
FREDEIRICO ANDRADE E SILVA

EFEITO DO DIAZEPAM NA SECREÇÃO SALIVAR E NA ATIVIDADE
METABÓLICA DA GLÂNDULA SUBMANDIBULAR DE RATOS

Tese apresentada à Faculdade de Odontologia
de Piracicaba da Universidade Estadual de
Campinas, para obtenção do Grau de Doutor
em Ciências - Área de Concentração: Farma-
cologia.

Piracicaba - SP

■ 1989 ■

S138e

11690/BC

UNICAMP
BIBLIOTECA CENTRAL

Ao meu pai WILKENS AZEVEDO E SILVA por ter transmitido aos seus filhos e netos, o legado da honestidade, da firmeza de caráter, da dignidade e da luta pela vida, através do exemplo constante.

A minha gratidão

IN MEMORIAN...

A minha mãe, LUZIA ANDRADE E SILVA, por
todo o seu sacrifício, por todas as suas
lágrimas, seu imenso amor, dedicação e
honradez:

A minha saudade!

A minha sempre querida esposa MARIA DAS GRACAS, grande amiga e companheira que com amor, dedicação e renúncia, tem me ajudado a caminhar, a vencer os obstáculos desta jornada, muito dura, porém gratificante:

Aos meus filhos, verdadeiros referenciais da minha vida!

Dedico este trabalho

Ao Professor Doutor JAIME APARECIDO CURY,
orientador competente, pesquisador de
aguçado espírito científico, nos condu-
ziu durante todas as etapas desta pesqui-
sa, a fim de conseguirmos um trabalho
sério.

Nossos agradecimentos.

AGRADECIMENTOS

- Ao Professor Doutor PAULO RENATO COSTA SOUZA, Magnífico Reitor da Universidade Estadual de Campinas - UNICAMP, pela manutenção do alto nível do ensino e pesquisa nesta Universidade;
- Ao Professor Doutor ANTONIO WILSON SALLUM, Chefe do Departamento de Prótese e Periodontia da Faculdade de Odontologia de Piracicaba - UNICAMP, pelo apoio recebido;
- Ao Professor Doutor THALES ROCHA DE MATTOS FILHO, pela amizade fraterna e pelas sugestões oferecidas a este trabalho;
- Ao Professor Doutor JOSÉ RANALI, pelas igualmente importantes sugestões oferecidas;
- Ao Professor Doutor EDUARDO DIAS DE ANDRADE, que muito nos tem honrado com sua amizade e pela ajuda recebida;
- Ao Professor RONALDO SEICHI WADA, pela orientação dos estudos estatísticos;
- A Sra. SUELI DUARTE DE OLIVEIRA SOLIANI, que gentilmente nos auxiliou na ordenação da revisão bibliográfica deste trabalho;
- Ao Sr. WALDOMIRO VIEIRA FILHO, Técnico do Laboratório de Bioquímica Oral da F.O.P., pelo importante auxílio na fase experimental da tese;
- A Sra. NANCIR APARECIDA TULIO DOS SANTOS, pela presteza na datilografia da tese;

- Ao Sr. IVES ANTONIO CORAZZA, pela competência das cópias da tese realizadas no computador;
- Finalmente a todos, que direta ou indiretamente contribuíram para a realização deste trabalho, nossos sinceros agradecimentos.

I N D I C E

	Pag.
CAPITULO I	
1. INTRODUÇÃO	10
2. REVISTA DA LITERATURA.	13
CAPITULO II	
1. PROPOSIÇÃO DO TRABALHO	30
CAPITULO III	
1. MATERIAIS E METODOS.	32
CAPITULO IV	
1. RESULTADOS	36
CAPITULO V	
1. DISCUSSÃO.	41
CAPITULO VI	
1. CONCLUSÕES	45
CAPITULO VII	
1. RESUMO	47
CAPITULO VIII	
1. SUMMARY.	49
CAPITULO IX	
1. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS	51

CAPÍTULO I

1. INTRODUÇÃO

A xerostomia é um sintoma de distúrbios das glândulas salivares, caracterizada pela diminuição do volume de saliva na cavidade bucal. HEIDENHALN, já em 1878⁽³²⁾ comunicava casos severos de rachaduras na língua como consequência desse distúrbio, HASS em 1898, publicou ao que parece a primeira coleta de dados, com 39 casos, sendo citado por FELLEENZ, em 1903⁽²⁴⁾ que reuniu 38 catalogações.

MUNCK em 1925, GERMUNDSEN em 1933, DALSGAARD E NIELSEN em 1937 e BLACK em 1942, diagnosticaram pacientes xerostômicos, sendo citados por FABER, em 1943.⁽²⁹⁾

Apesar da salivação estar historicamente associada com grande número de pesquisas na neuropsiquiatria (CANNON; 1937⁽⁴¹⁾ PAVLOV, 1927;⁽⁵⁵⁾ ROSENZWEIG, 1959),⁽⁶¹⁾ hoje a saliva e a determinação quantitativa do fluxo salivar, tem sido estudada com objetivos que vão desde sua importância no processo mastigatório, digestão química até a relação da concentração de água e de sua composição com o balanço eletrolítico do corpo (MAYHALL, 1975⁽⁴⁰⁾).

No contexto de saúde bucal, a saliva possui um papel importante na manutenção das estruturas mineralizadas e tecidos moles na cavidade bucal. Pacientes sofrendo de xerostomia apresentam alterações na mucosa bucal, soluções de continuidade na superfície da língua (PRINZ, 1932)⁽⁵⁶⁾ e dificuldades de deglutição (CHEN, 1979).⁽⁴²⁾

No que concerne a incidência de cárie dental, tem sido demonstrado que a saliva exerce papel muito importante no controle do processo de desenvolvimento de lesões cariosas. Assim é que ALDOUS (1964),⁽¹⁾ relatando trabalhos de alguns autores, concluiu que a saliva é a primeira linha de defesa contra a cárie dental, e uma alteração quantitativa no fluxo, ou qualitativa em sua composição pode provocar aumento do índice de cárie.

MORSE e cols. 1983,⁽⁵²⁾ analisando as variações que ocorrem na saliva de pacientes estressados em relação ao aparecimento de cárie dental; considera quatro aspectos: volume, proteína, bactéria e pH. Em condições normais, grandes volumes de saliva e saliva aquosa, podem ter um efeito de limpeza sobre as superfícies oclusal e inter-proximal dos dentes. Altas concentrações de cálcio, fósforo e fluoreto na placa dental, poderiam reduzir a solubilidade do esmalte e diminuir a atividade das bactérias da placa. A variação de glicoproteínas pode ser importante no processo de evolução da cárie dental, pois glicoproteínas de baixo peso molecular aderidas à superfície dos dentes previnem a aderência de certas bactérias com potencial cariogênico. Por outro lado corticosteroides liberados durante o estresse, inibem a imunoresposta, de forma que imonoglobulinas especialmente a IgA e outros agentes antimicrobianos como a lactoferrina, a lisozima e a lactoperoxidase são inibidos.

