

AÇÃO DIRETA DA RADIAÇÃO X SOBRE AS GLÂNDULAS SUBMANDIBULARES E SUBLINGUAIS. ESTUDO HISTOLÓGICO E HISTOQUÍMICO EM RATOS

Mercês Cunha dos SANTOS-PINTO*
Celso MARTINELLI**
Ruy dos SANTOS-PINTO***

RESUMO: Foi propósito deste trabalho analisar o efeito direto dos Raios X sobre as glândulas submandibular e sublingual expostas cirurgicamente e irradiadas após serem isoladas com lâmina de chumbo das estruturas adjacentes. Foi realizado um grupo simulado no qual as glândulas submandibular e sublingual foram apenas expostas cirurgicamente. As glândulas dos grupos-controle e simulado mostraram aspectos normais ao estudo histológico e histoquímico. As glândulas irradiadas apresentaram atrofia, desarranjo arquitetural e processos degenerativos no citoplasma e núcleo das células dos ácinos. Os núcleos das células dos ductos granulosos, estriados e excretorios apresentaram processos degenerativos como picnose, cariorrexix e/ou cromatólise. Houve redução do RNA dos núcleos, nucléolos e citoplasma das células dos ácinos; ausência ou diminuição de glicogênio nos citoplasmas das células dos ductos estriados e redução da síntese de proteínas.

UNITERMOS: Radiação X; glândula salivar.

INTRODUÇÃO

A ação da radiação X e de outros tipos de radiação sobre glândulas salivares, durante o tratamento de tumores localizados na cabeça e pescoço, tem sido muito pesquisada.

A injúria das glândulas salivares, por doses elevadas de radiação, provoca alterações morfológicas e/ou funcionais tanto maiores quanto maior for a dose de radiação recebida.

* Departamento de Diagnóstico e Cirurgia – Faculdade de Odontologia – UNESP – 16015 – Araçatuba – SP.

** Departamento de Patologia – Faculdade de Odontologia – UNESP – 16015 – Araçatuba – SP.

*** Centro de Assistência Odontológica a Excepcionais – Faculdade de Odontologia – UNESP – 16015 – Araçatuba – SP.

SHAFER²³, realizando irradiação diretamente sobre as glândulas salivares de ratos com doses únicas de 480 a 3500 R, concluiu que as alterações decorrentes caracterizavam-se pelo marcante aumento de inflamação e degeneração das glândulas.

ENGLISH⁵, irradiando com 1000 a 1500 R as glândulas salivares de ratos, não pôde identificar qualquer alteração morfológica durante as primeiras semanas após a irradiação; contudo, de 16 a 100 dias observou alterações caracterizadas pela variabilidade de forma e tamanho das células acinosas e extenso pleomorfismo nuclear com variações de 5 a 30 micra de diâmetro, aproximadamente. Dentre as glândulas salivares maiores, a mais sensível a essas mudanças foi a submandibular, contrariando a opinião de SHAFER²³, que a considerava radiorresistente.

SANTANGELO, TOTO¹⁹ irradiaram camundongos com doses de 12 R diários de radiação gama durante 100 dias, aplicados sobre todo o animal, numa distância de 92 polegadas. Os animais que receberam um total de 1200 R em 100 dias não sofreram alteração histológica ou histoquímica significativas da glândula submandibular às colorações pela H. E. e P. A. S. Com a irradiação de 12 R diários por 200 dias, as glândulas exibiram alterações funcionais com redução dos grânulos secretores, degenerações e necrose das células dos ácinos e ductos intralobulares. Os núcleos e citoplasmas das células acinares apresentaram redução em sua capacidade de corar e perda de basofilia. Grande número dos núcleos dessas células exibiram cariólise; as membranas, em muitos grupos de ácinos, não puderam ser distinguidas. Os citoplasmas mostraram intensas degenerações hidrópicas; as células, como um todo, exibiram edemas em seus citoplasmas.

ITO¹⁰ irradiou o corpo todo de um grupo de camundongos, o corpo todo de um segundo grupo, com exceção das glândulas salivares, e num terceiro grupo apenas a área das glândulas salivares. O autor verificou que todas as glândulas, dos três grupos de animais irradiados, sofreram degenerações e desaparecimento dos ácinos. A irradiação de todo o animal causou mais rápida e intensa alteração do que os outros procedimentos. A submandibular sofreu alterações nos túbulos granulares e ductos interlobulares, diminuição dos grânulos secretores em número e em capacidade de corar-se. Esta perda de glândulos foi interpretada como uma redução da função da glândula.

ELZAY et al⁴ submetem ratos a 2400, 4800 e 7200 rads de radiação gama, de cobalto 60, somente sobre a cabeça dos animais ou nas glândulas salivares, através de aplicações de 600 rads, a cada três dias. Os autores observaram moderada inflamação do estroma interlobular e pouca ou moderada atrofia e pleomorfismo das células dos ácinos. Todas as alterações morfológicas foram reversíveis.

ROMANI¹⁸, baseado nos resultados obtidos com 3400 R de radiação e observação por 210 dias, verificou que o início das alterações estruturais das células acinosas do adenômero da glândula submandibular ocorre por volta dos 90 dias após a irradiação da região das glândulas salivares. Os ácinos mostraram-se sempre hipertrofiados, enquanto que os ductos granulosos e estriados após ligeira hipertrofia inicial exibiram atrofia, evidenciando ser esta estrutura, da porção do adenômero, a mais sensível à ação dos Raios X.

