

EFEITOS DA HIPERTENSÃO ARTERIAL BENIGNA E MALIGNA EM GLÂNDULAS SUBMANDIBULARES DE RATOS. ESTUDO HISTOLÓGICO

Alvimar Lima de CASTRO*
Almir Lima de CASTRO**
Gildo MATHEUS***

RESUMO: Foram estudadas, histologicamente, as glândulas submandibulares de ratos com hipertensão renovascular benigna e maligna provocada segundo o modelo de Goldblatt, um rim, um "clip". Os resultados histológicos demonstraram que, nas glândulas submandibulares destes animais, ocorrem alterações morfológicas no parênquima glandular, alterações estas representadas pelo aumento da quantidade e do diâmetro dos ductos granulosos e perda da nitidez dos limites dos ácinos cujas células exibem alterações tintoriais; no estrôma ocorre aumento da quantidade de vasos inteiramente hiperêmicos. Tais alterações morfológicas foram mais intensas nos animais com hipertensão maligna o que evidencia que o quadro hipertensivo provoca alterações morfológicas nas submandíbulas que sugerem prováveis modificações na atividade biológica das referidas glândulas.

UNITERMOS: Glândulas submandibulares; Hipertensão renovascular.

INTRODUÇÃO

Grande número de investigadores estão envolvidos no estudo das glândulas salivares em várias condições experimentais e/ou clínicas. Uma nova etapa nesse estudo, mostra a preocupação em se aquilatar participações sistêmicas nesses órgãos, assim como analisá-las mais acuradamente, em termos iônicos, hormonais e morfológicos. As repercussões da hipertensão renovascular na cavidade bucal têm sido estudadas principalmente em termos de neoformação óssea no alvéolo dental pós-extração^{4,5,13}, e não há preocupação maior no estudo das glândulas salivares em função de uma alteração da pressão arterial sistêmica.

Ao nascimento, a glândula submandibular está constituída dos seguintes compartimentos morfológicos, considerando-se uma seqüência próximo-distal: túbulos terminais, ductos intercalares, ductos estriados e ductos excretores^{1,7}. Os túbulos terminais são estruturas transitórias e, no rato adulto, o parênquima dessa glândula é constituído por unidades morfo-funcionais denominadas adenômeros, os quais possuem diversos compartimentos celulares representados por ácinos, ductos intercalares, ductos estriados e granulosos, e ductos excretores¹¹.

Pela literatura, a ausência de trabalhos correlacionando eventos pressóricos sistêmicos na atividade e morfologia das glândulas salivares maiores é total. Por

* Departamento de Diagnóstico e Cirurgia — Faculdade de Odontologia — UNESP — 16100 — Araçatuba — SP.

** Departamento de Ciências Fisiológicas — Faculdade de Odontologia — UNESP — 16100 — Araçatuba — SP.

*** Departamento de Patologia — Faculdade de Odontologia — UNESP — 16100 — Araçatuba — SP.

esse motivo, nos propomos neste trabalho, a estudar a morfologia das glândulas submandibulares de ratos com hipertensão renovascular benigna (moderada) e maligna, provocadas pelo modelo preconizado por GOLDBLATT *et alii* (1934)⁸ um rim, um “clip”.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram empregados 30 ratos jovens (*Rattus norvegicus albinus Wistar*) machos, com massa corporal variando de 150 a 200 gramas. Aos animais selecionados, proporcionou-se condições idênticas de acondicionamento, alimentação e água à vontade no decorrer do experimento. A alimentação foi composta de ração granulada comercial (Anderson Clayton S.A.) moída, acrescida em 40% de semente de girassol (20%) e amendoim (20%) também moídos. A alimentação foi interrompida nas 24 horas que precederam as intervenções cirúrgicas.

Os animais foram divididos em 3 grupos de trabalho, a saber: Grupo I — Controle — 10 ratos; Grupo II — Hipertensão renal benigna — 10 ratos; Grupo III — Hipertensão maligna — 10 ratos.

