

SIALOADENOPATIA CHAGÁSICA. ESTUDO EXPERIMENTAL DA GLÂNDULA SUBMANDIBULAR.

Arlete Scarrassolo MARTINI*
Rosa Domingues RIBEIRO**
Lídia Sabbag UTRILLA***
Youghanna SABBAG***

RESUMO: Estudo histológico e histoquímico de glândulas submandibulares de camundongos inoculados experimentalmente pelo *Trypanosoma cruzi*, na fase aguda da doença, quando comparadas com glândulas de camundongos normais, mostrou as seguintes alterações: sinais de degeneração citoplasmática e atrofia das células acinosas e dos ductos granulosos, bem como, redução quantitativa dos grânulos de secreção, sendo esta maior ao nível dos ductos granulosos. Como conseqüência, houve atrofia dessas glândulas e diminuição da atividade secretora.

UNITERMOS: Infecção experimental; *Trypanosoma cruzi*; sialoadenopatia; glândula submandibular.

Com respeito à Doença de Chagas, a análise da literatura tem demonstrado aspectos anátomo-clínicos nitidamente diferentes das glândulas salivares conforme a evolução ou fase em que se encontra a doença.

Pacientes na fase crônica apresentam hipertrofia glandular (CORREIA NETO, 1935; VIEIRA & HADLER, 1961; BRENER & ANDRADE, 1979), enquanto que em camundongos e ratos infectados experimentalmente pelo *T. cruzi*, na fase aguda da infecção, ocorre atrofia e diminuição na atividade de síntese das glândulas salivares (RIBEIRO *et alii*, 1977).

É, pois, nosso propósito verificar possíveis alterações estruturais e modificações histoquímicas das glicoproteínas em glândula submandibular de camundongos inoculados pelo *T. cruzi* na fase aguda.

Considerando que, entre os poucos relatos da literatura, alguns deles merecem melhores esclarecimentos; que a glândula submandibular constitui exemplo típico de órgão produtor de glicoproteínas e que ainda colabora com a maior parcela do volume total da saliva (BHASKAR, 1978) acreditamos justificar a presente pesquisa.

MATERIAL E MÉTODOS

1 — Amostra do *T. cruzi* — Foi utilizada a amostra M-92 isolada por RIBEIRO *et alii*, (1980) de um exemplar do símio *Callithrix jacchus* e que vem sendo mantida através de repiques semanais em camundongos.

2 — Camundongos — Foram selecionados 30 camundongos brancos, machos, com idade média de 36 dias e com peso médio de 30 gramas e distribuídos em 2 grupos:

* Departamento de Ciências Bioclínicas — Faculdade de Ciências Farmacêuticas — UNESP — 14.800 — Araraquara — SP.

** Faculdade de Farmácia e Odontologia — USP — 14.100 — Ribeirão Preto — SP.

*** Departamento de Morfologia — Faculdade de Odontologia — UNESP — 14.800 — Araraquara — SP.

a) Grupo controle, com 10 camundongos normais e b) Grupo experimental, com 20 camundongos inoculados intraperitonealmente com 20.000 formas sanguícolas do tripanossomo, por grama de peso corpóreo.

3 — Parasitemia — As contagens dos tripanossomos do sangue foram efetuadas segundo técnica de BRENER (1961) e os animais sacrificados no 7.º dia, época em que ocorreu a parasitemia máxima.

Anestesiados os animais pela inalação de éter sulfúrico, as glândulas submandibulares foram removidas e fixadas respectivamente em Bouin e Formol a 10%, durante 20 horas cada.

A seguir foram lavadas, desidratadas e incluídas em parafina segundo rotina histológica.

Em material fixado pelo líquido de Bouin, as modificações estruturais do adênomo foram aferidas em microscopia óptica utilizando-se cortes de 6 micrômetros de espessura, corados pelo H/E e Tricrômico de Mallory.