Radiações menores decorrentes do uso dos Raios X com finalidade diagnóstica escapam do interesse dos radioterapeutas. No entanto, para os Cirurgiões-Dentistas é de grande interesse verificar até que ponto radiações X podem vir a comprometer a morfologia e fisiologia das glândulas salivares por elas atingidas.

Em trabalho sobre o assunto, SANTOS-PINTO et al²⁰ propuseram-se verificar a ação de 138 R, diretamente sobre as glândulas submandibulares e sublinguais de ratos e seus reflexos sobre o processo de reparo em feridas de extração dental. Estruturas próximas às glândulas e aos alvéolos dentais foram protegidos dos Raios X com placa de chumbo.

Os autores fundamentaram-se nos trabalhos de OGATA¹⁶ TAKISAWA²⁴, ITO⁹, MARTINELLI¹⁴, de que as glândulas submandibulares desempenham ação endócrina. Os autores puderam concluir, através deste trabalho experimental em ratos, que:

1 – a reparação alveolar do grupo de animais sujeitos à irradiação das glândulas submandibulares e sublinguais (grupo III) sofreu atraso na maturação do tecido de granulação com reflexo nas etapas reparacionais seguintes;

2 – ocorreram osteoclasias em trabéculas ósseas neoformadas ao nono dia pós-exodôntico, no grupo de animais irradiados.

Tais resultados mostram claramente que a glândula submandibular desempenha um papel endócrino com repercussões no reparo de feridas de extração dental.

HENDRIX⁸ afirma que, muito embora as glândulas salivares não apresentem alterações morfológicas, podem sofrer desvios funcionais pela ação das radiações.

MESSELT, DAHL¹⁵ realizaram o estudo ultraestrutural das glândulas salivares, concluindo, tal como HENDRIX⁸, CHOMETTE et al³, que a atividade funcional das glândulas é reduzida após suas exposições aos Raios X.

É nosso propósito verificar a ação da radiação X sobre as glândulas submandibulares e sublinguais através do estudo histológico e histoquímico em ratos.

MATERIAL E MÉTODOS

Para a realização do presente trabalho experimental, foram utilizados 60 ratos (*Rattus norvegicus, albinus*, Wistar) com peso entre 130 e 180 gramas.

Esses animais foram divididos em três grupos de 20 animais.

Grupo I (controle) cujos animais não sofreram tratamento algum sendo sacrificados nos mesmos períodos dos demais grupos para a retirada das glândulas submandibulares e sublinguais. Essas glândulas foram processadas de forma idêntica às dos grupos II e III para as análises histológicas e histoquímicas.

Grupo II (simulado) constituído por animais que foram anestesiados com Pentobarbital sódico a 3% colocados em mesa cirúrgica em decúbito dorsal, sofrendo a seguir a exposição de suas glândulas submandibulares e sublinguais. Para esta exposição foi realizada tricotomia da região cervical com tesoura romba curva, seguida de

assepsia em toda a área. A seguir, foi feita uma incisão na linha mediana com, aproximadamente, 3 cm de extensão. Com duas pinças anatômicas pequenas, foi realizada cuidadosa divulsão dos músculos cervicais até a localização e exposição das glândulas submandibulares e sublinguais de ambos os lados. Essas glândulas permaneceram expostas durante tempo igual ao gasto para a irradiação das glândulas dos animais do grupo irradiado. Os tecidos incisados foram coaptados e suturados com fio de algodão 000.

Todos os animais receberam, por via intraperitoneal, uma dose única de Pentabiótico, diluído em 5 ml de água bidestilada estéril (0.1 ml por animal).

Decorridos 6, 9, 12 e 24 dias pós-irradiação, 5 animais de cada um desses tempos foram sacrificados por inalação de vapores de éter sulfúrico.

Grupo III (irradiado) no qual os animais sofreram as mesmas intervenções e tratamentos que os do grupo II, tendo sido, no entanto, irradiadas as glândulas submandibulares e sublinguais após suas exposições.

A irradiação foi realizada através dos seguintes fatores: 90 kVp, 10 mA, distância foco-estrutura de 10 cm e 26,1 seg de exposição aos Raios X. A fonte de radiação foi proporcionada por um aparelho de Raios X "GE mobile 100-15" com filtragem total equivalente a 2,5 mm de alumínio, com rendimento de 319 R/min. As medidas das radiações foram obtidas com dosímetro "X-Ray Dosemeter Model 27-C", de propriedade da Comissão Nacional de Energia Nuclear.

Nessas condições, as glândulas submandibulares e sublinguais dos animais do grupo III receberam 138 R correspondentes a 26,1 segundos de exposição aos Raios X.

Um disco de chumbo de 2 mm de espessura foi adaptado ao cabeçote do aparelho de raios X; no centro deste disco foi feito um orifício com 2 mm de diâmetro. A partir do disco e na direção deste orifício foi colocado um tubo de chumbo que possibilitou determinar a distância foco-estrutura e o local de incidência dos Raios X diretamente sobre as glândulas-alvos.