A xerostomia é consequência de uma série de causas, resultando em uma maior ou menor inibição da ação das glândulas salivares, provocada por alterações orgânicas ou funcionais, afetando o sistema salivar em diferentes níveis (MANSON & CHISHOLM, (1975)⁴⁶ MANDEL & WOTMAN, 1976).⁽⁴⁵⁾ Os núcleos salivatórios podem ser influenciados pela emoção, neurose, doenças orgânicas ou drogas. As vias autonômicas podem ser afetadas por encefalite, tumores cerebrais, neurocirurgias, acidentes e um grande número de drogas. A glândula salivar, por si só, pode ter diminuída sua secreção por aplasia, obstrução, infecção, idade, doenças sistêmicas tais como a síndrome de Sjogren e radiação ionizante que provoca a degeneração de seus ácinos (GLASS e cols., 1984).⁽²⁷⁾

Finalmente, alterações nos fluidos orgânicos no equilíbrio de eletrólitos, provocadas por desidratação, diabete insípido, falha cardíaca, uremia e edema podem também diminuir a salivação (NEWBRUN, 1983).⁽⁵³⁾

Particularmente, com relação a drogas *BAHAN & COHN*, 1974⁽⁴⁾ relacionou mais de 250 tipos com potencial xerostômico. A medicação prolongada com estas drogas pode resultar em cáries rampantes (*ALDOUS*, 1964;⁽¹⁾ *STEVENS & WILKINSON*, 1971⁽⁷⁹⁾; *BAHN & COHN*, 1974).⁽⁴⁾ Além do mais demonstra-se experimentalmente que drogas xerostômicas diminuem a retenção de próteses totais superiores (*OSSLUND*, 1960⁽⁵⁴⁾ e *CHEN*, 1979).⁽¹²⁾

Tendo em vista o exposto, o objetivo do presente trabalho foi avaliar o efeito de uma droga de larga utilização (diazepam) nas funções das glândulas salivares.

2. REVISTA DA LITERATURA

I - Causas e conseqüências da xerostomia

A xerostomia é uma manifestação de alteração nas glândulas salivares que pode ser de várias causas, resultando em uma maior ou menor inibição na produção de saliva.

As origens da xerostomia podem ser agrupadas em três categorias: 1 - Influência Psicogênica; 2 - Atrofia das glândulas salivares em pessoas idosas por causas idiopáticas e 3 - Distúrbios neurofuncionais do bulbo (PRINZ, 1932).⁽⁵⁶⁾

FABER 1943⁽²⁹⁾ reúne as causas da xerostomia em: Doenças da glândula salivar propriamente dita, anemia perniciososa e xerostomia idiopática.

HAUSLER e cols. 1977,⁽³¹⁾ estudando o método de cirtigrafia para o diagnóstico diferencial de xerostomia, relatam que a sialose pode estar associada a desordens hormonais, tais como: amenorréia, esterilidade, distúrbios na menopausa, impotência, hipo ou hipertireoidismo e diabetes, ou desordens metabólicas causadas por deficiência nutricional e alcoolismo. Finalmente, fatores associados no uso de drogas, como o antimuscarínico atropina e seus derivados e particularmente psicotrópicos como a imipramina, os benzodiazepínicos, os antiparkinsonianos e agentes hipotensivos como a reserpina, podem tornarem-se agentes desencadeadoras de xerostomia. Por outro lado, conquanto a fisiopatologia da xerostomia na sialose não está perfeitamente elucidada, histologicamente, a mesma é caracterizada pelo aumento dos ácinos celulares e resulta em desordens na secreção da glândula, como por exemplo retenção intracelular de saliva.

MATHEW e cols. 1979,⁽⁴⁸⁾ analisando os níveis xerostômicos e de sialismo em cinquenta e um pacientes, concluíram que a xerostomia está associada a ansiedade traço do indivíduo e que sialorréia é afetada pelo estado de ansiedade. Cárie dental, pa-

rotidites e monilíase são relatadas como complicações xerostômicas, e alguns autores citados por *MATHEW e cols.*, sugerem que a determinação dos níveis plasmáticos de alguns psicotrópicos pode ser substituída pela determinação do fluxo salivar. Embora a diminuição do fluxo salivar esteja associado com a depressão, existem ainda dúvidas sobre as relações entre o grau de depressão e os sintomas (ansiedade e fluxo salivar). Afirmam ainda que, seus resultados mostraram que a sensação de "boca seca" e, menos frequente o excesso de salivação, foram observados nos pacientes deprimidos e que não receberam nenhum tipo de droga.

BERTRAM e cols. 1979,⁽⁶⁾ observando os efeitos da nortriptilina sobre a secreção salivar, verificaram que o tratamento prolongado com esse antidepressivo é seguido de hiposecreção e que essa redução de secreção é reversível. Retomando-se o tratamento ocorre nova diminuição da secreção salivar. Portanto, os autores concluem que a alteração dos níveis de secreção é um indicador dos efeitos colaterais da droga.

Com relação a variação no grau de retenção de dentaduras, em pacientes xerostômicos, trabalhos como os de *SNYDER e cols.* 1945;⁽⁶⁸⁾ *STANITZ*, 1948;⁽⁷¹⁾ *BRILL e cols.*, 1959;⁽⁷⁾ *OSTLUND* 1960⁽⁵⁴⁾ e *CHEN* 1979,⁽¹²⁾ inferem que a retenção das próteses totais é favorecida por um intrincado mecanismo que anula o deslocamento das mesmas, e que a saliva auxilia nesse mecanismo através de forças físicas como adesão, coesão, atração capilar, tensão superficial, pressão atmosférica e viscosidade. As forças físicas operam na película localizada entre a base da dentadura e a superfície dos tecidos. A retenção das próteses totais requer a adesão da base da dentadura com a mucosa através da saliva, bem como a coesão das moléculas de uma na outra. No que concerne ao grau de viscosidade da saliva, sabe-se que esse é um importante fator de retenção, pois dificulta deslocamentos da prótese, principalmente nos estágios iniciais de adaptação. Assim a diminuição do fluxo salivar ou seu grau de fluidez, pode comprometer a resistência das dentaduras ao movimento em seu apóio basal, principalmente na direção vertical.

SPIELMAN 1981,⁽⁶⁹⁾ relatando dados da literatura, des-

creve que a xerostomia é causada por fatores orgânicos ou funcionais, que afetam o sistema salivar em diferentes níveis, e que o centro de secreção salivar pode ser influenciado por emoções, neuroses, doenças orgânicas ou drogas. Assim como a trajetória dos nervos autônomos pode ser afetada por tumores cerebrais, neurocirurgias, acidentes e um grande número de drogas. Por outro lado, as glândulas salivares podem ter suas funções diretamente diminuídas em decorrência de aplasias, obstruções, infecções, irradiação, idade e doenças sistêmicas como a síndrome de SJOGREN. Variações no balanço eletrolítico como desidratação, diabetes insípido, falha cardíaca, uremia e edema, podem também diminuir a salivação. Com referência às drogas que afetam a secreção salivar são incluídos os antidepressivos, os anticonvulsivos e os sedativos. Acrescenta ainda que as queixas de pacientes xerostômicos, vão desde sensação de queimaduras na boca, dificuldade em engolir, diminuição do grau de retenção das dentaduras, além da rápida progressão dos índices de cárie dental. E ao exame clínico fendas e fissuras podem estar presentes na comissura labial. Em sua pesquisa SPIELMAN e cols. 1981⁽⁶⁹⁾ mostraram que de 61 pacientes com sintomas de boca seca, decréscimo de fluxo salivar foi observado em 56.

MIKKELSEN e cols. 1982⁽⁵⁴⁾ examinando o efeito inibidor de vários antidepressivos, sobre a salivação, concluíram que drogas como a isocarboxazida não possuem efeito, a zimelidina e a nomifensina pouco efeito a imipramina oxida e a mianserim possuem moderado efeito sobre a salivação, enquanto que a maprotilina, a nortriptilina, a clormipramina e a amitriptilina, mostraram-se com pronunciado efeito.

Segundo GLASS e cols. 1984,⁽²⁷⁾ a xerostomia refere-se a condições clínicas subjetivas em relação à quantidade de saliva secretada sem que haja um limite entre o normal e anormal. O paciente pode queixar-se de sentir secura na boca, que interfere na fala e mastigação de alimentos.