Para análise histoquímica das mucosubstâncias, o material foi submetido aos seguintes métodos: Ácido periódico — reativo de Schiff (PAS) (McMANUS, 1946); Acetilação + PAS (McMANUS & CASON, 1950); Alcian blue pH 2,5 (AB) segundo LISON, 1960; Hidrólise ácida + Alcian blue segundo QUINTARELLI *et alii*, 1961.

Métodos destinados à evidenciação de proteínas:

1 — Tirosina reagente de Millon modificado por BENSLEY & GERSH, 1933, com controle pela iodação (PEARSE, 1968).

2 — Triptofano (indol), p-dimetilaminobenzoaldeído em meio ácido (PABA) segundo LISON & PINHEIRO, 1957, com controle pelo ácido perfórmico segundo TOENNIES, 1942.

RESULTADOS

1 — Morfológicas

No parênquima da glândula submandibular de camundongo, além dos componen-

tes comuns de qualquer glândula salivar (ácinos, ductos de natureza intercalar, estriado e excretor) salienta-se a presença marcante dos ductos granulosos (Fig. 1).

Nos animais inoculados pelo *T. cruzi* ocorrem modificações evidentes ao nível dos ácinos e dos ductos granulosos. Observa-se nítida atrofia dos ácinos, caracterizada pela presença de células mais baixas e algumas com vacúolos citoplasmáticos, poucos grânulos citoplasmáticos e diminuição do seu diâmetro e aumento do lume. O comprometimento vacuolar do parênquima acinoso não é uniforme. Assim num mesmo lóbulo pode-se encontrar ácinos comprometidos e outros não (Fig. 2).

Nos ductos granulosos ocorre também atrofia definida por células mais baixas, com escassez de grânulos acidófilos no citoplasma e núcleo mais denso, diminuição do seu diâmetro e aumento do lume (Fig. 2).

O resto do parênquima permanece semelhante ao grupo controle.

2 — Histoquímicos

Na Tabela 1 estão agrupados os resultados histoquímicos obtidos nas glândulas submandibulares de animais dos grupos controle e experimental.

A análise das reações para sialomucinas demonstra serem os ácinos, os locais de sua maior concentração enquanto que os aminoácidos (Triptofano e tirosina) são detectados nos ductos granulosos. Demonstra ainda, que a concentração dessas substâncias é mais discreta no grupo experimental (Figs. 3 e 4).

DISCUSSÃO

A análise dos nossos resultados demonstra diminuição no tamanho das células acinosas com escassez de granulações acidófilas, bem como moderado índice de vacuolização citoplasmática no parênquima acinoso, cujos achados estão de acordo com os de RIBEIRO *et alii*, (1977). Entretanto, constata-se comprometimento também dos ductos granulosos caracterizado por células mais baixas, poucos grânulos de secreção e

TABELA 1 — Resultado histoquímico das sialomucinas e proteínas na glândula submandibular de camundongos dos grupos controle e experimental.

MÉTODOS	Grupo Controle					Grupo Experimental				
	Ácinos	DI	DG	DE	DEX	Ácinos	DI	DG	DE	DEX
PAS	++	+	++	+	+	+	+	+	+	+
Acetilação + PAS	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
AB pH 2,5	++	—	±	—	—	+	—	—	—	—
Hidrólise ácida AB pH 2,5	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Tirosina — Millon	—	—	+++	—	—	—	—	—	—	—
Iodação + Millon	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
PABA	—	—	+++	—	—	—	—	+	—	—
Ác. Perfórmico + PABA	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

PAS = Ácido Periódico-Schiff

AB = Alcian blue

PABA = P-dimetilaminobenzoaldeido

DI = Ducto Intercalar

DG = Ducto granuloso

DE = Ducto estriado

DEX = Ducto excretor

núcleos mais densos. Há pois, atrofia acinosa e dos ductos granulosos.