Sob as glândulas foi colocada uma placa de chumbo de 2 mm de chumbo de espessura, envolvida em plástico, para evitar que outras estruturas subjacentes a estas fossem, também, expostas à radiação X ou contaminadas pelo chumbo.

Nos grupos I, II e III, antecedendo ao sacrifício, e com os animais anestesiados, as glândulas submandibulares e sublinguais foram alcançadas e removidas de acordo com a técnica para a exposição inicial utilizada nos grupos II e III. Imediatamente após, as glândulas foram colocadas em solução de formol a 10% por 13 horas, depois de terem sido cortadas em fragmentos de, aproximadamente, 2 mm de espessura. Assim fixadas, foram lavadas em água corrente por 12 horas, desidratadas, diafanizadas e incluídas em parafina.

As peças assim obtidas foram submetidas a cortes semi-seriados com 6 micrômetros de espessura e corados pela hematoxina e eosina para análise histológica.

Foram igualmente realizados os seguintes métodos histoquímicos:

- 1 – Galocianina-alúmen de cromo² para ácidos nucléicos.
- 2 – Coloração pelo ácido periódico-reagente de SCHIFF, técnica de MCMA-NUS¹³ para glicogênio e glico e/ou mucoproteínas.
- 3 – Coloração pela metanamina prata para grupamentos vicglicol.

Além dos métodos histoquímicos, foram realizados os seguintes tratamentos enzimáticos:

- 1 – pela alpha-amilase a 5 mg/ml em solução tampão fosfato 0,1 M, pH 6,0 por uma hora à temperatura de 37°C, a seguir coradas pelo PAS.
- 2 – pela ribonuclease a 0,5 mg/ml em água destilada, pH 5,5 durante 4 horas à temperatura de 37°C⁷, a seguir coradas pela galocianina alúmen de cromo.

RESULTADOS

Os resultados do presente trabalho são descritos em função dos achados observados no décimo segundo dia após as irradiações das glândulas, face ao fato de que, não obstante exibirem seus parênquimas com alterações flutuantes qualitativa e quantitativamente, discretas do terceiro ao décimo segundo dia, estabilizaram-se ou aumentaram ao vigésimo quarto dia. Assim, o tempo eleito como representativo de todos os grupos para a descrição dos resultados será de doze dias após as irradiações.

Os grupos Controle (I) e Simulado (II) exibiram resultados semelhantes, para as glândulas submandibulares e sublinguais e dentro dos parâmetros normais.

Grupo irradiado (III)

Hematoxilina e Eosina

As células dos ácidos das glândulas submandibulares, quando comparadas às de seus respectivos controles, exibem citoplasmas menores na porção apical e ligeiramente mais basófilos. Seus núcleos não são tão vesiculosos e exibem, em algumas regiões, processos degenerativos do tipo picnose, cariólise e/ou cariorrexis. Podem ser observadas pequenas áreas com desarranjo arquitetural do parênquima, associadas a processo inflamatório crônico discreto (Fig. 1).

O ducto intercalar geralmente não exhibe alterações morfológicas detectáveis. Os ductos granulosos, estriados e excretores não mostram alterações dignas de nota nos citoplasmas de suas células, inclusive nas granulações heteromorfas. Os núcleos, entretanto, mais hiper cromáticos, exibem picnose, cariólise e/ou cromatólise em maior número nos ductos granulosos e a cariorrexis nos ductos estriados e excretores (Fig. 1).

A morfologia dos elementos que integram o parênquima da glândula sublingual é, em tudo, semelhante à de seus controles, isto é, o estudo por Hematoxilina e eosina não revelou alterações dignas de nota.

Galocianina – Alúmen de cromo

Os núcleos das células dos ácinos são menos vesiculosos, com forma e tamanho mais irregulares, exibindo moderada positividade na cromatina e forte positividade

no nucléolo, menores que as dos controles. O citoplasma, por sua vez, exibiu forte positividade menor, porém, que a do controle, homogênea no pólo basal e leve ou negativa no pólo apical. Nesta coloração, foram bem evidentes as degenerações nucleares (Fig. 2).

Os núcleos dos ductos granuloso, estriados e excretorios foram levemente positivos a galocianina; seus nucléolos, com igual positividade, não foram tão proeminentes. A ribonuclease removeu parcialmente a positividade de todas as células, indicando a presença de ácido ribonucléico tanto nos citoplasmas quanto nos núcleos. Houve, no entanto, a persistência de material residual no citoplasma das células dos ácinos (Fig. 3).

Os núcleos das células mucosas dos ácinos das glândulas sublinguais são moderadamente positivos, e seus citoplasmas exibem moderada positividade à galocianina, indicativo de menor quantidade de RNA que os controles. Os núcleos das células serosas das semiluas mostram moderada positividade, com nucléolos menos evidentes; seus citoplasmas exibem forte positividade menor quando comparada aos dos respectivos controles. O tratamento pela ribonuclease removeu, parcialmente, a positividade pela galocianina dos citoplasmas, ao contrário dos controles em que a remoção citoplasmática foi completa.

