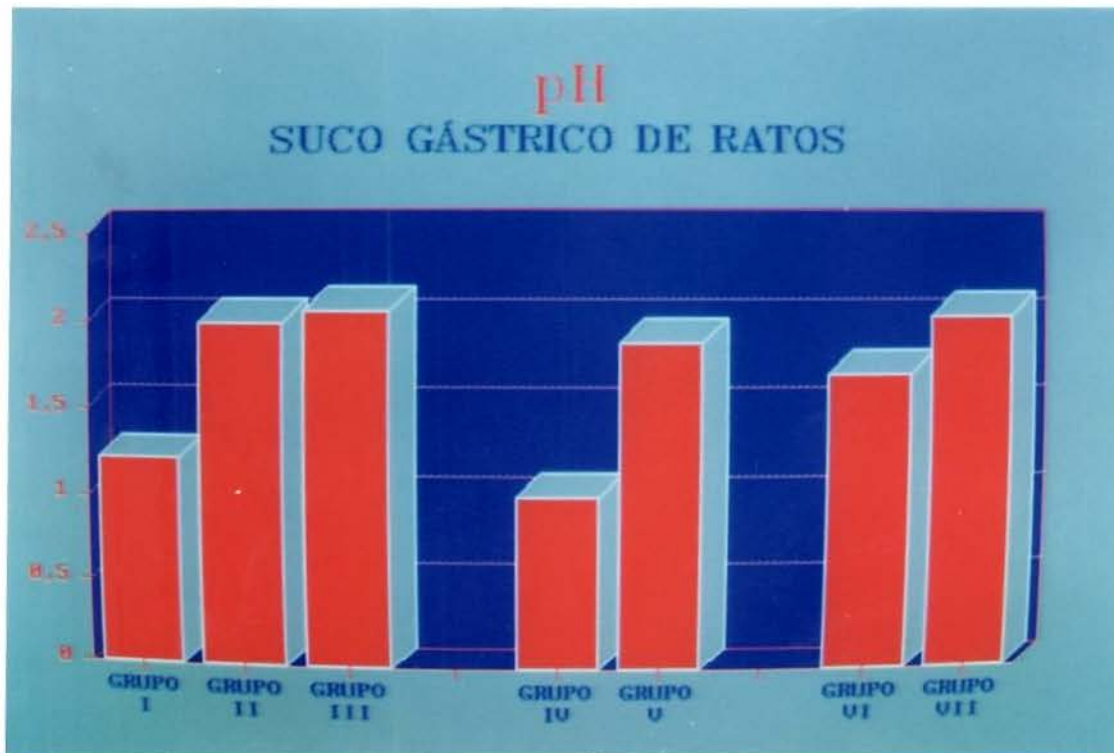
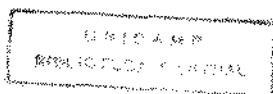


Figura7-2 - Médias de pH do suco gástrico de ratos de diferentes grupos experimentais.

- GRUPO I - Cirurgia Simulada
- GRUPO II - Ducto Glandular Seccionado
- GRUPO III - Sialoadenectomizado
- GRUPO IV - Normal + NaCl
- GRUPO V - Normal + Saliva
- GRUPO VI - Sialoadenectomizado + NaCl
- GRUPO VII - Sialoadenectomizado + Saliva

Nota - se que os animais sialoadenectomizados e os submetidos à secção dos ductos das glândulas submandibulares e sublinguais apresentaram um aumento no pH do suco gástrico em relação aos animais do grupo Cirurgia Simulada, embora o aumento observado nos ratos do grupo Ducto Glandular Seccionado não tenha sido estatisticamente significativo. Por outro lado, a administração intragástrica de saliva não determinou alterações estatisticamente significantes no pH do suco gástrico dos animais sialoadenectomizados em relação aos animais sialoadenectomizados que receberam NaCl, mas aumentou significativamente o pH do suco gástrico dos animais normais quando comparados com os animais normais que receberam NaCl .



### 7-3 - ACIDEZ LIVRE

A comparação das médias dos valores de acidez livre do suco gástrico entre os diferentes grupos experimentais, realizada pelo teste de Tukey, é demonstrada na tabela 7-3 e pode ser visualizada na figura 7-3.

**TABELA 7-3 - Comparação das médias dos valores de acidez livre do suco gástrico (  $\mu\text{Eq} / 4\text{h}$  ) de ratos de diferentes grupos experimentais.**

<b>GRUPO EXPERIMENTAL</b>	<b>MÉDIA</b>	<b>5 %</b>
<b>CIRURGIA SIMULADA</b>	<b>416,719</b>	<b>A</b>
<b>DUCTO GLANDULAR SECCIONADO</b>	<b>109,290</b>	<b>B</b>
<b>SIALOADENECTOMIZADO</b>	<b>146,950</b>	<b>B</b>
<b>NORMAL + NaCl</b>	<b>438,979</b>	<b>A</b>
<b>NORMAL + SALIVA</b>	<b>197,209</b>	<b>B</b>
<b>SIALOADENECTOMIZADO + NaCl</b>	<b>153,529</b>	<b>B</b>
<b>SIALOADENECTOMIZADO + SALIVA</b>	<b>149,750</b>	<b>B</b>

Médias seguidas por letras distintas diferem entre si ao nível de significância de 5 % . D.M.S. = 155,9



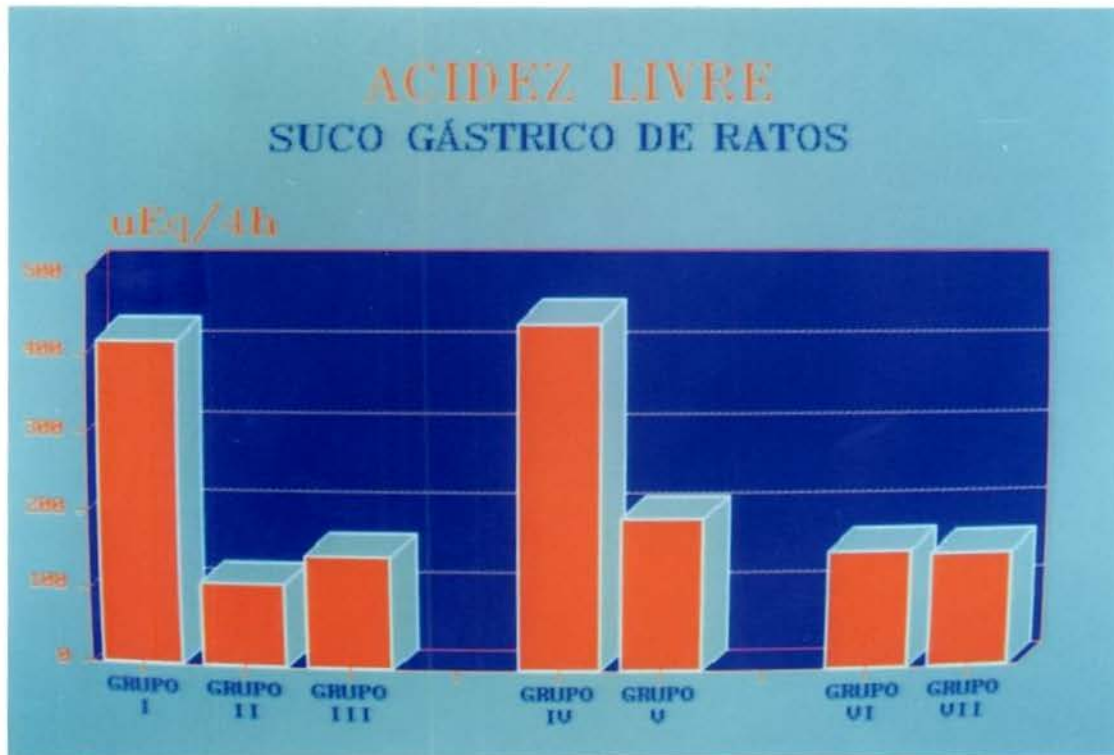


Figura 7-3 - Médias dos valores de acidez livre ( $\mu\text{Eq} / 4\text{h}$ ) do suco gástrico de ratos de diferentes grupos experimentais.