As glândulas salivares ficam propensas a infecções, uma vez que a diminuição do fluxo salivar possibilitará o acesso das bactérias para dentro da glândula. Sugere-se que IgA das secre-

ções mucosas deve inibir a aderência de organismos potencialmente patogênicos às membranas mucosas e deste modo preveniria a infecção. (GLASS e cols, 1984).⁽²⁷⁾

Etiologicamente a xerostomia pode ser dividida em três grupos: 1 - As de origem radioativa; 2 - As de ordem farmacológica, e, 3 - As de origem sistêmica, não relacionadas as radioativas e farmacológicas. Em relação aos agentes farmacológicos com potencial xerostômico, GLASS e cols. 1984,⁽²⁷⁾ menciona que BAHN & CONN (1974)⁽⁴⁾ listou cerca de duzentos e cinquenta drogas potencialmente ativas.

FOX e cols. 1985,⁽²⁵⁾ relatam que a diminuição da quantidade de saliva na boca traz desconforto e queda na qualidade de vida. A sensação de "boca seca" efetivamente está relacionada com distúrbios na função salivar, sendo possível que fatores fisiológicos, bioquímicos e neurológicos contribuam para a produção e percepção de saliva na boca. O fluxo salivar, sua viscosidade e composição iônica, conduzem a uma lubrificação adequada dos tecidos orais. Alterações na função das glândulas salivares, são de considerável significado para a saúde da boca e dos dentes. A lubrificação da superfície da mucosa oral é exercida por glicoproteínas específicas associadas à água e eletrólitos. A modulação da população de bactérias está apoiada pela aderência microbiana e agregação molecular na saliva e por alguns sistemas antibacterianos imunológicos e não imunológicos (Lisozima, Lactoferrina, Lactoperoxidase e Imunoglobulina-A secretora). Em sequência a sua consideração, FOX e cols., 1985⁽²⁵⁾ admitem que a integridade da calcificação dos tecidos dentais é mantida em parte pela eficácia e alta solubilidade de soluções supersaturadas de cálcio e fósforo na saliva, propriedade mediada por grupos de proteínas produzidas pelas glândulas parótidas e submandibulares (estaterina e proteínas ricas em prolina).

II - Agentes farmacológicos com potencial xerostômico

Como vimos anteriormente, os autores ao abordarem as causas de xerostomia, sempre o fazem citando os agentes farmacológicos como potencialmente ativos. E com relação às drogas que induzem à xerostomia, temos os tranquilizantes, que são estudados em psicofarmacologia, e que cuja ação principalmente é exercida sobre os processos mentais e ou emocionais, modificando a atividade psíquica (HIMWICH, 1958).⁽³³⁾

Os psicofármacos ou drogas psicofarmacológicas, são sem dúvida alguma, os mais importantes medicamentos tranquilizantes (DELAY e DENIKER, 1961),⁽¹⁶⁾ por isso achamos conveniente, antes de uma síntese de sua descrição, descrever algumas noções sobre a fisiologia das emoções.

As manifestações afetivas da mente ou emoções como o medo, a ira, a tristeza e a alegria, possuem um componente psíquico e outro somático, que consistem em modificações no funcionamento orgânico. É de aceitação corrente que os estados emocionais são acompanhados de modificações musculares, tais como: tremor durante o medo; depressão muscular durante a tristeza; variações na função glandular como secura na boca e lacrimejamento; alterações cardiovasculares como a taquicardia, a palidez por vasoconstrição periférica e a hipertensão arterial. Portanto, as emoções são acompanhadas de atividade integrada do sistema nervoso central e autônomo, intervindo tanto na divisão simpática como parassimpática deste último. Assim, durante o medo existe maior atividade simpática (taquicardia, vasoconstrição, hipertensão arterial, midríase e descarga de adrenalina) e parassimpática (secreção lacrimal). Na regulação que acabamos de descrever intervém um conjunto de centros nervosos: sistema reticular ativador ascendente, hipotálamo e a córtex cerebral, incluindo o sistema límbico (KEELE e cols., 1965;⁽³⁴⁾ RUCH, 1965).⁽⁶²⁾

O sistema reticular ativador ascendente é um sistema mesodiencefálico, que compreende a formação reticular e as projeções tálamo-corticais difusas, e que desempenha papel importante

na fisiologia das emoções. Esse sistema está conectado com o hipotálamo e com a córtex cerebral. O hipotálamo é um centro de integração do sistema nervoso autônomo e rege as manifestações viscerais e emocionais, assim como também influi sobre a atividade somática, através de "vias" que se dirigem à formação reticular (RUCH, 1965).⁽⁶²⁾

Os centros autônomos são regulados por mediadores químicos, os quais segundo BRODIE e SHORE, 1957⁽⁹⁾ são a noradrenalina para os centros simpáticos (fibras adrenergéticas) e a serotonina para os centros parassimpáticos (fibras serotonérgicas).

A córtex cerebral age evidentemente na fisiologia emocional. O sistema límbico compreende essencialmente o hipocampo, o cíngulo, o corpo amigdalóide, seu núcleo e os núcleos septais. A estimulação elétrica destas formações resulta em reações de ira ou de medo e outras vezes pode produzir apatia e depressão emocional (LAMMERS, 1972).⁽³⁸⁾

Com o nome de drogas tranquilizantes, ou drogas depressoras psicotrópica, se designam as que possuem um efeito calmante da hiperexcitabilidade nervosa, sem embotamento da consciência e sem tendência ao sono, desde que administradas nas doses usuais. Tratam-se de depressores seletivos do sistema nervoso central, o que os diferencia dos sedantes que são depressores não seletivos e possuem além das propriedades citadas, tendência ao sono e embotamento da consciência. É interessante assinalar que algumas drogas tranquilizantes não só possuem uma ação calmante, como são capazes de modificar o processo psicopatológico. Isso ocorre porque esses fármacos atuam principalmente ao nível subcortical, sobre todo o hipotálamo, sistema reticular e sistema límbico. Os depressores seletivos, agem sem atuar de forma preponderante sobre a córtex cerebral, de maneira que diminui o excesso de estímulos que se dirigem à córtex. Por outro lado os antigos sedantes (barbitúricos e brometos), sendo sedantes não seletivos, deprimem não só a formação reticular, como também a

córtex cerebral, de modo que unicamente produzem alívio sintomático sem permitir que o paciente reorganize seu processo psíquico e seu equilíbrio mental (LEHMANN, 1958).⁽³⁹⁾

As drogas depressoras psicotrópicas são úteis, não só nas psicoses, cujos pacientes possuem transtornos mentais mais graves, que afetam profundamente a personalidade e são tratados com os antipsicóticos ou neurolépticos (por exemplo, clorpromazina). Os tranquilizantes são também empregados nos transtornos mentais mais leves, como nas neuroses, tão frequentes na vida moderna, cujas alterações mentais são relativamente benignas e caracterizadas geralmente por manifestações somáticas (tensão e ansiedade) sendo tratadas com os benzodiazepínicos, drogas de ação mais leve (SCHIELE, 1962).⁽⁴⁴⁾

Por isso os tranquilizantes são divididos em duas categorias, de acordo com sua ação farmacológica:

1 - Os neurolépticos - como as fenotiazinas dimetilicas (promazina), clorpromazina e metotrimeprazina); as fenotiazinas piperazínicas (proclorperazina, trifluoperazina, tiorpoperazina, perfenazina e flufenazina); as fenotiazinas piperidínicas (tioridazina); as butirofenonas (haloperidol, trifluperidol, droperidol) e os alcalóides da rauwolfia (reserpina, deserpina e rescinamina).