Metanamina prata e amilase

Granulações delicadas coradas em negro pela prata podem ser observadas somente nos citoplasmas das células dos ductos estriados e granuloso, em bem menor quantidade que nos controles. O mesmo fato foi observado nos citoplasmas, principalmente dos ductos estriados das glândulas sublinguais. O tratamento prévio pela amilase impediu, posteriormente, a coloração, caracterizando a ausência de glicogênio (Fig. 4).

Ácido periódico de Schiff (PAS) e amilase

Ao PAS a positividade foi ligeiramente maior no citoplasma das células acinares do grupo tratado, sendo que a amilase removeu, parcialmente, a reatividade do pólo apical destas células. As células dos ductos intercalares e excretorios exibiram fraca positividade de material amilase resistente nos seus citoplasmas. Nos ductos estriados e granuloso não houve diferença de positividade entre os animais tratados e controles, e a amilase removeu a positividade das granulações delicadas do pólo apical de suas células (Fig. 5 e 6).

O citoplasma das células mucosas e serosas dos ácinos das glândulas sublinguais apresentaram intensa positividade ao PAS maior do que a observada nos seus controles. O tratamento prévio pela amilase não diminuiu a intensidade da reação, mas eliminou parte da substância PAS positiva dos citoplasmas destas células, indicando que a natureza do material eliminado não era glicogênio e, sim, glicoproteínas, solúveis em solução tampão fosfato pH 6. O citoplasma das células dos ductos intercalares e estriados exibiram menor positividade que os seus controles. O tratamento pela amilase não alterou a afinidade dos citoplasmas pelo PAS, indicando ausência de glicogênio.

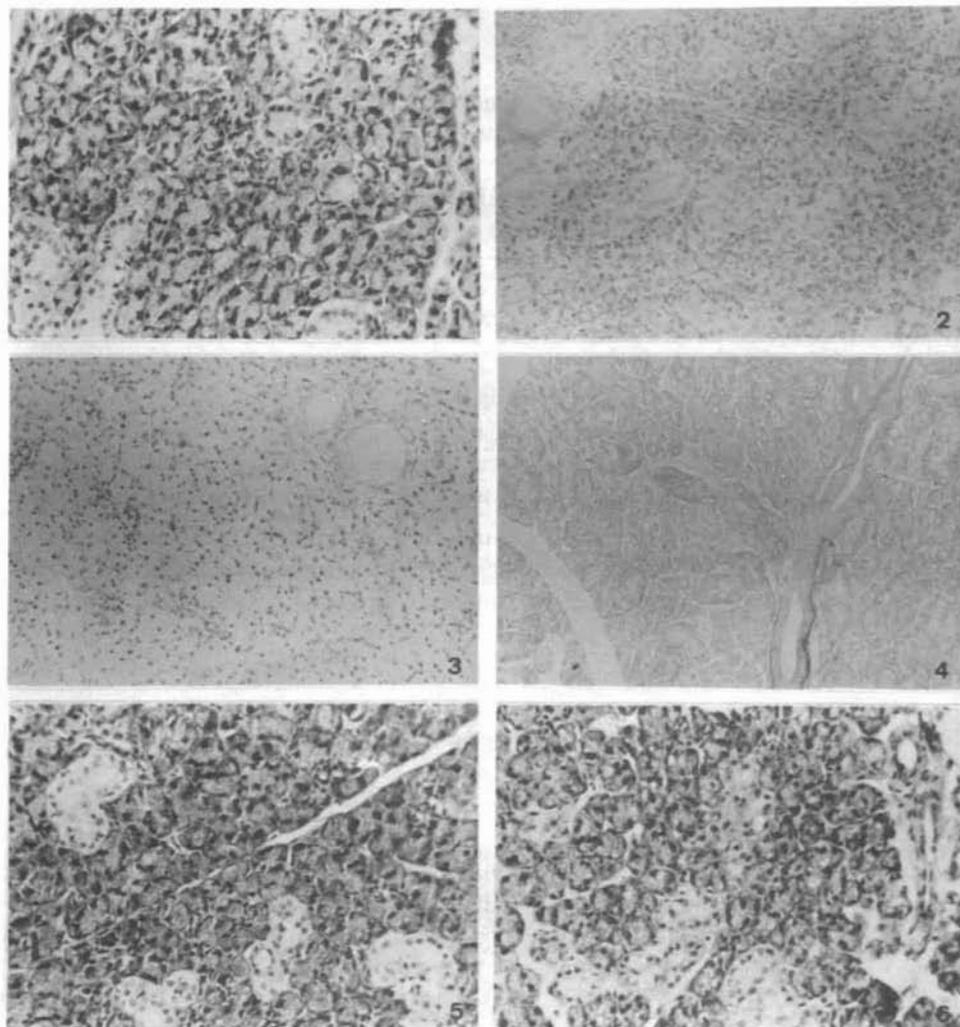


FIG. 1 – Grupo III – 12 dias. Acinos menores do que os dos controle e simulado, núcleos menos vesiculosos com processos degenerativos e desarranjo arquitetural. HE. 10 X (Zeiss).

FIG. 2 – Grupo III – 12 dias. Núcleos das células dos ácinos mais irregulares e com moderada positividade à galocianina. Galocianina – alúmen de cromo. 10 X (Zeiss).