- GRUPO I - Cirurgia Simulada
- GRUPO II - Ducto Glandular Seccionado
- GRUPO III - Sialoadenectomizado
- GRUPO IV - Normal + NaCl
- GRUPO V - Normal + Saliva
- GRUPO VI - Sialoadenectomizado + NaCl
- GRUPO VII - Sialoadenectomizado + Saliva

Com base nos dados apresentados, observa-se que a remoção cirúrgica das glândulas submandibulares e sublinguais, assim como a secção de seus respectivos ductos reduziram a acidez livre do suco gástrico coletado 4h após a ligação do piloro quando comparada com a dos animais do grupo Cirurgia Simulada. Além disso, nota-se que a administração intragástrica de saliva também reduziu a acidez livre do suco gástrico dos ratos normais em relação aos ratos normais que receberam NaCl, mas não provocou alterações estatisticamente significantes na acidez livre do suco gástrico dos animais sialoadenectomizados quando comparada com a dos animais do grupo Sialoadenectomizado + NaCl.

### 7-4 - ACIDEZ TOTAL

A comparação das médias dos valores de acidez total do suco gástrico entre os diferentes grupos experimentais, realizada pelo teste de Tukey, apresenta-se na tabela 7-4 e pode ser visualizada na figura 7-4.

**Tabela 7-4 - Comparação das médias dos valores da acidez total do suco gástrico (  $\mu\text{Eq} / 4\text{h}$  ) de ratos de diferentes grupos experimentais.**

GRUPOS EXPERIMENTAIS	MÉDIAS	5 %
CIRURGIA SIMULADA	597,420	A
DUCTO GLANDULAR SECCIONADO	199,660	B
SIALOADENECTOMIZADO	219,030	B
NORMAL + NaCl	589,300	A
NORMAL + SALIVA	308,400	B
SIALOADENECTOMIZADO + NaCl	242,070	B
SIALOADENECTOMIZADO + SALIVA	247,000	B

Médias seguidas por letras distintas diferem entre si ao nível de significância de 5 % . D.M.S. = 156,299

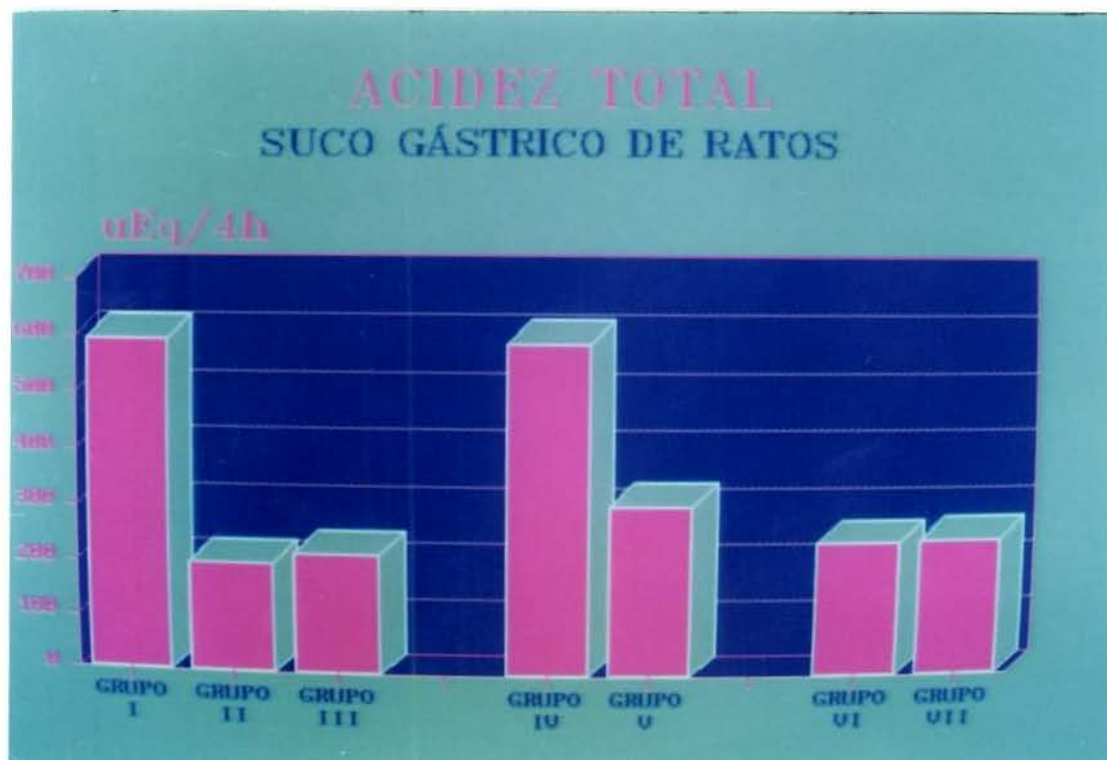


Figura 7-4 - Médias dos valores de acidez total (  $\mu\text{Eq} / 4\text{h}$  ) do suco gástrico de ratos de diferentes grupos experimentais.

- GRUPO I - Cirurgia Simulada
- GRUPO II - Ducto Glandular Seccionado
- GRUPO III - Sialoadenectomizado
- GRUPO IV - Normal + NaCl
- GRUPO V - Normal + Saliva
- GRUPO VI - Sialoadenectomizado + NaCl
- GRUPO VII - Sialoadenectomizado + Saliva

Os resultados da avaliação da acidez total do suco gástrico foram muito semelhantes aos da acidez livre, e demonstraram que a remoção cirurgica das glândulas submandibulares e sublinguais, assim como a secção de seus respectivos ductos também reduziram a acidez total do suco gástrico coletado 4h após a ligação do piloro quando comparada com a dos animais do grupo Cirurgia Simulada. Da mesma forma, a administração intragástrica de saliva reduziu a acidez total do suco gástrico dos ratos normais em relação aos ratos normais que receberam NaCl, mas não provocou alterações estatisticamente significantes na acidez total do suco gástrico dos ratos sialoadenectomizados quando comparada com a dos ratos do grupo Sialoadenectomizado + NaCl.

## 7-5 - ATIVIDADE PÉPTICA

Os resultados do teste de Tukey (5%) para as médias dos valores da atividade péptica do suco gástrico entre os diferentes grupos experimentais encontram-se na tabela 7-5 e podem ser visualizados na fig. 7-5.

**Tabela 7-5 - Comparação das médias dos valores da atividade péptica ( unidades enzimáticas totais ) \* do suco gástrico de ratos de diferentes grupos .**

GRUPO EXPERIMENTAL	MÉDIA	5 %
CIRURGIA SIMULADA	6,620	A
DUCTO GLANDULAR SECCIONADO	4,173	B
SIALOADENECTOMIZADO	2,383	C
NORMAL + NaCl	4,820	B
NORMAL + SALIVA	2,090	C
SIALOADENECTOMIZADO + NaCl	2,320	C
SIALOADENECTOMIZADO + SALIVA	1,380	C

Médias seguidas por letras distintas diferem entre si ao nível de significância de 5 % . D.M.S. = 1,333.