Para se obter a hipertensão renal, em uma primeira etapa cirúrgica, os ratos dos grupos II e III foram anestesiados com Pentobarbital Sódico a 3% (Abbot S.A.) na dose de 45 mg/kg de massa corporal, intraperitonealmente. A tricotomia da região abdominal foi realizada com uma tesoura curva de tamanho médio e, a seguir, feita laparotomia na linha mediana com um comprimento aproximado de 5cm. Tomando-se o cuidado de não traumatizar o rim esquerdo, foi dissecada a artéria renal desse lado em uma extensão aproximada de 5mm. Para se produzir hipertensão arterial um rim, um “clip”, foi empregada a técnica descrita previamente¹⁴, modificada. Consiste essa técnica, na colocação de um “clip” de prata especialmente construído na artéria renal esquer-

da principal e nefrectomia direita sem remoção da cápsula renal.

O grau de hipertensão renal é proporcional ao estreitamento da artéria renal. Para a hipertensão renal benigna foram utilizados os seguintes diâmetros internos do “clip”: ratos de 150g = 0,35mm; ratos de 160g = 0,36mm; ratos de 170g = 0,37mm; ratos de 180g = 0,38mm; ratos de 190g = 0,39mm; ratos de 200g = 0,40mm. Dessa maneira é evitada a obstrução completa da circulação renal. Para a regulação do “clip”, foi utilizado um calibrador e uma pinça preparada para permitir o estreitamento até a margem desejada. Para a hipertensão maligna, foi diminuído esse diâmetro interno para 0,20mm, seguindo a seqüência anterior da hipertensão renal benigna.

Após a coaptação das bordas da ferida cirúrgica, todos os retalhos foram suturados em massa, com fio de algodão em pontos interrompidos, e foi administrado 30.000 U.I. de Pentabiótico (Fontoura Wyeth) por via intramuscular. A determinação da pressão arterial nos animais dos grupos I, II e III foi realizada através de medições periódicas, a partir do 20.º dia pós-operatório, pela técnica de pletismografia de cauda e observação direta em manômetro de mercúrio^{12,18}. A hipertensão arterial renal benigna foi caracterizada quando a pressão arterial ultrapassou o valor médio de 135mm de HG¹² e permaneceu no valor elevado, sem alteração significativa, o que foi constatado pelas medidas realizadas. Foi caracterizada como hipertensão maligna, quando a pressão arterial ultrapassou o valor de 190mm Hg. As medidas periódicas foram realizadas a cada 4 dias durante 2 semanas, ocasião em que os animais foram sacrificados.

Conseguido o número pré-estabelecido de animais e no período pré-determinado, os animais foram mantidos em jejum por 24 horas. Após o sacrifício de todos os animais, as glândulas salivares

submandibulares foram removidas por dissecação, sendo as do lado direito fixadas em formol a 10% durante 24 horas, e as do lado esquerdo em líquido de Helly durante 6 horas. A seguir, foram incluídas em parafina pelo método rotineiro e submetidas à microtomia. Para o estudo histológico, os cortes semi-seriados de 6 micrômetros, foram corados pela hematoxilina de Harris e eosina aquosa a 1%.

RESULTADOS

Os dados de pressão arterial dos animais com hipertensão benigna apresentaram um valor médio de 170,8 mmHg \pm 4,01 (EPM) e os com hipertensão maligna 230 mmHg \pm 2,03.

Análise histológica — Grupo controle

Nestes animais (Figs. 1 e 2), a glândula mostra-se bem definida, com características de maturidade e apresentando-se constituída por ácinos volumosos e condensados, enquanto que sua divisão em lóbulos separados por septos de conjuntivo denso fibroso acentua-se sobremaneira. Seus adenômeros estão constituídos por ácinos, ductos intercalares, ductos granulosos, ductos estriados e ductos excretores.

Os ácinos evidenciaram grande diversificação de tamanho, forma e número das células que os compõem e estão constituídos por células prismáticas, com citoplasmas que apresentam intensa basofilia no polo basal e forte acidofilia, em forma de grânulos, em sua porção apical.