2 - Os tranquilizantes, que são divididos em dois grupos:

- a) os alcalóides (meprobamato e fenaglicodol);
- b) os benzodiazepínicos (clordiazepóxido, diazepam e oxazepam) (DANIELS e JORGENSEN, 1966).⁽⁴³⁾

Dentre as drogas psicotrópicas depressoras, os tranquilizantes são os mais largamente administrados pois são leves, indicados para os estados de tensão e ansiedade, agindo como calmantes psíquicos não dando lugar a síndrome neurológica. E em

decorrência de produzirem certa sedação são considerados como tranquilossedantes (LEWIS, 1965).⁽⁴⁰⁾

1 - Benzodiazepínicos

Nos animais e no homem, e em pequenas doses essas drogas não modificam o eletroencefalograma; em doses maiores há diminuição da frequência e um aumento de amplitude das ondas, intercalado com períodos de atividade rápida de baixa voltagem. Em ratos diminuem a atividade motora e tem efeito calmante. Aumenta o efeito hipnótico dos barbitúricos e do álcool, em doses muito elevadas produzem ataxia e morte por parada respiratória (CARRIGO e cols., 1965).⁽²⁾

Os benzodiazepínicos, constituem o grupo de drogas tranquilizantes mais modernas e atualmente muito utilizadas, pois são excelentes relaxantes musculares em virtude da depressão dos reflexos espinais. Em animais de laboratório, os benzodiazepínicos tem se mostrado potente anticonvulsivante, inibindo as convulsões produzidas pelo choque elétrico (KATZ e cols., 1965).⁽³⁵⁾

Por outro lado os derivados benzodiazepínicos tem se mostrado muito mais potentes que o meprobamato; apesar de possuírem ação farmacológica semelhante, diferem no caráter curativo e sua potência varia segundo a dosagem, espécie animal e método terapêutico utilizado. (SWINYARD e CASTELLION, 1966).⁽⁷⁴⁾

Os tranquilizantes e em particular os benzodiazepínicos possuem portanto efeito sedativo, sobre os estados de tensão emocional e de ansiedade, diferindo dos neurolépticos por não serem ativos nos tratamentos de psicose, mas sim nas neuroses, nos estados de tensão e ansiedade. Além disso não produzem catatonia em doses elevadas e não causam síndrome extrapiramidal. Atuam no sistema límbico ("Cerebro emocional", onde residem os sentimentos de base: medo, prazer, ira, sociabilidade, sexualidade), na substância reticular (Sistema ativador ascendente e descendente) e no hipotálamo (DAVIS, 1966).⁽¹⁴⁾

O termo benzodiazepínico, (Fig.1) refere-se a porção da estrutura composta por um anel benzênico (A), ligado a um anel

diazepínico de sete átomos (B). Contudo, visto que todos os benzodiazepínicos importantes (clordiazepóxido, diazepam, oxazepam, clorazepato, lorazepam, prazepam, alprazolam e o halazepam) contém um radical 5-aril (anel C) e um anel 1,4-diazepínico, o termo passou a representar os 5-aril-1,4 benzodiazepínico (GOODMAN & GILMAN, 1987).⁽²⁸⁾

Fig.1 - 7-cloro-1-metil-5-fenil
3H-1,4-benzodiazepínico-2(1H)-ONA

1.1 - Metabolismo

GREENBLATT e cols. 1983a,⁽³⁰⁾ observando a farmacocinética de alguns benzodiazepínicos, verificou que eles sofrem ampla metabolização, em particular por diversos sistemas enzimáticos microsossionais diferentes no fígado e os metabólitos ativos gerados são biotransformados mais lentamente do que o composto original. E como essas drogas parecem não induzir de maneira significativa a síntese das enzimas microsossômicas hepáticas, sua administração crônica, em geral não resulta na aceleração do metabolismo de outras substâncias e das próprias benzodiazepinas.

SMITH e cols. 1983,⁽⁶⁷⁾ estudando os estágios de biotransformação de benzodiazepínicos, verificou que com exceção do triazolam e do alprazolam, em um primeiro estágio, os metabólicos derivados são compostos N-desalquilados (Nordazepam biotransformado do Diazepam), todos biologicamente ativos. O segundo estágio envolve a hidroxilação e em geral também origina um derivado ativo (o-oxazepam a partir do nordazepam). A velocidade desta rea-

ção costuma ser muito mais lenta do que o primeiro estágio (meia vida superior a 40 ou 50 horas), de tal forma que não ocorre acúmulo de produtos hidroxilados com grupamentos intactos. O terceiro estágio principal é a conjugação do composto 3-hidroxila, principalmente com ácido glicurônico; as meias vidas de tais reações situam-se em geral, entre 6 a 12 horas, e os produtos originados são invariavelmente inativos.

1.2 - Diazepam

O diazepam foi sintetizado por *STERNBACH* e *REEDER*, 1961⁽⁷²⁾ tendo-se seguido então várias pesquisas relativas a seu efeito farmacológico e clínico, comparando-o principalmente ao Librium (clordiazepóxido), medicamento anteriormente utilizado em larga escala por sua ativa ação farmacológica no tratamento clínico de desordens psíquicas e depressão.

Alguns efeitos clínicos e farmacológicos do diazepam foram descritos por *RANDALL* e cols. 1961,⁽⁶⁰⁾ que como agente psicoterapêutico, possui ação qualitativa similar ao clordiazepóxido, sendo porém mais potente na maioria dos testes de laboratório e clínicos. Como tranquilizante e miorelaxante em animais, mostrou-se cinco vezes mais potente que o clordiazepóxido e aproximadamente dez vezes mais potente como anticonvulsivo. Tendo sido ainda observado, que os níveis de tolerância clínica em animais e humanos foram muito bons.

KERRY e *JENNER*, 1962,⁽⁹⁷⁾ avaliando a ação farmacológica do clordiazepóxido e do diazepam, em pacientes de ambos os sexos, concluíram que a mudança molecular na fórmula do clordiazepóxido originando o diazepam, produziu aumento da atividade farmacológica da droga. Assinalaram também que a elevação da ação terapêutica foi proporcional à sonolência, na dosagem de 10mg tres vezes ao dia, acompanhada de um excelente grau de tolerância em relação aos seus efeitos tóxicos.

SCHWARTZ, 1963,⁽⁶⁶⁾ pesquisando a eliminação do diazepam marcado com tritium (³H), em ratos, verificou que após a administração de 0,6 mg/kg, os animais excretaram 22% do ³H pela urina e

57% nas fezes. O tempo de meia vida do diazepam no sangue foi de 7-10 horas e de seus derivados foi de 3 dias.

Com relação ao homem, no que concerne ao alívio dos estados de ansiedade e administrado como ansiolítico, o diazepam é duas vezes mais potente que o clordiazepóxido e o oxazepam (DENEMAN, TOBIM e cols., 1964^(17, 26)).

No rato, a ação tranquilizante e relaxante muscular do diazepam é aproximadamente cinco vezes mais potente que o clordiazepóxido e três vezes mais que o oxazepam. E a ação anticonvulsiva do diazepam e oxazepam é cerca de dez vezes mais potente que o clordiazepóxido. (KATZ e cols., 1965⁽³⁵⁾).

Como derivado dos benzodiazepínicos o metabolismo do diazepam, segue farmacocinética semelhante. Pois se transforma em composto desalquilado (nordazepam), em seguida é hidroxilado (oxazepam) e, no terceiro estágio se conjuga com o ácido glicurônico, biotransformado em produto inativo. É absorvido rapidamente, atingindo picos de concentração em cerca de 1 hora em adulto e 15 a 30 minutos em crianças. Sua N-desalquilação em metabolito ativo (nordazepam), pode aumentar de duas a três vezes, a meia vida biológica. Esses metabolitos ativos (nordazepam e oxazepam), resultado da biotransformação da droga, ligam-se as proteínas plasmáticas, à uma amplitude que tem correlação com a solubilidade lipídica chegando próximo a 99%. Tendo sido verificado ainda, que picos secundários de concentração plasmática do diazepam variavam de 6 a 12 horas, mais provavelmente devido à recirculação entero-hepática (DETTLI, 1983a⁽¹⁸⁾).