\* uma unidade enzimática = 0,2 µg de pepsina

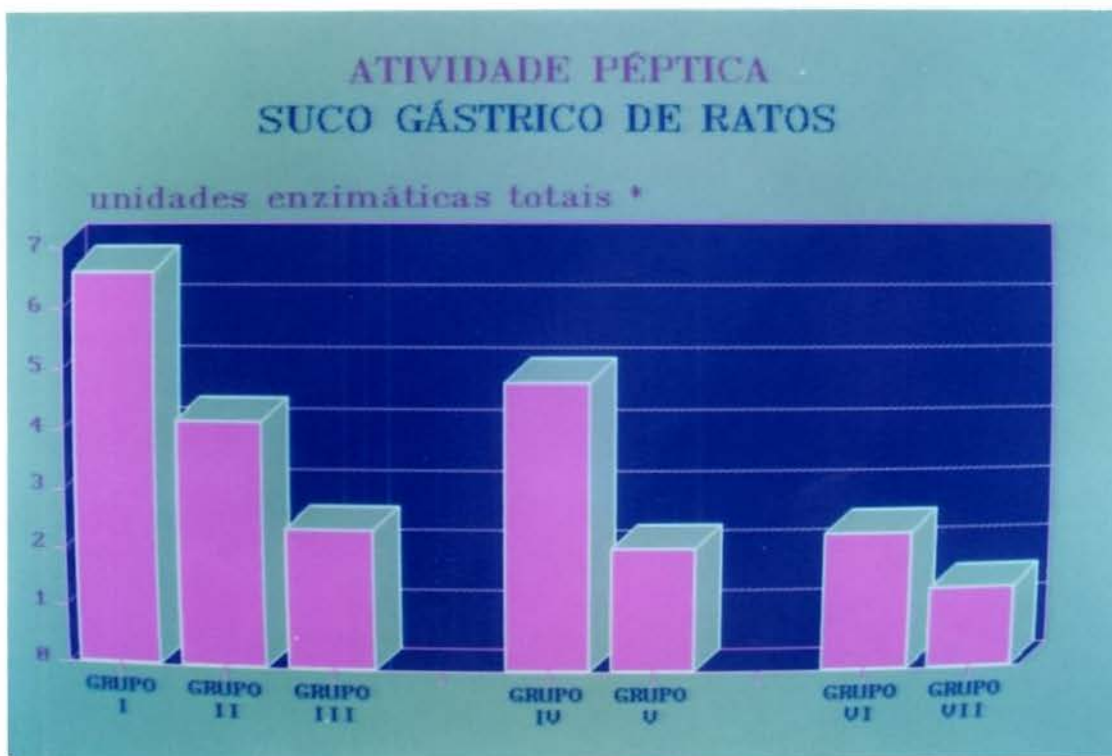


Figura 7-5 - Médias dos valores da atividade péptica do suco gástrico de ratos de diferentes grupos experimentais.

GRUPO I - Cirurgia Simulada

GRUPO II - Ducto Glandular Seccionado

GRUPO III - Sialoadenectomizado

GRUPO IV - Normal + NaCl

GRUPO V - Normal + Saliva

GRUPO VI - Sialoadenectomizado + NaCl

GRUPO VII - Sialoadenectomizado + Saliva

\* uma unidade enzimática = 0,2  $\mu$ g de pepsina

Como observado, tanto a sialoadenectomia como a secção dos ductos das glândulas submandibulares e sublinguais reduziram a atividade péptica do suco gástrico quando comparada com a dos animais do grupo Cirurgia Simulada. No entanto, os animais sialoadenectomizados apresentaram uma redução mais acentuada do que a observada nos animais submetidos à secção dos ductos glandulares, como demonstrado estatisticamente.

Quanto ao efeito da administração intragástrica de saliva, nota-se uma redução estatisticamente significativa na atividade péptica do suco gástrico apenas nos ratos normais, ou seja, a ação tópica da saliva no estômago dos ratos sialoadenectomizados não promoveu uma redução significativa na atividade péptica do suco gástrico dos mesmos.



## 7-6 - PESO GLANDULAR

A comparação das médias de peso das glândulas submandibulares e sublinguais entre os grupos experimentais, realizada pelo teste de Tukey, é demonstrada na tabela 7-6 e pode ser visualizada na figura 7-6.

**Tabela 7-6 - Comparação das médias dos valores de peso das glândulas submandibulares e sublinguais ( mg ) de ratos de diferentes grupos experimentais.**

GRUPO EXPERIMENTAL	MÉDIA	5 %
CIRURGIA SIMULADA	491,5	A
DUCTO GLANDULAR SECCIONADO	229,6	C
NORMAL + NaCl	452,2	AB
NORMAL + SALIVA	418,0	B

Médias seguidas por letras distintas diferem entre si ao nível de significância de 5 % . D.M.S. = 66,100

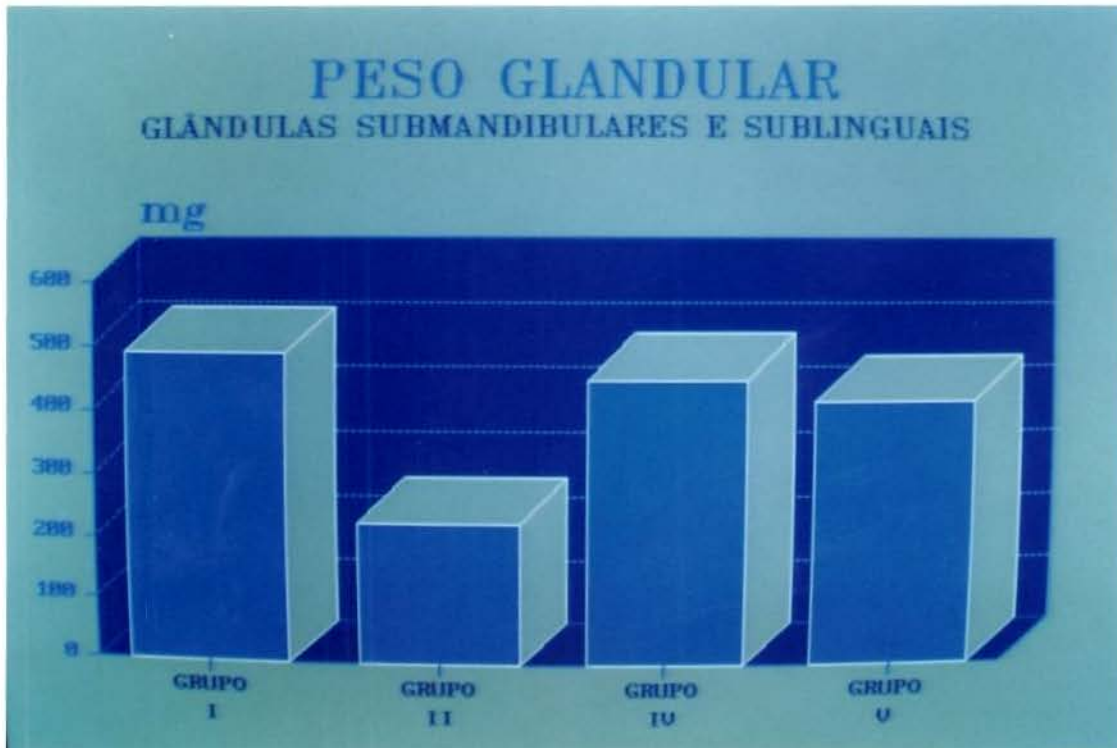


Figura 7-6 - Médias dos valores de peso das glândulas submandibulares e sublinguais ( mg ) de ratos de diferentes grupos experimentais.