O sistema excretor da glândula é típico de animal adulto, ressaltando-se apenas a predominância de ductos granulosos, sobre os demais. Estes apresentam-se sinuosos e constituídos por células cilíndricas com núcleos elipsóides, com cromatina frouxamente distribuída e forte basofilia. O citoplasma apresenta, nos seus dois terços apicais, grande quantidade de grânulos

acidófilos, variando a quantidade de granulação e a intensidade de coloração, de célula para célula, num mesmo ducto. Raríssimas figuras de mitose foram observadas.

Grupo com hipertensão benigna

Nestes animais (Fig. 3), as modificações morfológicas foram pouco intensas. Os ácinos apresentam limites nítidos e parecem estar numericamente reduzidos.

Eventualmente pode ser constatado um discreto aumento da quantidade de ductos granulosos, os quais aparecem com diâmetro ligeiramente maior e relativamente mais sinuosos do que aqueles observados nos animais controle. Chama ainda a atenção, o fato de que tais modificações, embora presentes em alguns animais, deixam de manifestar-se em outros.

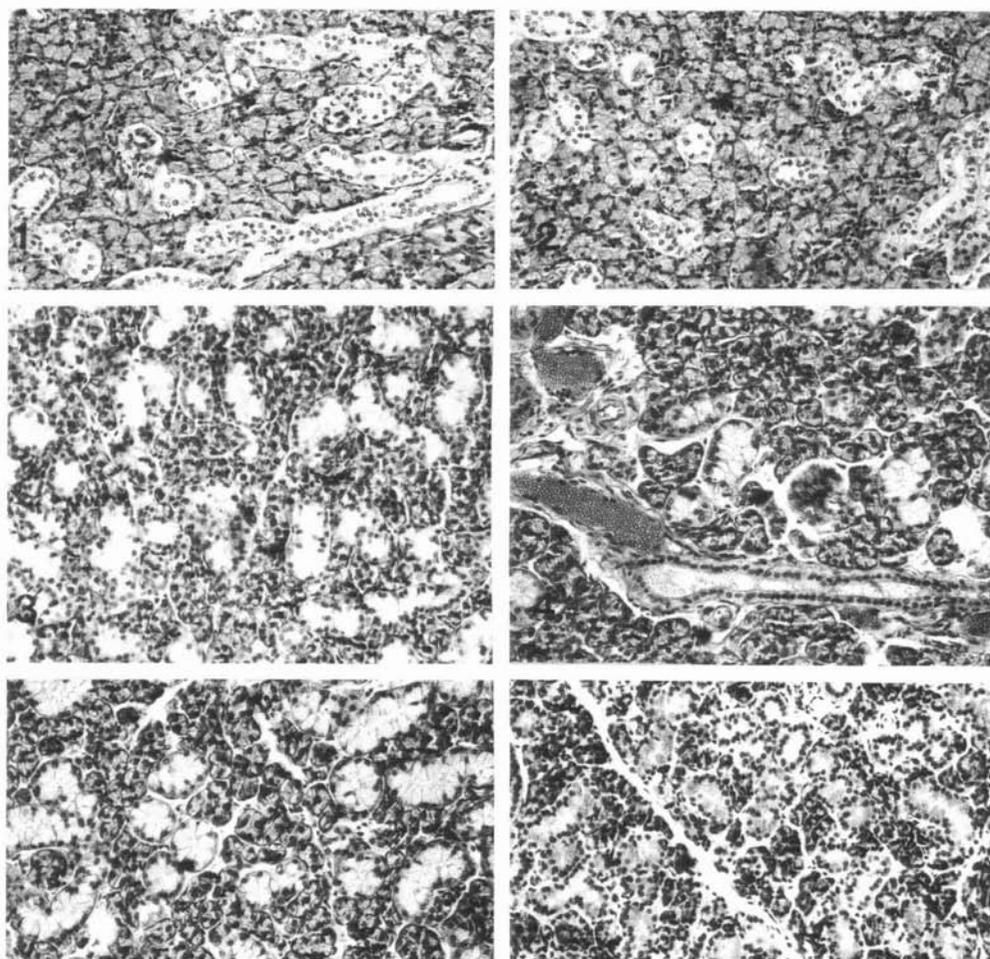
Quanto aos ácinos, estes apresentam citoplasma com coloração mais intensa do que a relatada para os animais controle; o núcleo parece evidenciar, no cômputo geral, maior condensação de cromatina o que também lhe confere uma basofilia mais intensa.