No primeiro estágio, o diazepam é biotransformado em composto N-desalquilado, biologicamente ativo (nordazepam). O segundo estágio envolve a hidroxilação, e em geral também origina um derivado ativo (oxazepam). As velocidades de tais reações costumam ser muito mais lentas do que o primeiro estágio (meias vidas superiores a 40 ou 50 horas). O terceiro estágio principal é a conjugação do composto 3-Hidroxila, principalmente com ácido glicurônico; as meias vidas de tais reações situam-se, em geral, entre 6 e 12 horas, e os produtos originados invariavelmente são inativos (GOODMAN & GILMAN, 1987⁽²⁸⁾).

III - Estimulação simpática e parassimpática

Um dos efeitos colaterais da medicação com drogas tranquilizantes é a sensação de "boca seca" (HAUSLER e cols., 1977⁽³¹⁾; MATHEW e cols.⁽⁴⁹⁾, e BERTRAM e cols., 1979⁽⁶⁾, RAFAELSEN e cols., 1981⁽⁵⁹⁾; MIKKELSEN e cols., 1982⁽⁵¹⁾; GLASS e cols., 1984⁽²⁷⁾, FOX e cols., 1985⁽²⁵⁾). E a terapêutica, anteriormente muito utilizada para pacientes de "boca seca", era a administração de pilocarpina, um alcalóide de ação parassimpatomimética, que estimula as estruturas inervadas por fibras colinérgicas pós-ganglionares, possuindo portanto ação muscarínica (LEWIS, 1965⁽⁴⁰⁾).

A pilocarpina, nos animais e no homem, possui ação sialagoga, pois em doses elevadas é capaz de ativar as glândulas salivares. Em ratos, anestesiados com nembutal e que receberam 5 mg/kg de peso corporal de pilocarpina intraperitonealmente, coletou-se de 2 a 5 ml de saliva em 20 minutos (MELVIN e cols., 1956⁽⁵⁰⁾). No homem estimulou até 300 ml de saliva de uma a duas horas; a concentração de ptialina diminui em virtude do aumento quantitativo de água; possui ação seletiva sobre as células efectoras inervadas por fibras colinérgicas pós-ganglionares, sendo que esta ação é direta sobre as referidas células, pois ocorre em órgãos desnervados e estruturas isoladas, tratando-se de uma ação muscarínica isolada com provável efeito nos receptores agonistas (DAWES e cols., 1966⁽¹⁵⁾).

MANDEL e cols., 1968⁽⁴⁴⁾, observando os efeitos estimulantes da pilocarpina sobre o fluxo salivar, descreveram que a ação da droga sobre as glândulas submandibulares é 2 a 3 vezes maior que nas glândulas parótidas. Verificaram ainda, que a estimulação da glândula submandibular por pilocarpina foi tão alta ou maior do que a obtida com ácido cítrico a 2%.

STAHLIN e cols., 1978⁽⁷⁰⁾, descreveram técnica para coletar saliva da parótida de ratos e administrando pilocarpina na dosagem de 7 mg/kg de peso corporal observaram que a ação parassimpatomimética na glândula parótida, a qual cessou após 200-240 minutos, provocou um fluxo salivar contínuo de 0,01 a 0,02 ml/min. quando a administração da pilocarpina foi mantida por

infusão.

Tem sido demonstrado que a estimulação simpática em ratos causa efeito contrário à estimulação parassimpática; isto é, escassa secreção de saliva com conteúdo rico em amilase, enquanto que a estimulação parassimpática provoca abundante salivação com pequeno conteúdo de amilase (YOUNG e SCHNEYER, 1972^(7B)).

Como relatado por SCHNEYER (1975)⁽⁶⁵⁾, as glândulas salivares de ratos são inervadas por fibras motoras autonômicas simpáticas e parassimpáticas, e qualquer estímulo nesses ramos, provoca secreção de saliva, porém com características diferentes, de acordo com o tipo de fibra motora ativada. Por exemplo, com respeito aos constituintes inorgânicos da saliva, as concentrações de potássio e bicarbonato são particularmente altas quando estimulado o ramo simpático, enquanto que a máxima secreção de saliva ocorre notadamente quando é ativado o ramo parassimpático.

IV - Salivação

Em relação a produção de saliva YOUNG e VAN LENNEP, 1979⁽⁷⁹⁾, descrevem que isso é um processo que envolve dois estágios: o primeiro estágio refere-se à formação de saliva primária, isotônica, no ácino glandular; no segundo estágio ocorre modificação da saliva primária via fluxo eletrolítico, no sistema de ductos, tornando-a hipotônica. O sódio (Na^+) é reabsorvido e o potássio (K^+) é secretado pelo ducto. Isso provoca alterações na composição da saliva que fica semelhante ao plasma, com baixa concentração de sódio e altas taxas de potássio (K^+). Diz ainda que a composição primária de saliva independe geralmente de estímulos, contudo a bomba iônica do sistema de ductos é diferentemente afetada por estimulação do receptor muscarínico do parassimpático e adrenoceptores alfa e beta do simpático.

BYLUND e cols., 1981⁽⁴⁰⁾, e anteriormente THULIN, 1976⁽⁷⁵⁾, descrevem que a glândula salivar submandibular de ratos possui tres tipos distintos de receptores adrenérgicos (alfa-1, alfa-2 e beta-1), além do receptor muscarínico colinérgico.

A estimulação do receptor-alfa "in vivo", produz len-

tamente grandes quantidades de saliva com composição idêntica a saliva oriunda da estimulação dos receptores colinérgicos. A estimulação do beta-receptor promove volumes menores de secreção salivar, diferente em sua composição eletrolítica e com altas taxas de proteína, se comparada com a estimulação de receptores colinérgicos. Por outro lado, "in vitro", a estimulação do receptor colinérgico e do receptor alfa-adrenérgico causa a liberação, de potássio, enquanto que a estimulação do receptor beta-adrenérgico induz a secreção de mucina (QUISSEL e cols., 1981⁽⁵⁸⁾).

O transmissor nervoso é um componente químico liberado para produzir impulso nervoso que agirá sobre o efector celular, através de uma direta interação com o receptor específico na célula. Dois são os transmissores nervosos que exercem esse papel sobre as glândulas salivares: a norepinefrina com localização no sistema nervoso simpático, que ativa os receptores adrenérgicos alfa e beta, e a acetil-colina, no parassimpático, que ativa o receptor muscarínico-colinérgico (GARRETT, 1982⁽²⁶⁾).

Além da importância do neurotransmissor e dos receptores ativados, para a produção de saliva, alguns autores levantaram a hipótese da influência do cálcio sobre as células das glândulas salivares. Estudos em glândulas submandibulares de ratos, após a estimulação de receptores colinérgicos e adrenérgicos-alfa, sugeriram que ocorre um influxo de cálcio na célula da glândula salivar quando é realizado estímulo por agentes simpato-miméticos (PUTNEY e PAROD, 1978⁽⁵⁷⁾). Porém o exato papel do cálcio como indutor na secreção salivar, não está perfeitamente esclarecido, contudo seu efeito pode estar relacionado com o fluxo de sódio, ou com a bomba iônica, através de complexas ligações entre o cálcio e proteínas (WEST, 1982⁽⁷⁷⁾).

Outras observações a respeito do sódio e bomba iônica, em glândulas salivares submandibulares de ratos, após a estimulação simpática, indicaram que o sódio extracelular é utilizado quando os receptores adrenérgicos são ativados, para induzir a secreção. Quando os receptores colinérgicos e alfa-adrenérgicos são estimulados, há o fluxo iônico, ativando a bomba iônica e a transferência osmótica de água. Isso pode sugerir que um mecanis-

mo similar funciona em resposta a todos os estímulos autonômicos, envolvendo um movimento de fora para dentro do sódio em relação a célula. A estimulação com isoproterenol induz a liberação de potássio da glândula, interferindo no potencial de membrana das células das glândulas salivares, de forma que isso ativa o receptor beta-adrenérgico, dando início a atividade de condução da bomba de sódio e potássio (MARTINEZ e CASSITY, 1983⁽⁴⁷⁾).