GRUPO I - Cirurgia Simulada

GRUPO II - Ducto Glandular Seccionado

GRUPO IV - Normal + NaCl

GRUPO V - Normal + Saliva

Observa-se que a secção dos ductos das glândulas submandibulares e sublinguais reduziu o peso dessas glândulas em cerca de 50 %, demonstrando uma nítida atrofia, provavelmente decorrente da obliteração dos ductos das mesmas durante o período pós - operatório.

## 7 -7 - ANÁLISE HISTOLÓGICA

A análise histológica da mucosa gástrica e das glândulas submandibulares dos animais do grupo Cirurgia Simulada apresentou aspectos de normalidade. Observa-se a presença de células epiteliais de revestimento, do tipo colunares simples, secretoras de muco, e das glândulas gástricas que desembocam nas fovéolas gástricas e se encontram dispersas por toda a extensão da lâmina própria.

Nas glândulas gástricas distinguem-se três regiões distintas compostas por diferentes tipos celulares. A região do ístmo que situa-se na porção superior da glândula, na transição entre o colo e a fosseta gástrica, constituída por células indiferenciadas que dão origem às células epiteliais de revestimento, a região do colo que é constituída por células mucosas e pelas células oxínticas ou parietais que produzem ácido clorídrico e o fator intrínseco, e a região da base composta pelas células principais ou pépticas que secretam pepsinogênio ( figura 7-7-1 ).

Nas glândulas submandibulares desses animais, destaca-se a presença dos ácinos seromucosos, dos ductos granulosos e de escasso tecido intersticial ( figura 7-7-2 ).

Por outro lado, os animais submetidos à secção dos ductos das glândulas submandibulares e sublinguais apresentaram uma discreta atrofia na mucosa gástrica ( figura 7-7-3 ). No entanto,

essas alterações foram mais evidentes nas porções superiores das glândulas gástricas onde observa-se a presença de foveolas ectásicas e de ectasia luminal na região do corpo glandular.

As glândulas submandibulares desses animais apresentaram-se severamente atrofiadas, como observado pelo pequeno diâmetro dos ácinos e pela abundância de tecido intersticial ( figura 7-7-4 ).

Os animais sialoadenectomizados também apresentaram uma atrofia na mucosa gástrica, embora num grau muito mais severo do que o observado nos animais submetidos a secção dos ductos das glândulas submandibulares e sublinguais. O comprometimento celular foi geral, como observado pela presença de foveolas ectásicas e ectasia luminal na região do corpo e da base da glândula ( figura 7-7-5 ).

Os achados histológicos da mucosa gástrica dos animais dos grupos Sialoadenectomizado + Saliva e Sialoadenectomizado + NaCl, foram muito semelhantes aos dos animais sialoadenectomizados.

Da mesma forma, a estrutura da mucosa gástrica dos animais dos grupos Normal + Saliva e Normal + NaCl foi muito semelhante a dos animais do grupo Cirurgia Simulada, demonstrando que a ação tóxica da saliva na estômago não alterou as características histológicas da mucosa gástrica .



Figura 7-7-1 - Fotomicrografia da região fúndica da mucosa gástrica dos animais do grupo Cirurgia Simulada. Observa-se a presença de glândulas em toda extensão com tipos celulares preservados :células epiteliais de revestimento na região das fovéolas ( nº 1 ), células oxínticas ou parietais na região do corpo glandular ( nº 2 ), e as células principais na região da base da glândula ( nº 3 ).

Coloração - HE

Aumento - 80,6 vezes.

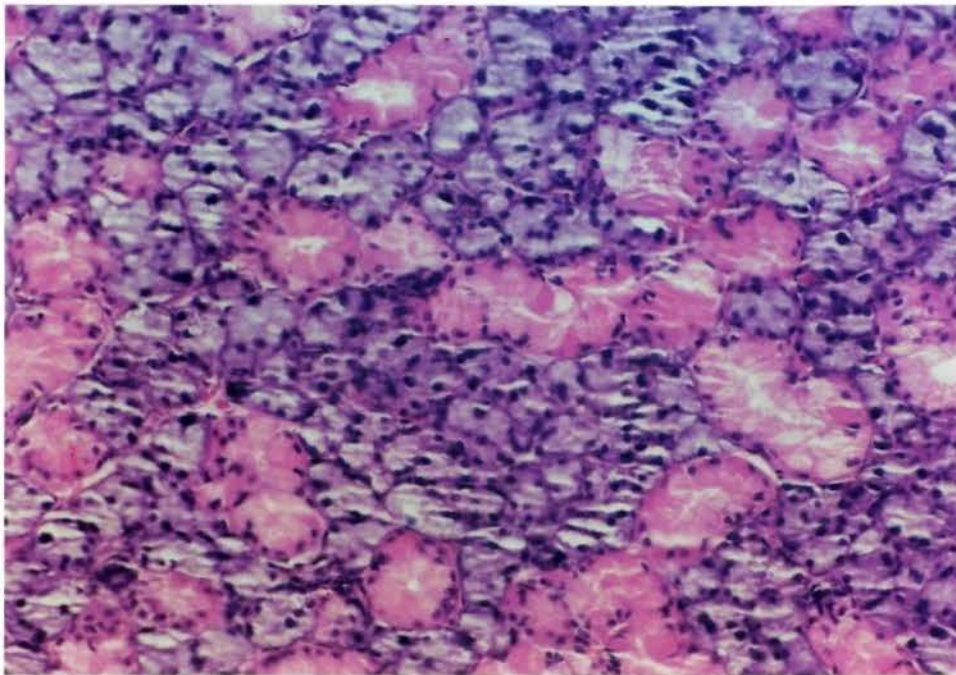


Figura 7-7-2 - Fotomicrografia das glândulas submandibulares dos animais do grupo Cirurgia Simulada.

O parênquima glandular apresenta-se com aspecto de normalidade, destacando-se a presença de ácinos (nº 1), e ductos granulosos repletos de secreção (nº 2). Escasso tecido intersticial.

Coloração - HE

Aumento - 320 vezes.





Figura 7-7-3 - Fotomicrografia da região fúndica da mucosa gástrica dos animais submetidos à secção dos ductos das glândulas submandibulares e sublinguais.

O aspecto geral é de uma discreta atrofia como observado pela presença de fovéolas ectásicas (nº 1) e de uma leve ectasia luminal na região do corpo glandular (nº 2). As células principais apresentam um menor grau de comprometimento.

Coloração - HE

Aumento - 160 vezes.