Não foram observadas modificações relativas ao número de mitoses; no entanto, a interlobulação glandular é ligeiramente mais acentuada do que aquela observada nos animais do grupo controle.

Grupo com hipertensão maligna

Igualmente neste grupo (Figs. 4, 5 e 6), as modificações tintoriais não são muito intensas; no entanto, estruturalmente, a glândula evidencia maior interlobulação o que lhe confere um aspecto menos homogêneo.

Os ácinos não apresentam limites nítidos. Quanto ao sistema excretor, no geral, constata-se grande aumento do número de ductos estriados modificados (granulosos) os quais, às vezes, apresentam grande quantidade de granulações gros-



- FIG. 1 —Glândula Submandibular. Animal controle. Visão panorâmica observando-se ácinos, ductos intercalares, ductos estriados. H.E. 50 X.
- FIG. 2 —Glândula Submandibular. Animal controle. Visão panorâmica observando-se ácinos bem definidos, ductos intercalares, ductos estriados e ductos granulosos. H.E. 50 X.
- FIG. 3 —Glândula Submandibular. Animal com hipertensão benigna. Ácinos com limites pouco nítidos; predominância de ductos granulosos que estão aumentados tanto em número quanto em tamanho em relação às figs. 1 e 2. H.E. 50 X.
- FIG. 4 —Glândula Submandibular. Animal com hipertensão maligna. Presença de vasos sangüíneos hiperêmicos; ácinos com limites pouco nítidos, presença de ductos estriados e ductos granulosos. H.E. 50 X.
- FIG. 5 —Glândula Submandibular. Animal com hipertensão maligna. Ácinos numericamente diminuídos e ductos granulosos nitidamente aumentados tanto em quantidade quanto em diâmetro, em relação às figs. 1 e 2. H.E. 126 X.
- FIG. 6 —Glândula Submandibular. Animal com hipertensão maligna. Idem figura 5, ressaltando tanto o aumento do número de ductos granulosos, quanto a falta de nitidez do limite dos ácinos. H.E. 50 X.

seiras acidófilas em seu citoplasma. Tais ductos, muito sinuosos e de diâmetro maior, se comparados a seus correspondentes controle, apresentam-se constituídos, às vezes, por células de acidofilia pouco intensa e sem granulações em seu citoplasma.

Numa visão global da glândula, fica evidente o aumento do número de vasos sanguíneos congestos (hiperêmicos) em relação ao observado nos animais do grupo controle e com hipertensão crônica. Os espaços interparenquimatosos mostram-se pouco amplos e as figuras de mitose são muito raras.

DISCUSSÃO

Os resultados obtidos da pressão arterial, confirmam a validade do método empregado para o desenvolvimento de hipertensão renovascular. A hipertensão renal benigna se apresenta sem nenhuma alteração da função renal excretora, em termos de uréia, creatinina, depuração da inulina e p-aminohipurato³, desde que haja perfeita combinação do diâmetro interno da artéria renal com a massa corporal do animal. Não obstante, sua compressão maior desenvolve lesões das arteríolas, produzindo insuficiência renal de diversos graus, o que leva à hipertensão maligna⁹.

O método pletismográfico para medir tanto a pressão arterial de ratos anestesiados quanto de ratos não anestesiados^{2,18}, demonstrou que, embora não tendo uma sensibilidade adequada, o que dificulta em parte a observação direta, pode ser empregado. Os resultados comparativos entre este método e o direto, permitem estabelecer suas diferenças, bem como, limitar os valores normais e diagnosticar a instalação da hipertensão^{6,12}. A medida da pressão arterial a partir do 20.º dia da cirurgia renal deve-se ao fato desse tipo de hipertensão, seja a benigna ou a maligna, ter seu curso estabelecido ao redor do 15.º dia da cirurgia⁴.