Em relação ao homem (GRAD e cols., 1985⁽²⁰⁾), descreveram que cerca de 1.000 a 1.500 ml de saliva são secretadas diariamente, contendo líquido seroso (Parótida e submandibular), e mucoso (sublingual e glândulas salivares menores). Essas glândulas são inervadas pelos ramos simpáticos e parassimpático do sistema nervoso autônomo. Em geral a estimulação dos nervos parassimpáticos resultam em grandes secreções serosas, enquanto que a estimulação de inervação simpática em um fluxo lento. Cada uma das divisões nervosas é formada por dois tipos de fibras: uma pré-ganglionar e uma pós-ganglionar. A acetil-colina (ACH) é o neurotransmissor secretado e que atua nas terminações nervosas pré-pós-ganglionares parassimpáticas (estímulo colinérgico) e é inativada principalmente pela enzima acetil-colinesterase. O neurotransmissor liberado nas junções pós-ganglionares simpáticas é a norepinefrina (estimulação adrenérgica). Drogas podem interferir em uma salivacção normal, por alterarem o balanço eletrolítico, por interferirem nos centros salivatórios e por afetarem a transmissão sináptica pós-ganglionar (adrenérgica ou colinérgica).

LOUIE e OWYANG, 1986⁽⁴¹⁾, relatam que o transmissor nervoso é o responsável pela primeira mensagem para que a célula salivar secrete. Este neurotransmissor induz o receptor agonista a ativar outro receptor localizado na face externa da membrana plasmática da célula salivar. Se, por exemplo, o segundo receptor ativado for o beta-adrenérgico, este ativará a adenilato ciclase, propiciando a formação de AMP cíclico. Porém, se o receptor na membrana plasmática for o muscarínico colinérgico, ele ativará a fosfolipase C, que conduzirá a hidrólise do fosfatidilinositol 4,5 bifosfato (PIP₂), resultando em diacilglicerol e formação de

inositol tri-fosfato (IP_3). É importante ressaltar que além dos receptores alfa e beta, localizados na face externa da membrana da célula salivar, existem seus subtipos alfa-1, alfa-2 e beta-1 e beta-2. Esses subtipos diferem na potência com que se ligam ao receptor agonista e na função. Os autores afirmam ainda que recentemente estão sendo aceitos subtipos dos receptores muscarínicos (M-1 e M-2).

BAUM, 1987⁽⁵⁾, estudando os eventos de secreção na glândula parótida de ratos, diz estar bem estabelecido que o controle da secreção é derivado da inervação autonômica. E que o primeiro sinal para o ácino celular da glândula salivar, ocorre quimicamente, via neurotransmissor, promovendo um fenômeno que ativa mecanismo precisos de transdução de estímulos transferindo-os em seguida para a célula salivar. Descreve dois grandes mecanismos de transdução de sinais que operam no ácino celular. Um envolvendo a geração do AMP cíclico e o outro a modificação química do polifosfoinosítideo na membrana plasmática. Para ambos os mecanismos, o receptor da face externa da membrana, apropriadamente estimulado, ativa uma segunda proteína da membrana plasmática denominada de proteína N ou G. Essa proteína necessita de GTP para ativar uma enzima (adenilato ciclase ou fosfolipase C), que então catalisa a geração de uma segunda mensagem (cAMP e inositol trifostato/diaglicerol, respectivamente). Isso promove o sinal intracelular para que ocorram os eventos de secreção (proteína, fluido e eletrólitos na secreção).

CAPÍTULO II

PROPOSIÇÃO DO TRABALHO

Como vimos na Revista da Literatura, os autores ao estudarem os efeitos dos benzodiazepínicos e em particular do diazepam, o fazem principalmente de forma a entenderem sua farmacocinética.

No que concerne ao seu efeito sobre as glândulas salivares, nenhum trabalho foi encontrado em nossa revista da literatura a respeito de secreção salivar, e principalmente nas possíveis alterações crônicas que possam ocorrer na atividade metabólica dessas glândulas, especificamente nas glândulas salivares submandibulares.

Em função do exposto propusemo-nos a estudar os efeitos de diazepam sobre:

I - Secreção salivar

- 1 - Fluxo
- 2 - Concentração de proteínas

II - Atividade metabólica das glândulas salivares

- 1 - Concentração de glicogênio
- 2 - Atividade de glucose-6-fosfato desidrogenase (G6PD)
- 3 - Quociente metabólico (QO_2).

CAPITULO III

MATERIAIS E MÉTODOS

I - Materiais

Foram utilizados 115 ratos machos (Rattus Norvegicus-variedade albinus), da linhagem Wistar, provenientes do Biotério Central da UNICAMP. Esses ratos, com 21 dias de idade, recebendo água à vontade e ração comercial (Labina), foram divididos em 2 grupos:

Grupo Controle: constituído de 54 animais que durante 30 dias receberam administração subcutânea de NaCl a 0,9%.

Grupo Experimental: constituído de 61 animais que durante 30 dias receberam administração subcutânea de diazepam (Valium, Laboratório Roche), na dosagem de 0,28 mg/kg, a cada 24 horas, e concentração de 10 mg/ml.

Os animais foram pesados diariamente, após o período experimental de 30 dias, ratos dos grupos Controle e Experimental foram casualmente separados para as análises, feitas 24 horas após a última administração da droga estudada.

II - Métodos

1. Análise da Saliva

1.1. Fluxo Salivar: utilizou-se basicamente o método de MELVIN e cols., 1956⁽⁵⁰⁾. Foram utilizados 53 animais sendo 23 do grupo controle e 30 do grupo experimental. Após a anestesia

com Nembutal (36 mg/kg), administrou-se intraperitonealmente pilocarpina (7,5 mg/kg) aos animais para se avaliar o fluxo salivar. Iniciou-se a coleta da saliva três minutos após a administração de pilocarpina, o que foi feito em provetas (10 ml). O volume (ml) de saliva produzido em 30 minutos foi dividido pelo tempo, obtendo-se o fluxo salivar o qual foi expresso em ml/min.

1.2. Concentração de proteínas: na saliva coletada como descrito anteriormente, foi determinada a concentração de proteínas pelo método de *LOWRY e cols., 1951*⁽⁴²⁾, sendo os resultados expressos em miligramas de proteína por mililitro de saliva (mg/ml).

2. Glicogênio nas glândulas salivares

Foram utilizados 11 animais dos grupos controle e experimental. Eles foram sacrificados por traumatismo da coluna vertebral cervical e imediatamente após suas glândulas submandibulares foram removidas. Os pares de glândulas foram mantidas a 4°C em placas de Petri contendo NaCl a 0,9%. Glicogênio foi extraído, utilizando-se basicamente o método descrito por *JOHANN & LENTINI, 1971*⁽³⁴⁾, sendo a dosagem de açúcar total feita pelo método de *DUBOIS e cols., 1956*⁽¹⁰⁾. A concentração de glicogênio obtida foi expressa em miligramas por 100 mg de peso úmido glandular (g%).

3. Atividade da glucose-6-fosfato desidrogenase (G6PD)

Dezenove animais dos grupos controle e experimental foram sacrificados como descrito no item 2. De uma das glândulas submandibulares de cada animal foi feita uma extração proteica de acordo com o método empregado por *SASSAKI & NICOLAU* em 1982⁽³³⁾. A atividade da G6PD foi determinada pelo método de *EGGLESTON & KREBS, 1974*⁽²⁰⁾, sendo expresso em unidades de atividade enzimática por miligramas de proteínas (U/mg) nos homogenatos.

A concentração de proteínas nos homogenatos foi determinado pelo método de *LOWRY e cols.*, 1951,⁽⁴²⁾.