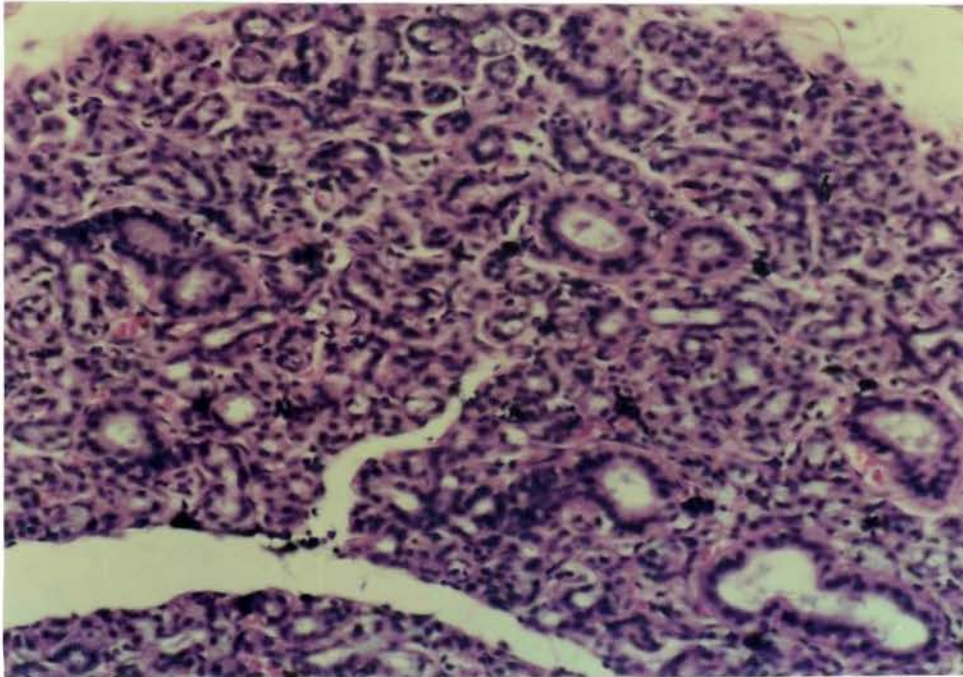


Figura 7-7-4 - Fotomicrografia da glândula submandibular dos animais submetidos à secção dos ductos das glândulas submandibulares e sublinguais.

O parênquima glandular apresenta uma atrofia severa. Os ácinos exibem pequeno diâmetro (nº 1) e as células variam entre o epitélio cúbico e pavimentoso. Igualmente atrofiadas estão as células ductais (nº 2), embora o seu diâmetro simule uma aparente ectasia. O tecido intersticial é bem mais abundante se comparado com o material do grupo Cirurgia Simulada.

Coloração - HE

Aumento - 320 vezes.

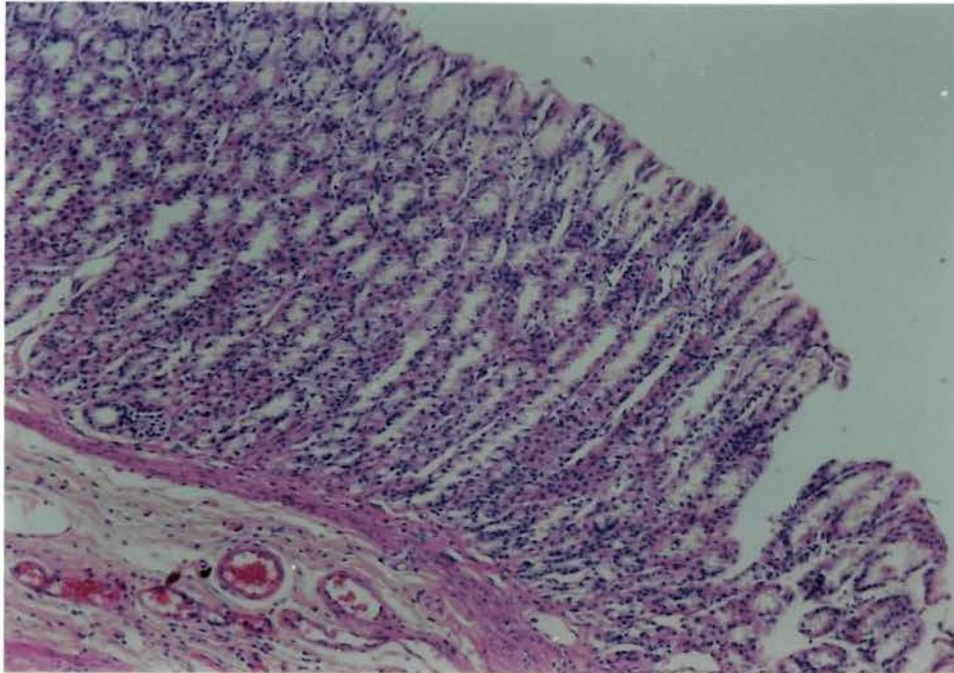


Figura 7-7-5 - Fotomicrografia da região fúndica da mucosa gástrica de ratos sialoadenectomizados.

O aspecto geral é de atrofia que se instalou nas células epiteliais de revestimento, como observa-se pela presença de fovéolas ectásicas (nº 1) e de ectasia luminal nas regiões do corpo (nº 2) e fundo (nº 3) glandulares, regiões estas não bem diferenciáveis neste caso.

Coloração - HE

Aumento - 160 vezes.

## **08 - DISCUSSÃO**

## 08 - DISCUSSÃO

Os resultados do presente trabalho revelam que a remoção cirúrgica das glândulas submandibulares e sublinguais promoveu, nas condições experimentais empregadas, uma nítida atrofia da mucosa gástrica em ratos.

Vários autores como **KONTUREK et al. ( 1988 )**, **YAMAGUCHI & TAKAHASHI ( 1989 )** e **TEPPERMAN & SOPER ( 1990 )** estudando a influência das glândulas salivares sobre o crescimento da mucosa gastrointestinal demonstraram que a remoção das glândulas submandibulares e sublinguais reduzia a síntese de DNA e RNA da mesma e sugeriram a participação do EGF nesse processo.

**KONTUREK et al. ( 1991 )** verificaram que a remoção das glândulas salivares induzia à formação de úlceras e diminuía a síntese de DNA da mucosa gástrica de ratos submetidos a diferentes tipos de estresse. Essas observações são concordantes com os dados apresentados acima, sendo inclusive possível que a influência da sialoadenectomia sobre a integridade da mucosa gástrica seja mediada pela redução do crescimento da mesma, ou seja, que essa atrofia aumente a susceptibilidade de formação de úlceras no estômago de ratos diante do estresse ou diante da ação tóxica de substâncias ulcerógenas.

As inter-relações existentes entre as glândulas salivares e a mucosa gástrica têm sido atribuídas principalmente ao EGF produzido pelas glândulas submandibulares e sublinguais. No entanto, devido às divergências encontradas na literatura, não ficou esclarecido se a mucosa gástrica sofre influência do EGF salivar ou do EGF liberado a partir das glândulas salivares na circulação sanguínea, ou seja, se a mucosa gástrica é influenciada pela ação tópica da saliva no estômago ou apenas pela presença das glândulas submandibulares e sublinguais independentemente de suas secreções.

A secção dos ductos das glândulas submandibulares e sublinguais foi realizada exatamente com esse objetivo, ou seja, o de verificar a influência dessas glândulas sobre a mucosa gástrica, eliminando-se a ação tópica da saliva no estômago. Os dados obtidos demonstraram que embora a secção dos ductos glandulares tenha produzido uma atrofia no complexo glandular submandibular-sublingual ela também produziu discreta atrofia na mucosa gástrica, em comparação com a atrofia gástrica observada nos animais sialoadenectomizados.

É bem possível que a redução no peso dessas glândulas esteja associada a uma obliteração dos ductos das mesmas durante o período pós-operatório.

Segundo MARTINEZ ( 1982 ), a ligação dos ductos das glândulas submandibulares e sublinguais causa uma progressiva

atrofia nas células acinares e altera suas respostas aos reguladores fisiológicos de secreção.

Diante disso, fica difícil determinar se a atrofia da mucosa gástrica foi decorrente da exclusão da secreção salivar para o estômago, ou foi devida à atrofia das glândulas submandibulares e sublinguais.