FIG. 3 – Grupo III – 12 dias. Pequena quantidade de material residual galocianina positivo não removido pela ribonuclease. Galocianina-alúmen de cromo e ribonuclease. 10 X (Zeiss).

FIG. 4 – Grupo III – 12 dias. Citoplasma das células dos ductos estriados com ausência de granulações prata positivas. Metanamina prata. 10 X (Zeiss).

FIG. 5 – Grupo III – 12 dias. Citoplasmas das células dos ácinos serosos intensamente corados pelo PAS. PAS 10 X (Zeiss).

FIG. 6 – Grupo III – 12 dias. A positividade dos citoplasmas ao PAS foi parcialmente removida pela amilase. PAS e amilase. 10 X (Zeiss).

DISCUSSÃO

A presente pesquisa dá continuidade ao estudo da ação da radiação X sobre as glândulas submandibulares e sublinguais e seus reflexos sobre o processo de reparo em feridas de extração dental²⁰. Neste trabalho, os autores concluíram, tal como OKUAIRA¹⁷, OGATA¹⁶, ITO⁹ e SASAKI²¹, dentre inúmeros outros que as glândulas submandibulares desempenham função endócrina. Muito embora os primeiros autores pudessem concluir pela ação hormonal à distância e sobre o reparo, não se propuseram, naquelas ocasiões, avaliar as possíveis alterações que as radiações poderiam ocasionar a essas glândulas. Novamente incidindo os Rios X principais sobre as glândulas submandibulares, isoladas com placa de chumbo, de estruturas vizinhas e contíguas, foi realizado o presente trabalho.

A contigüidade e as estreitas relações anatômicas entre essas glândulas e as sublinguais não permitiram que essas fossem isoladas ou removidas. Mesmo em não se tratando, as glândulas sublinguais, de glândulas de secreção interna, foram estudadas.

Neste trabalho foi possível verificar que, tanto as glândulas submandibulares dos animais controles, quanto as dos animais do grupo simulado, apresentaram quadros histológicos compatíveis entre si. Procedimentos cirúrgicos e exposição das glândulas não determinaram alterações que pudessem comprometer suas análises.

O grupo de glândulas irradiadas exibiu a alterações em seus parênquimas, em todos os tempos estudados pela hematoxilina e eosina, com flutuações discretas quer qualitativas, quer quantitativas do terceiro ao décimo segundo dia, estabilizando-se ou aumentando discretamente ao vigésimo quarto dia após-irradiações. Esses achados levaram-nos à análise do período de doze dias como expressão dos eventos ocorridos nos grupos experimentais.

Neste grupo irradiado e períodos considerados, foi verificada a ação da radiação sobre os ácinos, atrofiando-os e determinando a ocorrência de processos degenerativos quando comparados aos dos grupos controle e simulado. Esta ação foi constatada por SAVAGE et al²² ao irradiarem, em frações de 250, 500, 750 e 1000 rads, as glândulas submandibulares de ratos.

Pode-se inferir que não só a irradiação com megavoltagens, mesmo que fracionada, como a considerada discreta em nosso trabalho podem levar os ácinos a sofrer não só atrofia como processos degenerativos.

Os núcleos dos ácinos irradiados mostraram-se menos vesiculosos e, em algumas regiões, com processos degenerativos, muito embora as glândulas salivares, maiores e menores, sejam consideradas por FAJARDO, BERTHRONG⁶ como radiorresistentes por possuírem baixa velocidade mitótica. Não obstante esta opinião, estes autores consideram que, funcionalmente, contudo, as células parecem ser muito radiosensíveis pela diminuição da excreção da saliva, que pode ocorrer em horas após a dose inicial, em radioterapia fracionada.

Alterações mais significativas à luz da histologia, encontradas após a irradiação das glândulas submandibulares, foram os processos degenerativos, tais como picno-

se, cromatólise e cariorrexis, justificando as possíveis alterações nas secreções dessas glândulas após irradiadas.

Essas alterações provavelmente possam comprometer a produção, qualitativa e/ou quantitativa, de seus princípios ativos como o fator de crescimento de células mesenquimais¹, fator hemorrágico¹², e hiperglicemiante¹¹, Parotin^{9, 16, 24}, além de alterar as inter-relações entre essas glândulas e a hipófise, tireóides e paratireóides²⁴.

Pode-se depreender que, mesmo em irradiações experimentais, em que somente as glândulas submandibulares e sublinguais venham a ser atingidas, os reflexos da agressão às primeiras devam ser seriamente encarados.

As relações entre glândulas, quando desequilibradas, podem vir a afetar o soma provavelmente mais do que se possa supor. No processo de reparo em feridas de extração dental após terem sido irradiadas as glândulas submandibulares e sublinguais, pode-se constatar osteoclasias nas paredes alveolares e em trabéculas ósseas neoformadas. Tais eventos foram atribuídos não só às disfunções das glândulas irradiadas com reflexos diretos sobre a reparação como às ações à distância em glândulas que alterariam seu comportamento num *feed-back* desfavorável²⁰.

As células dos ácinos das glândulas dos grupos irradiados, embora tenham se apresentado em tamanhos menores do que as dos grupos I e II, exibem algumas diferenças quando comparadas às células não irradiadas; seus núcleos menos vesiculosos exibem processos degenerativos em algumas regiões, atestando a ação seletiva da radiação sobre essas estruturas. Nota-se neste grupo III desarranjo arquitetural em pequenas áreas.