A sialomucina estava presente nas células acinosas e nos ductos granulosos da submandibular. Tais resultados coincidem com as observações de QUINTARELLI *et alii*, (1961), JUNQUEIRA & FAVA DE MORAES (1965) e UTRILLA (1977). A concentração da mucina foi sempre menor no Grupo Chagásico.

As reações para os aminoácidos, tirosina e triptofano foram fortemente positivas nos ductos granulosos do grupo controle corroborando os achados de UTRILLA (1977), enquanto no grupo experimental obteve-se fraca reação, restrita a uma pequena porção apical do citoplasma.

A concentração sempre menor das sialomucinas e proteínas no Grupo Chagásico, demonstra que a atividade secretora da glândula submandibular diminuiu frente à ação do *T. cruzi*, na fase de parasitemia máxima, reforçando os achados de UTRILLA *et alii*, (1982) obtidos na glândula parótida.

Assim, considerando o fato de que o *T. cruzi* afeta o Sistema Nervoso Autônomo (BRENER & ANDRADE, 1979), e o conceito de RIBEIRO DOS SANTOS *et alii*, (1979)

de que é "pouco provável que anticorpos antineurônios sejam a causa primária da destruição neuronal, mas sim, que a patogênese da doença causaria destruição neuronal, alterando os componentes celulares e induzindo à formação de anticorpos auto-reativos", haveria perpetuação do processo da doença, por hipersensibilidade maior ou menor, de código genético.

Apoiados nesses conceitos somos levados a admitir que na fase aguda da doença haveria comprometimento do segmento parassimpático, determinando como consequência, atrofia da glândula submandibular dos camundongos.

O estudo da glândula submandibular na fase crônica está sendo realizado por nós, a fim de complementarmos em parte, o assunto.

RESUMO E CONCLUSÕES

Camundongos infectados experimentalmente com o *Trypanosoma cruzi*, na fase aguda da doença, mostraram atrofia das glândulas submandibulares, quando comparadas com as de camundongos não inoculados do grupo controle.

Pelo estudo histológico e histoquímico das glândulas submandibulares na fase de parasitemia máxima pudemos concluir que essa alteração pode ser caracterizada por: atrofia dos ácinos cujas células apresentam-se mais baixas, núcleos condensados e redução da basofilia citoplasmática; atrofia dos

ductos granulosos, cujas células tornam-se cilíndricas baixas, com núcleos mais condensados e redução de grânulos acidófilos e, diminuição das sialomucinas e das proteínas respectivamente, ao nível dos ácinos e dos ductos granulosos.

AGRADECIMENTOS

Agradecemos a colaboração dos Técnicos Gêssia Maria C. C. Ribeiro e João Luiz

dos Santos e dos Auxiliares de Laboratório Heloisa Margaret Bono Zanin e Maria Ze-naide Tita Fernandes.

MARTINI, A.S.; RIBEIRO R.D.; UTRILLA, L.S. & SABBAG, Y — Sialoadenopathy in Chagas' disease. An experimental study of the submandibular glands. **Rev. Odont. UNESP**, São Paulo, 11(1/2) 47-52, 1982.

ABSTRACT: *It was studied the submandibular gland of normal mice and inoculated T. cruzi mice in the acute phase of the disease. The alterations as seen by histological and histochemical methods, showed signs of cytoplasmatic degeneration and acinar cells and granulous ducts atrophy. In addition there was also a quantitative reduction of granules of secretion, especially at the level of the granulous ducts. Consequently, there was a secretory activity diminuition and atrophy of these glands.*