No entanto, a administração intragástrica de saliva nos ratos normais e sialoadenectomizados não provocou alterações na mucosa gástrica dos mesmos quando comparados com os ratos que receberam NaCl, sugerindo que o crescimento da mucosa gástrica deve ser influenciado principalmente por fatores produzidos nas glândulas salivares e liberados na circulação sanguínea e não pela ação tópica da saliva no estômago.

Segundo SKINNER et al. ( 1984 ) o efeito da sialoadenectomia sobre o crescimento da mucosa gástrica deve ser mediado por um fator trófico do tecido salivar, provavelmente o EGF, pois injeções intraperitoneais do extrato aquoso das glândulas submandibulares e sublinguais aumentavam a taxa de síntese de DNA e o conteúdo total de DNA e RNA na mucosa gástrica de ratos sialoadenectomizados.

TEPPERMAN & SOPER ( 1984 ) verificaram, em ratos, que a remoção das glândulas submandibulares e sublinguais aumentava a susceptibilidade das lesões da mucosa gástrica induzidas por sal de bile 30 dias após a cirurgia e que a administração parenteral de extrato de glândula salivar a partir do

12º dia pós - cirúrgico reduzia ou abolia o desenvolvimento dessas lesões enquanto que a administração intragástrica do extrato era totalmente ineficaz, sugerindo que o princípio ativo das glândulas salivares responsável pela manutenção da integridade da mucosa gástrica não atua como um fator exócrino.

Dessa forma, é bem provável que a atrofia da mucosa gástrica observada nos ratos submetidos à secção dos ductos das glândulas submandibulares e sublinguais seja devida principalmente à atrofia dessas glândulas e não à ausência da ação tópica da saliva no estômago.

Por outro lado, LI et al. ( 1983 ) verificaram que a secreção salivar estimulada por injeções intraperitoneais de isoproterenol aumentava o conteúdo de DNA e RNA das células intestinais de ratos normais e sialoadenectomizados. No entanto, os próprios autores não descartaram a possibilidade dessa resposta ter sido mediada por alterações metabólicas sistêmicas induzidas pelo isoproterenol.

Os dados obtidos referentes à secreção gástrica demonstraram que os ratos sialoadenectomizados e submetidos à secção dos ductos das glândulas submandibulares e sublinguais apresentaram uma diminuição no volume, acidez livre, acidez total e um aumento no pH do suco gástrico, ou seja, uma redução na secreção gástrica ácida em relação aos ratos do grupo Cirurgia Simulada, embora o aumento do pH do suco gástrico dos ratos



submetidos à secção dos ductos glandulares não tenha sido estatisticamente significante.

Essas observações são confirmadas pelas pesquisas de outros autores.

**LEVINE (1965), SKINNER & TEPPERMAN (1981) e EVANGELISTA et al. (1990)** demonstraram que a sialoadenectomia reduzia a secreção gástrica ácida.

A avaliação da atividade da pepsina demonstrou que tanto os ratos sialoadenectomizados como os submetidos à secção dos ductos glandulares apresentaram uma redução na atividade péptica do suco gástrico em relação aos ratos do grupo Cirurgia Simulada. No entanto, essa redução foi bem mais acentuada nos ratos sialoadenectomizados.

**LEITCH (1985)** verificou que a sialoadenectomia causava uma pequena redução na secreção gástrica ácida. No entanto, observou que os efeitos causados pela mesma tanto sobre a secreção gástrica ácida como sobre a secreção de pepsina, não eram estatisticamente significantes. Essa divergência de resultados pode ser explicada, pelo menos em parte, pela utilização de diferentes modelos e metodologias experimentais.

Além do EGF estimular o crescimento, a diferenciação celular, a cicatrização de úlceras gástricas e participar no processo de proteção da mucosa gástrica contra irritantes tópicos, ele também promove uma inibição na secreção gástrica como descrito por



inúmeros autores e comprovado recentemente por **KONTUREK et al. ( 1991 )** através de uma extensa revisão da literatura.

Assim sendo, era de se esperar que tanto a remoção como a atrofia das glândulas submandibulares e sublinguais, uma das maiores fontes produtoras do mesmo, estimulasse a secreção gástrica e não inibisse como observado.

No entanto, é bem provável que a atrofia da mucosa gástrica desencadeada pela sialoadenectomia e pela secção dos ductos glandulares tenha superado esse efeito estimulante proporcionado pela ausência do EGF proveniente das glândulas salivares e tenha contribuído na redução da secreção gástrica ácida e de pepsina. Como os ratos submetidos à secção dos ductos glandulares apresentaram um menor grau de atrofia gástrica e um menor comprometimento da atividade péptica em relação aos ratos sialoadenectomizados, nós sugerimos que durante esse processo de atrofia as células oxínticas sejam afetadas antes que as células principais.

A administração intragástrica de saliva promoveu alterações estatisticamente significantes no suco gástrico dos ratos normais tais como: aumento de pH, redução da acidez livre, acidez total e da atividade péptica, ou seja, reduziu a secreção gástrica ácida e de pepsina.

Segundo **RICHARDSON & FELDMAN ( 1986 )** existem três mecanismos teóricos através dos quais a saliva poderia reduzir a acidez gástrica:

1- A saliva deglutida poderia diluir os íons H no suco gástrico;

2- Os íons bicarbonato contidos na saliva poderiam neutralizar ou tamponar os íons H do suco gástrico;

3- A saliva poderia conter um inibidor da secreção gástrica ácida.

O mecanismo mais aceito e estudado pelos autores refere - se à presença de uma substância inibidora da secreção gástrica ácida na saliva, provavelmente o EGF. MENGUY & BERLINSKI ( 1967 ), KOBAYASHI et al ( 1972 ) verificaram, respectivamente, que a saliva e extratos de glândulas salivares reduzem a secreção gástrica quando injetados parenteralmente em animais experimentais.

É provável que os dois primeiros mecanismos, ou seja, que a influência exercida pelo volume de saliva deglutido e pelos íons bicarbonato contidos na secreção salivar sobre a acidez gástrica não apresentem grande importância, pois a administração intragástrica de saliva nos animais sialoadenectomizados não alterou a acidez gástrica e nem a atividade péptica do suco gástrico dos mesmos. Como os animais sialoadenectomizados apresentaram um alto grau de atrofia gástrica, é possível que no decorrer desse processo tenham ocorrido alterações na estrutura ou no número de receptores gástricos do fator inibidor da secreção gástrica ( EGF ) e que essas alterações tenham sido responsáveis pelo menos em parte pelo fato da administração intragástrica de saliva

não ter provocado alterações estatisticamente na acidez gástrica do suco gástrico desses animais.

Corroborando com essa hipótese podemos citar o trabalho de KONTUREK et al ( 1991 ). Esses autores demonstraram que a administração intragástrica de EGF na dosagem de 17nmol/Kg de peso não alterava o grau de lesões gástricas induzidas pelo sal de bile em animais sialoadenectomizados.

Diante disso, sugerimos que a saliva liberada no estômago reduziu a acidez do suco gástrico em virtude da interação do fator inibitório que contém, provavelmente o EGF, com receptores específicos localizados na mucosa gástrica.

## ***09 - CONCLUSÕES***

## 09 - CONCLUSÕES

A análise e discussão dos resultados obtidos neste trabalho permite-nos concluir que :

1 - A secção dos ductos das glândulas submandibulares e sublinguais reduziu a atividade péptica do suco gástrico e diminuiu a secreção gástrica ácida pelo aumento de pH e redução do volume, acidez livre e acidez total do suco gástrico.

2 - A secção dos ductos das glândulas submandibulares e sublinguais promoveu severa atrofia nessas glândulas e discreta atrofia na mucosa gástrica.