Os citoplasmas das células dos ductos granulosos não exibem alterações dignas de nota; por outro lado, seus núcleos exibem picnose, cariorrexis e/ou cromatólise em maior número.

Os núcleos das células dos ductos estriados e excretores, tais como os dos granulosos e das células dos ácinos, foram os elementos estruturais celulares mais agredidos pela radiação X. Pode-se verificar que os núcleos das células dos ductos estriados, excretores e granulosos exibem alterações das quais a cariorrexis é a mais freqüente.

SANTANGELO, TOTO¹⁹, ao irradiarem camundongos com 12 R diários de radiação gama durante 100 dias sobre todo o animal, não verificaram alteração histológica ou histoquímica significativa da glândula submandibular à hematoxilina e eosina e ao PAS.

Em doze dias, tempo pós-irradiação como o de nosso trabalho, os autores teriam, em 12 irradiações, submetido os camundongos a um total de 144 R, isto é, pouco acima da dose única administrada aos animais em nosso trabalho (138 R).

Considerando-se haver um pequeno *decay* no *quantum* de radiação, com o passar dos dias, mesmo assim parece haver diferenças entre nossos resultados e os dos autores citados.

O confronto entre esses resultados permite que se formulem as seguintes observações:

1. doses únicas são mais lesivas que doses fracionadas com valor total igual às primeiras;

2. doses fracionadas, quando pequenas, aditivamente umas às outras, somente atingiriam um valor total danoso ao ultrapassar determinado limite de início de ação detectável, ou limiar.

Assim, em nosso trabalho, do primeiro ao décimo segundo dia, os tecidos sofreram, diariamente, a ação de 138 R, ao passo que, no trabalho de SANTANGELO, TOTO¹⁹, ao primeiro dia a ação de radiação gama foi de 12 R, no segundo, 24 R, e assim, sucessivamente, até ao décimo segundo dia, em que se alcançou o valor de 144 R.

Discordamos, porém, dos autores quando ao procurarem verificar a ação da radiação sobre as glândulas submandibulares irradiassem, simultaneamente, todas as glândulas de secreção interna. Não se desconhece o fato de que somente a irradiação da hipófise seja suficiente para que sua disfunção atinja as demais glândulas alterando a homeostase do animal.

Estranhamos, ainda, quando os citados autores, ao continuarem irradiar, por cem dias, o corpo todo de camundongos, num total de 1200 R, não encontraram alterações significativas quer à análise histológica pela hematoxilina e eosina, quer pelo PAS, em suas glândulas submandibulares.

ITO¹⁰, administrando 1280 R em uma simples dose de radiação X, no corpo todo de camundongos, pouco acima da radiação de SANTANGELO, TOTO¹⁹, verificou ocorrer um dano mais evidente nos ácinos, ductos estriados e nos ductos dos túbulos granulares das glândulas submandibulares e ductos interlobulares das glândulas salivares, caracterizado, primeiramente, pelas alterações degenerativas do parênquima.

Provavelmente, face ao elevado poder de penetração dos raios gama, somente os tecidos radiosensíveis viessem a sofrer sua ação cumulativa e danosa, diferentemente dos Raios X que, por suas características, atingiriam e interagiriam com as células vivas por eles alcançadas. ELZAY et al⁴, comparando a ação de doses fracionadas de radiação gama com doses de ortovoltagem, sobre as glândulas salivares maiores, concluíram que os efeitos da radiação gama não foram tão acentuados como os produzidos por estas últimas.

As diferenças de coloração entre os ductos granulados e, mais especificamente, entre as células de um mesmo ducto, à hematoxilina e eosina, indicam a ocorrência de períodos funcionais distintos das células, nos grupos controle e simulado, fato não evidenciado no grupo irradiado. Estes resultados evidenciam a quebra nos processos secretórios e excretórios das glândulas submandibulares irradiadas.

As glândulas sublinguais, não consideradas como de secreção interna, tanto no grupo-controle quanto nos grupos simulado e irradiado, não revelaram alterações dignas de nota nos estudos realizados à luz das colorações pela hematoxilina e eosina.

Esses resultados semelhantes permitem que se possa afirmar que as estruturas das glândulas submandibulares respondem diferentemente, a um mesmo nível de radiação X, que os das glândulas sublinguais. Corroboramos, assim, a afirmação de ENGLISH⁵ de que das glândulas salivares maiores, as mais sensíveis, por suas alterações decorrentes de irradiações, são as submandibulares, na análise entre esta e a sublingual.

Os resultados obtidos através do PAS e pelo tratamento enzimático pela α -amilase, tanto no grupo-controle quanto no simulado, permitiram-nos afirmar que estes grupos comportaram-se de forma semelhante.

Os ácinos das glândulas submandibulares irradiadas exibiram, à galocianina e alúmen de cromo, núcleos menos vesiculosos e com tamanhos irregulares, tais como observados à coloração pela hematoxilina e eosina. Estes núcleos e nucléolos, bem como seus citoplasmas, em seus pólos basal e apical, mostraram perda de positividade. Este fato evidencia as alterações ocorridas com o RNA, pela presença de menor quantidade de ácido ribonucléico tanto nos núcleos e nucléolos quanto nos citoplasmas dessas células.