4. Quociente metabólico

Foram utilizados 12 animais dos grupos controle e experimental os quais foram sacrificados como descrito no item 2. Suas glândulas submandibulares removidas e mantidas a baixa temperatura foram fatiadas. As fatias de tecido foram submetidas a respirometria clássica de *WARBURG*, determinando-se o consumo de oxigênio (μO) na ausência (endógeno) e presença de substrato (glucose).

O quociente metabólico foi expresso em microlitros de oxigênio consumido por hora por miligrama de peso seco de tecido ($\mu\text{O}_2/\text{h}/\text{mg}$).

CAPÍTULO VI

RESULTADOS

1. Crescimento/desenvolvimento dos animais

A figura 2 ilustra a variação média de peso dos animais dos grupos Controle e Experimental durante o período de estudo, mostrando que o diazepam não interferiu no crescimento/desenvolvimento dos animais.

2. Saliva

Na tabela 1 estão expressas os resultados obtidos da média e desvio padrão do fluxo salivar (ml/min.) nos animais dos grupos Controle e Experimental.

Tabela I
Fluxo salivar (ml/min.) nos animais dos grupos
Controle e Experimental

Grupos	Fluxo salivar (ml/min)
Controle	*0,0546±0,0152 (23)
Experimental	0,0404±0,0186 (30)

*Média, desvio padrão e número de animais

A análise estatística dos dados da tabela I mostrou pelo teste "t" de Student que a média de redução do fluxo salivar no grupo Experimental foi significativa em relação ao Controle.

Na tabela II estão representados os resultados de concentração média de proteínas na saliva dos animais dos grupos Controle e Experimental

Tabela II
Concentração de proteínas (mg/ml) na saliva dos animais
dos grupos Controle e Experimental

Grupos	Proteína na saliva (mg/ml)
Controle	*5,60±2,21 (17)
Experimental	5,76±1,09 (19)

*Média, desvio padrão e número de animais

A análise estatística dos dados da tabela II mostrou pelo teste "t" de Student que não houve diferença significativa entre as médias de concentração de proteínas na saliva dos animais dos grupos Controle e Experimental.

3. Glicogênio

A concentração de glicogênio nas glândulas submandibulares dos animais dos grupos Controle e Experimental é mostrada na tabela III.

Tabela III
Concentração de glicogênio (g%) nas glândulas submandibulares dos animais dos grupos Controle e Experimental

Grupos	Concentração de glicogênio (g%)
Controle	*0,0357±0,0155 (11)
Experimental	0,0301±0,0113 (11)

* Média, desvio padrão e número de animais

A análise estatística (teste "t" de Student) dos dados da tabela III não revelou diferença significativa entre as médias das concentrações de glicogênio nas glândulas submandibulares dos animais dos grupos Controle e Experimental.

4. Atividade da G6PD

A atividade específica da enzima glucose-6-fosfato desidrogenase (G6PD) nas glândulas submandibulares dos animais dos grupos Controle e Experimental está expressa na tabela IV.

Tabela IV

Atividade específica (U/mg proteína) da G6PD nas glândulas submandibulares dos animais dos grupos Controle e Experimental

Grupos	Atividade da G6PD
Controle	*0,0197±0,0049 (19)
Experimental	0,0174±0,0051 (19)

* Média, desvio padrão e número de animais

Os dados da tabela IV ao serem analisados estatisticamente (teste "t" de Student) mostraram não serem significativas as diferenças de médias de atividade da G6PD nas glândulas submandibulares dos animais dos grupos Controle e Experimental.

5. Quociente metabólico - QO_2

Os resultados médios do consumo de oxigênio em termos de quociente metabólico ($\mu l O_2/h/mg$) por fatias de glândulas submandibulares dos animais dos grupos Controle e Experimental na presença e ausência de glicose estão representados na tabela V.

Tabela V

Consumo de oxigênio ($\mu l O_2/h/mg$ tecido) por fatias de glândulas submandibulares dos animais dos grupos Controle e Experimental na ausência (endógeno) e presença de substrato (glucose)

Grupos	Consumo de oxigênio $\mu l O_2/h/mg$		
	Endógeno	Glucose	
Controle	5,8	8,5	(12)*
Experimental	7,4	8,3	(12)*

* número de animais

A análise de variância dos dados da tabela V revelou um valor de F (1,89) não significativo.

CAPITULO V

DISCUSSÃO

A revisão da literatura, evidenciou que as drogas, antidepressivas, podem modificar uma salivação normal, por alterarem o balanço eletrolítico, por interferirem nos centros salivatórios de modo a ativar sistemas neuronais inibidores, por afetarem a transmissão sináptica pós-ganglionar, ou por interferirem nos receptores localizados na membrana celular das glândulas salivares.

Os resultados obtidos neste trabalho mostraram que a droga administrada diminuiu os níveis de salivação nos animais do grupo experimental e que não ocorreram alterações estatisticamente significantes no que diz respeito a concentração de glicogênio e consumo de oxigênio da glândula salivar, em comparação ao grupo controle.

Isto nos faculta deduzir que muito possivelmente, o *vallium* nas doses administradas (igual para humanos) no período de duração do experimento, não altera o metabolismo da glândula salivar. E com exceção do fluxo salivar que diminui nos animais do grupo experimental a administração da droga por períodos prolongados, de forma crônica, parece não causar danos irreversíveis às células salivares. Esses resultados de certa forma, confirmam as observações de alguns pesquisadores a respeito da ação de antidepressivos sobre o fluxo salivar (BERTRAM e cols., 1979⁽⁶⁾).

Em relação ao desenvolvimento dos animais, foi verificado que a droga, no período em que foi administrada e na concentração injetada, em comparação ao grupo controle não interferiu no crescimento dos ratos.

Um outro aspecto que nos propomos a discutir, é a respeito do local de ação da droga utilizada no experimento. Os resultados obtidos e a revista da literatura nos levam a tecer três considerações:

A primeira diz respeito a anatomia funcional do sistema nervoso autônomo, pois sabe-se de há muito (BABKIN, 1950⁽³⁾, LUNDBERG, 1958⁽⁴⁹⁾, BURGEN e EMMELIN, 1961⁽⁹⁾, e EMMELIN, 1967⁽²²⁾, que os gânglios pterigopalatino e gânglio submandibular recebem fibras parassimpáticas do núcleo salivador superior, localizado na ponte, e o gânglio ótico do núcleo salivador inferior localizado no bulbo. O gânglio pterigopalatino envia fibras pós-ganglionares às glândulas lacrimais e aos vasos sanguíneos e glândulas das membranas mucosas do nariz e no palato. As fibras pós-ganglionares do gânglio submandibular vão para as glândulas salivares submandibulares e sublinguais e também para a membrana mucosa do assoalho da boca. O gânglio ótico envia fibras pós-ganglionares para a glândula parótida. E apesar desses gânglios receberem fibras do gânglio cervical superior (simpático), estas não fazem sinapse com células ganglionares. Esses dados da literatura nos facultam deduzir que a droga utilizada no experimento pode agir também nos núcleos salivadores ou na junção sináptica parassimpática, ao nível dos gânglios ou em ambos os locais, conforme os relatos de GRAD e cols., (1985)⁽²⁰⁾. Experimentos relacionados com estimulação do tronco simpático e a injeção de adrenalina nos ductos salivares, mostraram que o fluxo de saliva ocorre com resposta de curta duração quando comparado com respostas de longa duração que se segue a estimulação parassimpática (EMMELIN e STROMBLAD, 1954⁽²¹⁾). É de supor portanto, que o efeito bloqueador da droga ao nível de sistema nervoso central, mais particularmente no sistema nervoso simpático, tem efeito desprezível ou nenhum efeito.