3 - A sialoadenectomia reduziu a atividade péptica do suco gástrico num grau muito maior do que a redução causada pela secção dos ductos das glândulas submandibulares e sublinguais e diminuiu a secreção gástrica ácida pelo aumento do pH e redução do volume, acidez livre e acidez total do suco gástrico.

4 - Os animais sialoadenectomizados apresentaram uma severa atrofia na mucosa gástrica.

5 - A administração intragástrica de saliva não alterou o volume do suco gástrico e não afetou a estrutura da mucosa gástrica dos animais sialoadenctomizados.

6 - A administração intragástrica de saliva reduziu a acidez gástrica e a atividade péptica do suco gástrico dos ratos normais.

## ***10 - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS***

## 10 - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 01 - BOWER, J. M. et al. The inhibition of gastric acid secretion by epidermal growth factor. Experientia, Basel, v. 31, n. 7, p. 825 - 826, Mar., 1975.
- 02 - CODE, F., et al. Ocurrence of gastric secretory inhibitor activity in fresh gastric and salivary mucin. Fedn. Proc., Bethesda, v. 8, p. 26 - 27, 1949.
- 03 - COHEN, S. Isolation of mouse submaxillary gland protein accelerating incisor eruption and eyelid opening in the new-born animal. J. biol. Chem., Baltimore, v. 239, p.1955 - 1959, 1962.
- 04 - ———, ELLIOT, G. A. The stimulation of epidermal queratinization by a protein isolated from the submaxillary gland of the mouse. J. Invest. Derm., Baltimore, v. 40, p.1, 1963.
- 05 - DEMBINSKI, A.B., JOHNSON, L.R. Effect of epidermal growth factor on the development of rat gastric mucosa. Endocrinology, Baltimore, v. 13, p. 90-94, 1984.



- 06 - ELDER, J. B. , WILLIAMS, G. , LACEY, E. et al  
Cellular localisation of human urogastrone / epidermal growth factor. Nature, London, v. 271, p. 466-467, 1978.
- 07 - -----, et al. Effect of urogastrone on gastric secretion and plasma gastrin levels in normal subjects. Gut London, v. 16, p. 887 - 893, 1975.
- 08 - EVANGELISTA, S. , RENZI, D. , GUZZI, P. et al  
Interactions between sialoadenectomy and capsain sensitive afferent fibers on gastric acid secretion in rats. Life Sci., Krakow ,v. 48, n. 7, p. 37 - 41, Nov.,1990.
- 09 - GRAY, J. S. , WIECZOROWSKI, E. , IVY, A. C.  
Inhibition of gastric secretion in man with urogastrone. Am. J. dig. Dis., New York, v. 7, p. 513 - 515, Mar. , 1940.
- 10 - GREGORY, H. The isolation and structure of urogastrone and its relationship to epidermal growth factor. Nature, London, v. 257, p. 325 - 327, 1975.
- 11 - GREGORY, H., WILLSHIRE, I. R. The isolation of the urogastones inhibitor of gastric acid secretion from human urine. Hoppe - Seyler's Z. Physiol. Chem., Berlin, v. 356, p. 1765 - 1774, 1975.

- 12 - GREGORY, H. , WALSH, S. , HOPKINS, C. R. The identification of urogastrone in serum, saliva and gastric juice. Gastroenterology, Baltimore, v. 77, p. 313 - 318, 1979.
- 13 - HEITZ, U. , et al . Immunohistochemical localisation of urogastrone to human duodenal and submandibular glands. Gut, London, v. 19, p. 408 - 413, 1978.
- 14 - HIRATA, Y. , ORTH, D. N. Concentrations of epidermal growth factor, nerve growth factor and submandibular gland renin in male and female mouse tissue and fluids. Endocrinology, Baltimore, v. 105, p. 1382 - 1397, Aug., 1979.
- 15 - HOLLENBERG, M. D. , GREGORY, H. Human urogastrone and mouse epidermal growth factor share a common receptor site in cultured human fibroblasts. Life Sci., Krakow, v. 20, p. 267 - 274, 1976.
- 16 - JAWOREK, J., KONTUREK, S. J. Distribution release and secretory activity of epidermal growth factor in the pancreas. Int. J. Pancreatol, v. 6, p. 189-196, 1990.

- 17 - JOHNSON, L. R. , GUTHRIE, P. D. Stimulation of rat oxyntic gland mucosal growth by epidermal growth factor. Am. J. Physiol., Bethesda, v. 238, p. G45 - G 49, 1980.
- 18 - KOBAYASHI, M. , YAMAMOTO, M. Studies on the inhibitory substances of the gastric secretion in salivary glands ( II ). Extraction and purification of inhibitory substance of gastric secretion from mouse submaxillary glands. Yakugakuzasshi, Tokyo, v. 92, n. 3, p. 226 - 231, 1972.
- 19 - ———, MORIMOTO, T., YAMAMOTO, M. Studies on the inhibitory substances of gastric secretion in salivary glands ( I ). The inhibitoractivity of gastric secretion in mouse submaxillary glands, and its specificity. Yakugakuzasshi, Tokyo, v. 92, n. 3, p. 221 - 225, 1972.
- 20 - KONTUREK, J. W. , BRZOZOWSKI, T. , KONTUREK, S. J. Epidermal growth factor in protection, repair, and healing of gastroduodenal mucosa. J. Clin. Gastroenterol. , New York , v. 13, 1991. [suppl. 1].
- 21 - KONTUREY, S. J. et al. Effects of epidermal growth factor on gastrointestinal secretions. Am. J. Physiol., Bethesda, v. 246, p. G580 - G586, 1984.

- 22 - KONTUREK, S. J. et al. Role of epidermal growth factor in healing of chronic gastroduodenal ulcers in rats. Gastroenterology, Baltimore, v. 94, p. 1300 - 1307, 1988.
- 23 - ———. et al. Role of salivary glands and epidermal growth factor in gastric secretion and mucosal integrity in rats exposed to stress. Regul. Pept., v. 32, p. 203 - 215, 1991.
- 24 - KUWAHARA, Y., OKABE, S. Effects of human epidermal growth factor on natural and delayed healing of acetic acid induced gastric ulcers in rats. Scand. J. Gastroenterol., v. 24, n. 162 - 165, 1989.
- 25 - LEITCH, G. J. Role of salivary glands in protecting the stomach against ethanol. Alcohol Alcoholism, v. 20, n. 3, p. 305 - 311, 1985.
- 26 - LEVINE, R. J. Stimulation by saliva of gastric acid secretion in the rat. Life Sci., Krakow, v. 4, p. 959 - 964, 1965.
- 27 - LI, A. K. C. et al. Hypersecretion of submandibular saliva in male mice : trophic response in small intestine. Gastroenterology, Baltimore, v. 84, p. 949 - 955, 1983.

- 28 - MACCINI, D. M. , VEIT, B. C. Salivary epidermal growth factor in patients with and without acid peptic disease. Am. J. Gastroent. , New York, v.85, n . 9, p. 1102 - 1104, May, 1990.
- 29 - MARTINEZ, J. R. , BYLUND, D. B. , CASSITY, N. Progressive secretory dysfunction in the rat submandibular gland after excretory duct ligation. Archs Oral. Biol. , Oxford, v. 27, p. 443 - 450, 1982.
- 30 - MENGUY, R. , BERLINSKI, M. Source of sialogastrone a gastric inhibitory substance in human saliva. Dig. Dis. , New York, v. 12, p. 1 - 6, Jan., 1967.
- 31 - ———., MASTERS, Y. F. , MANZI, J. Characterization and parcial purification of sialogastrone. Surgery, v. 62, n. 5, p.891 - 898, 1967.
- 32 - OLSEN, P. S. et al. Adrenergic effects on exocrine secretion of rat submandibular epidermal growth factor. Gut, London, v. 25, n. 11, p. 1234 - 1240, Nov., 1984.