Essa menor quantidade de RNA, existente no retículo endoplasmático, significa uma redução da síntese de proteínas pela ação da radiação X nessas glândulas.

O tratamento pela ribonuclease removeu a coloração das células dos ácinos, nos grupos I e II, permanecendo, no entanto, uma quantidade de material residual no grupo irradiado. Provavelmente, a permanência dessa positividade possa ser interpretada pela impossibilidade da ribonuclease exercer sua ação enzimática sobre o RNA existente, seja por este estar molecularmente alterado, seja por alterações em seu estado de agregação.

As glândulas submandibulares e sublinguais dos animais dos grupos I e II exibiram, no citoplasma dos ductos estriados e granulosos, delicadas granulações negras, determinadas pelos grupamentos vic-glicol, evidenciados pela metanamina prata. Essas granulações foram removidas pela amilase, o que vem demonstrar a presença de homoglican.

Nas glândulas submandibulares dos animais do grupo irradiado, a quantidade dos citados grânulos estava ausente ou diminuída quando comparada à dos grânulos dos grupos I e II. Essa ausência ou diminuição de grânulos negros, ou de glicogênio, deve ser atribuída à ação da radiação X.

Pode-se depreender que a diminuição ou ausência de glicogênio, fonte de energia celular, prejudicaria sensivelmente os processos metabólicos celulares.

Os citoplasmas dos ácinos das glândulas submandibulares do grupo irradiado exibem maior positividade ao PAS, com maior evidência nas glândulas sublinguais irradiadas. Essa coloração mais acentuada foi removida, parcialmente, pela amilase no grupo irradiado; nos grupos I e II essa coloração é resistente a esta enzima.

Esses fatos poderiam ser explicados pelo provável acúmulo de glico e mucoproteínas nos ácinos das glândulas irradiadas, pela diminuição ou cessação de seu metabolismo, ou por ausência de glicogênio, o que aumentaria a positividade dessas células.

O tratamento pela amilase removeu parte dessas glico ou mucoproteínas, solúveis em tampão fosfato pH6 usado para dissolver a amilase, diminuindo sua positividade. Bem evidente, no entanto, é a recuperação dessas glândulas quando, aos vinte quatro dias, observam-se reações semelhantes entre os três grupos experimentais.

Os ductos granuloso estriados das glândulas submandibulares e sublinguais irradiadas exibiram, ao PAS, uma quantidade menor de granulações delicadas que a dos animais-controles. A coloração dessas granulações é sensível à amilase, tendo sido totalmente removida. Tal fato foi observado à coloração pela metamina prata.

Novos estudos, porém, em nível histoquímico e, em especial, bioquímico, devem ser realizados para a perfeita compreensão dos fatos apontados neste trabalho.

CONCLUSÕES

Face à metodologia e aos resultados deste trabalho, pode-se concluir que:

1. as glândulas submandibulares e sublinguais dos animais dos grupos controle e simulado apresentaram quadros histológicos compatíveis entre si;
2. as glândulas sublinguais, nos três grupos experimentais, não revelam alterações dignas de nota ao estudo histológico, pela hematoxilina e eosina;
3. as glândulas submandibulares dos animais submetidos à radiação X apresentaram:
 - a – atrofia e processos degenerativos de seus ácinos;
 - b – processos degenerativos dos núcleos das células acinosas;
 - c – processos degenerativos dos núcleos das células dos ductos granuloso, estriados e excretorios,
4. redução de RNA tanto nos núcleos e nucléolos quanto nos citoplasmas dos ácinos;
5. redução na síntese de proteínas e,
6. ausência ou diminuição de glicogênio nos citoplasmas das células dos ductos estriados.

AGRADECIMENTOS

Aos físicos Rubemar de Souza Ferreira do CNEN e Thomaz Ghilardi Netto da FFCLRP-USP, pelas medidas das radiações utilizadas neste trabalho.

SANTOS-PINTO, M. C. dos et al. Direct action of the X-Ray on the submandibular and sublingual glands. Histologic and histochemistry study in rats. **Rev. Odont. UNESP**, São Paulo, v. 20, p. 75-88, 1991.

ABSTRACT: *The purpose of this study was to analyse the direct effect of the X-ray on the submandibular and sublingual glands surgically exposed and irradiated after had been isolated from the adjacent structures with a blade of lead. A simulated group with surgical exposition of the glands, was performed. The control and simulated groups exhibited normal aspects at histologic and histochemistry studies. In the irradiated submandibular glands occurred atrophy, architectural disorder and degeneratives processes in the cytoplasm and the nucleus of the cells of the acini. The duct cells nuclei degenerative processes such as pyknosis, karyorrhexis, and chromatolysis. It was observed an RNA reduction in the nucleus, nucleolus, and cytoplasm of the cells of the acini; absence or decrease of glycogen in the cell cytoplasm of the striated ducts and diminution of the protein synthesis.*