A hipertensão, como um distúrbio da regulação da pressão arterial do organismo, tem suas conseqüências voltadas para a cavidade bucal em termos de irrigação vascular tecidual e processo de reparo alveolar^{4,5,13}. Na mucosa da cavidade bucal, a hiperplasia das arteríolas e capilares, com evidência de hialinização e edema da camada média, aparece na maioria dos casos de doença cardiovascular associada com arteriosclerose e hipertensão. Esta observação feita em humanos¹⁶ foi confirmada em ratos⁵.

Estas alterações degenerativas podem ter importante papel fisiopatogênico. A reação perivascular e vascular, observada no presente trabalho, pode ser classificada como severa. Somando-se a esses dados, foi demonstrado através de estudo morfológico¹⁷, as características arteriulares a nível de baço, em ratos com hipertensão neurogênica, renal crônica e por infusão de noradrenalina. Concluiu o autor, que a espessura das paredes vasculares era bem maior nos animais com hipertensão renal benigna do que nos outros dois modelos.

A literatura nos mostra que, em condições normais, em ratos com 60 dias de vida, a principal característica é a diversificação do parênquima glandular, com aparecimento de ductos granulados típicos, sendo que tal diferenciação verifica-se a partir dos ductos estriados, acontece de forma gradual, mostra-se mais intensa na porção proximal dos ductos e, num mesmo ducto podemos observar diversos estágios de diferenciação^{10,15}. Esses dados foram confirmados pela análise de nosso trabalho dos animais do grupo controle.

Ficou evidente em nossos resultados, do grupo com hipertensão maligna, um aumento acentuado no número de vasos sanguíneos hiperêmicos, demonstrando a resposta circulatória inerente ao aumento do fluxo sanguíneo nesse modelo. No grupo com hipertensão benigna, esses achados não estiveram presentes, o que de-

monstra a capacidade do sistema vascular em se retroalimentar dentro de limites pressóricos são muito amplos.

As modificações verificadas na glândula submandibular dos animais do grupo com hipertensão benigna é mais acentuada na maligna, com respeito aos ácinos, ductos e espaços interparenquimatosos, o que nos leva a interpretar tal fato como uma correlação significativa entre o funcionamento glandular e seu correspondente fluxo sanguíneo. Essa hipótese só poderá ser melhor analisada após a realização de outros trabalhos em que as dosagens dos constituintes salivares e da própria quantidade de saliva devem merecer destaque.

CONCLUSÕES

De acordo com os resultados obtidos podemos concluir que a hipertensão renovascular promove alterações morfológicas

no parênquima e no estrôma das glândulas submandibulares de ratos, representadas por:

- a) Aumento da quantidade e do diâmetro dos ductos granulosos;
- b) Modificações tintoriais nas células acinares cujos citoplasmas e núcleos exibiram, respectivamente, intensa acidofilia e basofilia;
- c) Intensificação das alterações morfológicas acima relatadas nas glândulas submandibulares dos animais com hipertensão maligna.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem a Antonio Augusto Ferreira Carvalho, Angelo Luis Baiocchi e Corina Maria Dossi pelo auxílio na parte experimental desse trabalho. A Elaine Aparecida Rodrigues pelo serviço datilográfico.

CASTRO, A.L. *et alii* — Effects of benign and malignant renovascular hypertension on submandibular gland in rats. A histological study. *Rev. Odont. UNESP*, São Paulo, 14(1/2):69-75, 1985.

ABSTRACT: A histological study of submandibular glands in benign and malignant renal hypertensive rats Goldblatt one Kidney — one clip was made using an optical microscope. The results show in hypertensive animals an increase of blood vessels followed by hyperemia; a significant increase in number and diameter of ducts and an intensely colored cytoplasm. Comparing both hypertensive groups, the malignant renal hypertensive rats showed more evident morphological changes. The results of the present experiment suggest that hypertension induces an increase in the activity of submandibular glands.