- 33 - OLSEN, P. S. et al. Effect of sialoadenectomy and synthetic human urogastrone on healing of chronic gastric ulcers in rats. Gut, London, v. 27, p. 1443 - 1449, 1986.
- 34 - -----, et al. Role of submandibular saliva and epidermal growth factor in gastric cytoprotection. Gastroenterology, v. 87, Baltimore, p. 103 - 108, 1984.
- 35 - ORSINI, B. et al. Radioimmunoassay of epidermal growth factor in human saliva and gastric juice. Clin. Biochem., v. 24, p. 135 - 141, 1991.
- 36 - RENZI, A. et al. Involvement of the Central Nervous System in the Salivary Secretion Induced by Pilocarpine in Rats. J. Dent. Res., v. 72, n. 11, p. 1481-1484, Nov., 1993.
- 37 - RICHARDSON, C. T., FELDMAN, M. Salivary response to food in humans and its effect on gastric acid secretion. Am. J. Physiol., v. 250, Bethesda, p. G85 - G91, 1986.

- 38 - SAROSIEK, J. et al. Role of salivary epidermal growth factor in the maintenance of physicochemical characteristics of oral and gastric mucosal mucus coat. Biochem. biophys. Res. Commun., New York, v. 152, n. 3, 1988.
- 39 - SAVAGE, C. R., INAGAMI, T., COHEN, S. The primary structure of epidermal growth factor. J. Biol. Chem., Baltimore, v. 247, n. 23, p. 7612 - 7621, Dec., 1972.
- 40 - SCHLAMOWITZ, M., PETERSON, L. U. Studies on the optimum pH for the action of pepsin on "native" and denatured bovine serum albumin and bovine hemoglobin. J. Biol. Chem., Baltimore, v. 234, n. 12, p. 3137 - 3145, Feb., 1959.
- 41 - SHAY, H., SUN, D. C. H., GRUENSTEIN, M. A quantitative method for measuring spontaneous gastric secretion in the rat. Gastroenterology, v. 26, p. 906 - 909, 1954.
- 42 - SKINNER, K. A., TEPPERMAN, B. L. Influence of desalivation on acid secretory output and gastric mucosal integrity in the rat. Gastroenterology, Baltimore, v. 81, p. 335 - 339, 1981.

- 43 - SKINNER, K. A. , SOPER, B. D. , TEPPERMAN, B. L.  
Effect of sialoadenectomy and salivary gland extracts on  
gastrointestinal mucosal growth and gastrin levels in the  
rat. Am. J. Physiol., Bethesda, v. 351, p. 1 - 12, 1984.
- 44 - SUKHODOLO, V. D. , VASILYEV, V. N. The secretory  
and excretory activities of the stomach at saliva loss  
and resection of salivary glands. Sechenov Physiol.  
J. USSR London, v. 66, p. 1303 - 1387, 1980.
- 45 - (A) TEPPERMAN, B. L. , KIERNAN, J. A. , SOPER,  
B. D.  
The effect of sialoadenectomy on gastric mucosal  
integrity in the rat : Roles of epidermal growth  
factor and prostaglandin E2. Can. J. Physiol.  
Pharmac. , v. 67, p. 1512 - 1518, 1989.
- 46 - -----, SOPER, B. D. Effect of sialoadenectomy on ethanol  
induced gastric mucosal damage in the rat : Role of  
neutrophils. Can. J. Physiol. Pharmacol. , v. 68,  
p. 207 - 210, May, 1989.
- 47 - -----, SOPER, B. D. Effect of sialoadenectomy on  
gastric mucosal integrity and growth in the rat. Dig. Dis. ,  
New York, v. 35, n. 8, p. 943 - 949, 1990.



- 48 - TEPPERMAN, B. L., SOPER, B. D. Parenterally administered salivary tissue extracts reduce output of Na in the rat. Gastroenterology, Baltimore, v. 97, p. 123-129, 1989.
- 50 - VALDEZ, I. H., FOX, P. C. Interactions of the salivary and gastrointestinal systems II : effects of salivary gland dysfunction on the gastrointestinal tract. Dig. Dis., Baltimore, v. 9, p. 210 - 218, 1991.
- 51 - VASILYEV, V. N., SUKHODOLO, V. D. Secretory and excretory functions of the stomach after removal of the submandibular salivary glands. Biull. eksp. Biol. Med., v. 90, n. 11, p. 525 - 527, 1980.
- 52 - YAMAGUCHI, T., TAKAHASHI, T. Effect of salivarectomy on the growth of gastrointestinal mucosa and urinary secretions of epidermal growth factor in rats. Gastroent., Japan, v. 24, p. 626 - 631, June, 1989.

***11 - APÊNDICE***

## 11 - APÊNDICE

Tabela 7 - Análise de variância do volume do suco gástrico dos ratos.

CAUSAS DA VARIÇÃO	G.L.	S.Q.	Q.M.	VALOR F	PROB.>F
GRUPOS	6	132.0159225	22.0026587	26.8138 s.*	0.0001
RESÍDUO	63	51.6960510	0.8205722		
TOTAL	69	183.7120035			

s.\* - Significante ao nível de 5 %

Tabela 8 - Análise de variância do pH do suco gástrico dos ratos.

CAUSAS DA VARIÇÃO	G.L.	S.Q.	Q.M.	VALOR F	PROB.>F
GRUPOS	6	10.6653274	1.7775546	4.6884 s.*	0.00076
RESÍDUO	63	23.8857921	0.3791396		
TOTAL	69	34.5511195			

s.\* - Significante ao nível de 5 %

Tabela 9 - Análise de variância da acidez livre do suco gástrico dos ratos

CAUSAS DA VARIACÃO	G.L.	S.Q.	Q.M.	VALOR F	PROB.>F
GRUPOS	6	1133672.2162007	188945.3693668	14.3949	0.0001
RESÍDUO	63	826928.7683756	13125.8534663	s.*	
TOTAL	69	1960600.9845763			

s.\* - Significante ao nível de 5%

Tabela 10 - Análise de variância da acidez total do suco gástrico dos ratos.

CAUSAS DA VARIACÃO	G.L.	S.Q.	Q.M.	VALOR F	PROB.>F
GRUPOS	6	1796875.7579666	299479.2929944	22.7169	0.0001
RESÍDUO	63	830535.7790105	13183.1076033	s.*	
TOTAL	69	2627411.5360771			

s.\* - Significante ao nível de 5 %

Tabela 11 - Análise de variância da atividade péptica do suco gástrico dos ratos.

CAUSAS DA VARIACÃO	G.L.	S.Q.	Q.M.	VALOR F	PROB.>F
GRUPOS	6	220.7253921	36.7875653	38.3445 s.*	0.00001
RESÍDUO	63	60.4419788	0.9593965		
TOTAL	69				

s. \* - Significante ao nível de 5 %

Tabela 12 - Análise de variância do peso das glândulas submandibulares e sublinguais dos ratos.

CAUSAS DA VARIACÃO	G.L.	S.Q.	Q.M.	VALOR F	PROB.>F
GRUPOS	6	3117492.9428571	519582.1571429	220.3628 s.*	0.00001
RESÍDUO	63	148544.5000000	2357.8492063		
TOTAL	69				

s. \* - Significante ao nível de 5 %