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BENSLEY, R.R. & GERSH, I. 1933. Studies on cell structure by freezing-drying method; nature of mitochondria in hepatic cell. *Anat. Rec.*, 57:217-237.
- BHASKAR, S.N. 1978. *Histologia e Embriologia Oral de Orban*. 8.^a ed. São Paulo, Artes Médicas. p. 335-368.
- BRENER, Z. 1961. *Contribuição ao estudo da terapêutica experimental da Doença de Chagas*. Belo Horizonte, (Tese de Livre Docência).
- BRENER, Z. & ANDRADE, Z. 1979. *Trypanosoma cruzi e Doença de Chagas*. Rio de Janeiro, Guanabara Koogan. p. 351-352.
- CORREIA NETO, A. 1935. *Patogenia, diagnóstico e tratamento do megaloesôfago (Mal de engasgo)*. São Paulo, Edit. Nacional.
- JUNQUEIRA, L.C.U. & FAVA DE MORAES, F. 1965. Comparative aspects of the vertebrate major salivary glands biology, *In: BOTHERMAN, W.*, ed. *Secretion und Excretion*. Berlin, Springer, Verlag. p. 36-48.
- LISON, L. 1960. *Histochimie et cytochimie animales: principes et méthodes*. 3.^a ed. Paris, Gauthiers-Villars.
- LISON, L. & PINHEIRO, P. 1957. - apud LISON, L., 1960.
- McMANUS, J.F.A. 1946. Histological demonstration of mucin after periodic acid. *Nature*, 158:202.
- McMANUS, J.F.A. & CASON, J.E. 1950. Carbohydrates histochemistry studied acetylation techniques. I- Periodic acid method. *J. exp. Med.*, 91:651-654.
- PEARSE, A.G.E. 1968. *Histochemistry theoretical and applied*. 3 rd. ed. London, Churchill.
- QUINTARELLI, G. e cols. 1961. Estudios of sialic acid - containing mucins in bovine submaxillary and rat sublingual glands. *J. Histochem. Cytochem.*, 9:176-183.
- RIBEIRO, R.D.; LOPES, R.A.; PETENUSCI, S.O.; CAMPOS, G.M. & PETENUSCI, N.C. 1977. Alterações de glândulas salivares de camundongos e ratos infectados com *Trypanosoma cruzi*. *Rev. Fac. Farm. Odont. Ribeirão Preto*, 14:35-40.
- RIBEIRO, R.D.; BARRETO, M.P.; BELDA NETO, F.M.; CORREA, S.T. & FERRIOLLI FILHO, F. 1980. Estudos sobre reservatórios silvestres do *Trypanosoma cruzi*. LXXV - Infecção natural do símio *Callithrix jacchus* (LINNAEUS, 1758) pelo *Trypanosoma cruzi*. *Rev. Bras. Biol.*, 40:51-58.
- RIBEIRO DOS SANTOS, R.; MARQUEZ, J.O.; FURTADO, C.C.V.G.; OLIVEIRA, J.C.R.; MARTINS, A.R. & KÖBERLE, F. 1979. Antibodies Against Neurons in chronic Chagas' Disease. *Tropenmed Parasit.*, 30:19-23.