KEY-WORDS: Submandibular gland; renovascular hypertension.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ÁLVARES, E.P. & SESSO, A. — Cell proliferation, differentiation and transformation in the rat submandibular gland during early post-natal growth. A quantitative and morphological study. *Arch. histol. jap.*, 38:177-208, 1975.
2. BYROM, F.B. & WILSON, C. — A pletismographic method for measuring systolic blood pressure in the intact rat. *J. Physiol.*, 93:301-4, 1938.
3. CARRETERO, O.A. & ROMERO, J.C. — Production and characteristics of experimental hypertension in animals. In: GENEST, J.; KOIW, E. & KUCHEL, O. — *Hypertension*. New York, McGraw-Hill, 1977. p. 485-507.
4. CARVALHO, A.A.F.; CASTRO, A.L.; MELHADO, R.M. & BEDRAN DE CASTRO, J.C. — Healing of tooth extraction wounds in rats with renal hypertension. A histological

- study. *J.Nihon Univ. Sch. Dent.*, 25:214-20, 1983.
5. CASTELLI, W.A.; DIAZ-PEREZ, R.; NASJ-LETI, C.E. & CAFESSE, R.G. — Effect of renovascular hypertension on the morphology of oral blood vessels. *Oral Surg.*, 46:576-82, 1978.
 6. CASTRO, A.L. & LOPES, O.U. — Efeito da desconexão do hipotálamo anterior sobre a evolução da hipertensão de origem renal. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FISIOLÓGIA, 16.º, Rio de Janeiro, 1982. p. 16.
 7. CHANG, W.W.L. — Cell population changes during acinus formation in the postnatal rat submandibular gland. *Anat. Rec.*, 178:187-202, 1974.
 8. GOLDBLATT, H.; LYNCH, J.; HANZAL, R.F. & SUMMERVILLE, W.W. — The production of persistent elevation of systolic blood pressure by means of renal ischemia. *J.exp.Med.*, 59:347-81, 1934.
 9. FOGLIA, V.G. & HOUSSAY, A.B. — Tiroides. In: HOUSSAY, B.A.; CALDEYRO-BARCIA, R.; COVIAN, M.R.; FASCIOLO, J.C.; FOGLIA, V.G.; HOUSSAY, A.B.; HUG, E.; LELOIR, L.F.; LEWIS, J.T. & DOLDATI, L. — *Fisiologia Humana*. 4.ed. Buenos Aires, El Ateneo, 1971. p. 701-3.
 10. JACOBY, F. & LEESON, C.R. — The postnatal development on the rat submandibular gland. *J.Anat.*, 93:201-16, 1959.
 11. JUNQUEIRA, L.C.U. & FAVA DE MORAES, F. — Comparative aspects of the vertebrate major salivary glands biology. In: *Sekretion und Exkretion*. Berlin, Springer-Verlag, 1965. v.2, p.36-48.
 12. KRIEGER, E.M. — Neurogenic hypertension in the rat. *Circ. Res.*, 15:511-21, 1964.
 13. MURATA, M.; ITOI, S.; NONOGUCHI, T.; OTA, T. & YOKOTA, M. — Histological study on the healing process of extraction sockets in experimental hypertensive dogs. *Bull.Stomat,Kyoto Univ.*, 7:122-37, 1967.
 14. SCHAFFENBURG, C.A. — Device to control of main renal artery for production of hypertension in small animals. *Proc. Soc. exp. Biol. Med.*, 101:676-7, 1959.
 15. SRINIVASAN, R. & CHANG, W.W.L. — The development of the granular convoluted duct in the submandibular gland. *Anat.Rec.*, 182:29-40, 1975.
 16. STAHL, S.S. & FOX, L.M. — Histologic changes of the oral mucosa associated with certain chronic diseases. *Oral Surg.*, 6:339-44, 1953.
 17. TRINDADE Jr., A.S. — *Hipertensão neurogênica do rato. Análise prolongada da pressão arterial*. Ribeirão Preto, Faculdade de Medicina-USP, 1979. (Tese — Doutorado).
 18. WILLIAMS Jr., J.R.; HARRISON, T.R. & GROLLMAN, A. — A simple method for determining the systolic blood pressure of the unanesthetized rat. *J.clin.Invest.*, 18:373-6, 1939.

Recebido para publicação em 10.1.85.