KEYWORDS: X Radiation; salivary gland.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ATTARDI, D.C., SCHLESINGER, M.J., SCHLESINGER, S. Submaxillary gland of mouse. Properties of a purified protein affecting muscle tissue in vitro. *Science*, v. 156, p. 1253-5, 1967.
2. BARKA, T., ANDERSON, P.J. *Histochemistry theory, practice and bibliography*. New York, Holber Medical Division, 1963.
3. CHOMETTE, G., AURIOL, M., VAILLANT, J.M., BERTRAND, J.CH., CHENAL, CH. Effects of irradiation on the submandibular gland of the rat. An enzyme histochemical and ultrastructural study. *Virchows Arch. Path. Anat. Physiol.*, v. 391, p. 291-9, 1981.
4. ELSAY, R.P., LEVITT, S.H., SWEENEY W.T. Histologic effect of fractionated doses of selectively applied megavoltage irradiation on the major salivary glands of the albino rat. *Radiology*, v. 93, p. 146-52, 1969.
5. ENGLISH, J.A. Morphologic effects of irradiation on the salivary glands of rats. *J. dent. Res.*, v. 34, p. 4-11, 1955.
6. FAJARDO, L.F., BERTHRONG, M. Radiation injury in surgical pathology. Part III. Salivary glands, pancreas and skin. *Amer. J. Surg. Path.*, v. 5, p. 279-96, 1981.
7. HADDAD, A. *Estudo crítico da coloração do ácido ribonucléico pela galocianina-alúmen de cromo*. Araçatuba: UNESP, 1965. Tese (Doutoramento) Faculdade de Farmácia e Odontologia de Araçatuba, Universidade Estadual Paulista, 1965.
8. HENDRIX, T.R. A função secretora do canal alimentar. In: MOUNT CASTLE, V.B. *Fisiologia médica*. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1974. Cap. 51, p. 1177-1206.
9. ITO, Y. Parotin: a salivary gland hormone. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* v. 85, p. 228-310, 1960.

10. ITO, M. Biological effects of X-irradiation o salivary glands of mice. *Radiat. Res.*, 30: 283-300, 1967.
11. LAWRENCE, A.M., TAN, S., HOJVAT, S., KIRSTEINS, L. Salivary gland hiperglicemic factor: an extra-pancreatic source of glucagon-like material. *Science* v. 195, p. 70-2, 1977.
12. LIN, C.D., HOSHINO, K. Hemorrhagic phenomena caused in the host mice by submandibular gland isografs from males. *Proc. Can. Fed. Biol. Soc.*, v. 12, p. 8-21, 1969.
13. LISON, L. *Histochimie et cytochimie animales. Principes et methods*. 3. ed. Paris: Gauthier-Villars, 1960.
14. MARTINELLI, C. *Homoglican e heteroglicans em germes dentais de ratos filhos de mães sem glândulas salivares. Estudo histoquímico*. Araçatuba: UNESP, 1975. Tese (Livre-Docência) – Faculdade de Odontologia de Araçatuba, Universidade Estadual Paulista, 1975.
15. MESSELT, E.B., DAHL, E. Influence of X-ray irradiation on the ultrastructure of rat submandibular gland streated-duct cells. *Acta odont. scand.*, v. 41, p. 277-82, 1983.
16. OGATA, T. The internal secretion of salivary gland. *Endocr. Jap.* v. 2, p. 247-61, 1955.
17. OKUDAIRA, S. Experimental studies on the effects of the salivary gland and hormone (parotin) upon the ossification of nasal septum of rat. *Japan J. Otol. Tokyo*, v. 58, p. 216-30, 1954.
18. ROMANI, N.F. *Alguns aspectos morfológicos das influências das radicações (Raios X) no adenômero da glândula submandibular do rato (Rattus Norvegicus Albinus, Rodentia, Mammalia), machos, adultos*. São Paulo: USP, 1972. Tese (Doutoramento) – Faculdade de Odontologia de São Paulo – Universidade de São Paulo, 1972.
19. SANTANGELO, M.V., TOTO, P.D. Radiation effects on mouse submandibular gland. *J. dent. Res.*, v. 44, p. 1291-8, 1965.
20. SANTOS-PINTO, M.C., MARTINELLI, C., SANTOS PINTO, R. Ação da radiação X sobre o processo de reparo em ferida de extração dental. Estudo Histológico em ratos. *Rev. Odont. UNESP*, v. 18, p. 143-5, 1989.
21. SASAKI, T. Chondrodystrophia foetalis. *Acta pediat. Jap.* v. 57, p. 584, 1953. Apud ITO, Y. – Parotin: a salivary gland hormone. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* . 85, p. 228-310, 1960.
22. SAVAGE, N.W., KRUGER, B.J., ADKINS, K.F. The effects of fractionated megavoltage X-irradiation on the rat submandibular gland: an assessment by electron microscopy. *Aust. dent. J.*, v. 30, p. 188-93, 1985.
23. SHAFER, W.G. The effect of single and fracionated doses of selectively applied X-ray irradiation on the histologic structure of the major salivary glands of the rat. *J. dent. Res.*, v. 32, p. 796-806, 1953.
24. TAKISAWA, N. A pathological research on the internal secretion of salivary glands. *Acta Path. Jap.*, v. 4, p. 129-66, 1954.

Recebido para publicação em 11/9/1990.