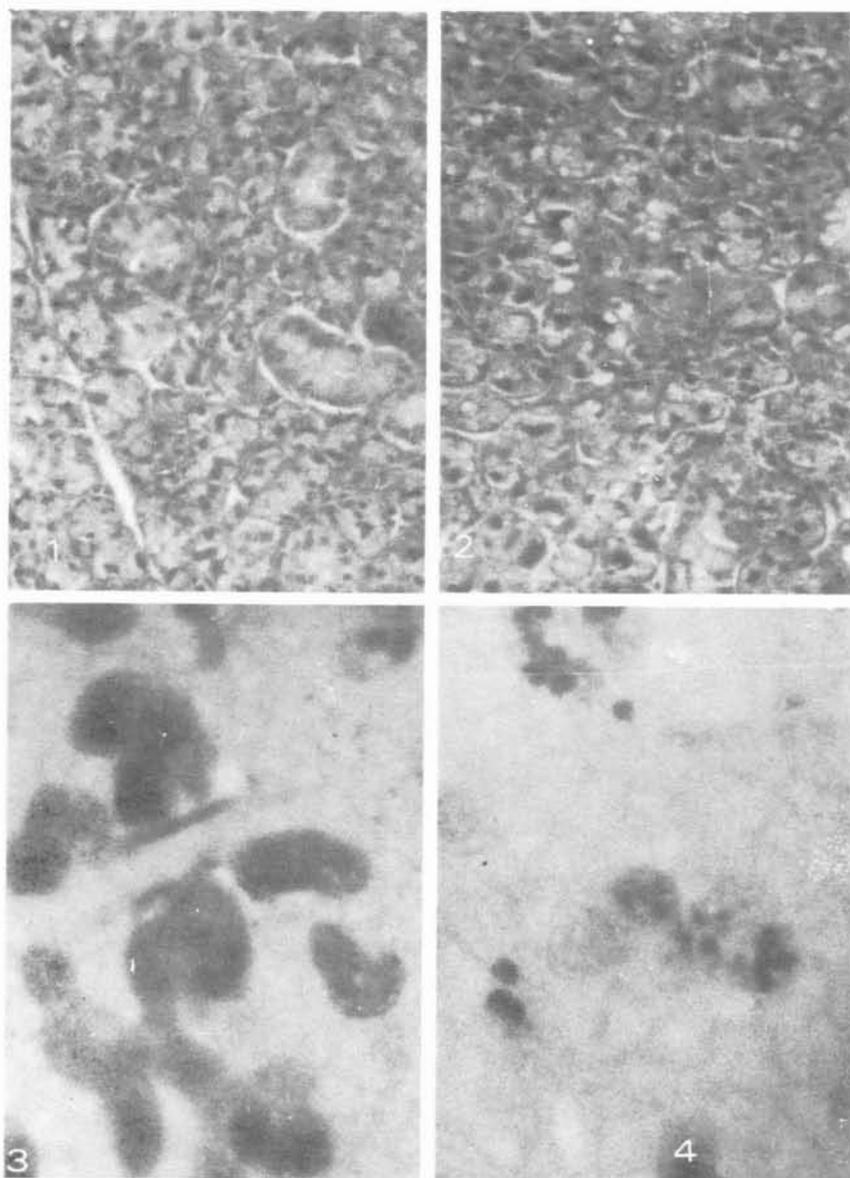
TOENNIES, G. 1942. The oxidative conversion of casein into protein free of methionine and tryptophane. *J. biol. Chem.*, 145:667-670.

UTRILLA, L.S. 1977. *Aspectos histológicos e histoquímicos das glândulas submandibular e sublingual de ratos, submetidos à lesão do núcleo paraventricular do hipotálamo*. Tese de Livre Docência. Araquara, Faculdade de Odontologia, UNESP.

UTRILLA, L.S.; MARTINI, A.S.; RIBEIRO, R.D. & SABBAG, Y. 1982. Sialoadenopatia Chagásica. Estudo experimental da parótida. *Rev. Ciênc. farm.* (no prelo)

VIEIRA, C.B. & HADLER, W.A. 1961. Estudo histológico da glândula parótida e do pâncreas no me-gaesôfago. *Rev. Ass. Méd. Bras.*, 7:89-96.

Recebido para publicação em 18.02.1982.



- Fig. 1 — Glândula submandibular (controle). Características morfológicas do parênquima, em especial, os ácinos e ductos granulosos. H/E. Wild 100x.
- Fig. 2 — Glândula submandibular (experimental). Observa-se ao nível do parênquima acinoso vacúolos citoplasmáticos e atrofia dos ductos granulosos. H/E. Wild 100x.
- Fig. 3 — Glândula submandibular (controle). Numerosos grânulos de secreção contendo Triptofano ao nível das células dos ductos granulosos. PABA. Wild 400x.
- Fig. 4 — Glândula submandibular (experimental). Moderada quantidade de grânulos de secreção nos ductos granulosos. PABA. Wild 400x.