Uma segunda consideração baseia-se no fato de não termos encontrado diferença estatisticamente significativa, no que concerne a concentração de proteínas entre os grupos estudados. Por isso supomos, que muito provavelmente a droga possa atuar como antagonista do receptor muscarínico em nível de membrana celular, alterando dessa forma o fluxo iônico e como consequência menores níveis salivares no grupo experimental. Explicação complementar pode ser encontrada no trabalho de QUISSEL e cols., 1981⁽⁵⁸⁾, demonstrando que a estimulação do beta-receptor adre-

nérgico promove pequenos volumes de saliva, com altas taxas de proteína. Por outro lado a pesquisa de MARTINEZ e CASSITY, 1983⁽⁴⁷⁾, evidenciou que quando os receptores alfa-adrenérgicos e colinérgicos são estimulados, há o fluxo iônico, com ativação da bomba iônica e a transferência osmótica de água. Nesse caso poderíamos sugerir que a droga pode interferir, também, no receptor adrenérgico, potencializando uma diminuição no fluxo salivar nos animais do grupo experimental. Contudo como utilizamos um parasimpatomimético (pilocarpina) para promover nos dois grupos a estimulação salivar, 24 horas após a última administração da droga e sabendo-se que os metabólitos ativos da mesma tem vida média que varia de 40 a 50 horas, assim, quando da coleta da saliva poderíamos ainda ter o efeito dos metabólitos circulantes. Dessa forma podemos acreditar, que a diferença estatística observada no fluxo salivar, deve-se somente a estimulação da via parassimpática.

A terceira consideração refere-se aos relatos de HAUSLER e cols., 1977⁽³⁴⁾, que citando alguns autores dizem que a sialose farmacológica pode ocorrer em virtude do uso de drogas psicotrópicas, entre as quais os benzodiazepínicos, e que a fisiopatologia da sialose não é ainda completamente compreendida. Histologicamente, a sialose é caracterizada pelo aumento das células acinares que podem resultar em desordens na secreção, com retenção intracelular da saliva. Nossos resultados não nos permitem ser concordes com tal opinião, pois que isso implicaria numa ação bloqueadora adrenérgica da droga inibindo contração de células mioepiteliais dos ductos e células glandulares, assim como também colheríamos nos resultados baixas taxas de proteína em relação ao grupo controle. Por outro lado, o acúmulo intracelular de saliva possivelmente desequilibraria a bomba iônica, alteraria o consumo de oxigênio, a concentração de glicogênio e a atividade enzimática glandular do grupo experimental em comparação ao grupo controle.

CAPITULO VI

CONCLUSÕES

Os resultados obtidos, nas condições experimentais do trabalho, permitiram concluir que:

- 1 - A administração crônica de diazepam (0,28mg/kg) não interferiu no crescimento dos animais;
- 2 - A administração crônica de diazepam reduziu o fluxo salivar dos animais;
- 3 - A administração crônica de diazepam não interferiu com a concentração de glicogênio, atividade de G6PD e quociente metabólico das glândulas submandibulares;
- 4 - O diazepam deve afetar somente o mecanismo de secreção não interferindo com o metabolismo celular da glândula submandibular de ratos.

CAPÍTULO VII

RESUMO

Uma série de medicamentos podem modificar o fluxo salivar e provocar xerostomia com efeitos indesejáveis à cavidade bucal. Dentre estas drogas encontram-se os antidepressivos largamente utilizados pela população. Procurou-se neste trabalho estudar o efeito da administração crônica de diazepam (valium) nas propriedades das glândulas salivares de ratos.

Foram utilizados 115 ratos de 21 dias de idade, divididos em dois grupos, que receberam injeção diária de diazepam na dose de 0,28 mg/kg (Grupo Experimental) e NaCl a 0,9% (Grupo Controle). Após 30 dias analisou-se a saliva dos animais em termos de fluxo e concentração proteica. Nas glândulas submandibulares determinou-se a concentração de glicogênio, a atividade de glucose-6-fosfato desidrogenase e o quociente metabólico do tecido. Procurou-se também estudar o efeito da droga no crescimento dos animais.

Os resultados mostraram que a única diferença significativa observada foi a diminuição do fluxo salivar dos animais que receberam a droga estudada, sugerindo que o diazepam mesmo utilizado cronicamente não afeta o metabolismo das glândulas salivares.

CAPITULO VIII

SUMMARY

The flow of saliva plays a role in the pathogenesis of dental caries. Xerostomia induced by drugs can increase dental caries. In this research was studied the effect of a sedative-hypnotic drug (diazepam in rats salivary glands).

It were used 115 rats with 21 days years old. The rats received daily injection of diazepam (0,28mg/kg), or NaCl 0,9%, during 30 days. The salivary flow rate and saliva protein concentration were analysed. The glycogen concentration, G6PD activity and the metabolic quocient were determined in the submandibular glands.

The results showed that the only significant difference was a decrease in the flow of saliva when the rats received diazepam. It was suggested that their chronic administration of diazepam doesn't change the rat salivary gland metabolism but inhibit its secretion rate.

CAPITULO IX

REVISTA DA LITERATURA

- 1 - ALDOUS, J.A. Induced xerostomia and its relation to dental caries. J.Dent.Child., 31: 160-2, 1964..
- 2 - ARRIGO, A.; JANN, G.; TONALI, P. Some aspects of the action of valium and librium on the electrical activity of the rabbit brain. Archs int.Pharmacodyn. Thér., 154: 364, 1965. In apud LITTER, M. p. 257-971, Farmacologia, 4 ed. Rio de Janeiro, El Ateneo, 1971. 297-330.
- 3 - BABKIN, B.P. Significance of the double innervation of the salivary glands. 2 ed. New York, 1950, p. 733-66.
- 4 - BAHN, S.L. & CONN, W.H. Drue-related dental destruction. Oral Surg., 33: 49-54, 1974.
- 5 - BAUN, B.J. Neurotransmitter control of secretion. J.dent. Res., 66: 628-32, Feb., 1987.
- 6 - BERTRAM, U. et alii. Saliva secretion following long-term antidepressant treatment with nortriptyline controlled by plasma levels. Scand J.dent.Res., 87: 58-64, 1979.
- 7 - BRILL, N.; TRYDE, E.; SCHUBELER, S. The role of exteroceptors in denture retention. J.prosth.Dent., 9: 761-8, 1959. Apud OSTLUND, S.G. op.cit. ref. 55.
- 8 - BRODIE, B.B. & SHORE, P.A. A concept for a role of serotonin and norepinephrine as chemical mediators in the brain. Ann.N.Y.Acad.Sci., 66: 631, 1957.
- 9 - BURGEN, A.S.V. & EMMELIN, N.G. Physiology of the salivary glands. 3 ed. Baltimore, Williams & Wilkins, 1961. p. 38-71.
- 10 - BYLUND, B.D.; MARTINEZ, J.R.; PIERCE, D.L. Regulation of autonomic receptors in rat submandibular gland. Molec. Pharmac., 21: 27-35, 1981.
- 11 - CANNON, W.B. Digestion and health. London, Secker and Warburg, 1937. Apud MAYHALL, C.V., op. cit. ref. 50.
- 12 - CHEN, M.S. Xerostomia and complet denture retention. Tex. dent.J., 97(9): 6-9, 1979

- 13 - DANIELS, T.C. & JORGENSEN, E.C. Central nervous system depressants, textbook of organic medicinal and pharmaceutical chemistry. 5 ed. Philadelphia, J.B. Lippincott, 1966. p.365.
- 14 - DAVIS, M.J. Efficacy of tranquilizine and antidepressant drugs. Archs.gen.Psychiat., 13: 552-72, 1966.
- 15 - DAWES, C. et alii. The composition of human saliva secreted in response to a gustatory stimulus and to pilocarpine. J.Physiol.Lond., 183: 360-8, 1966.
- 16 - DELAY, J. & DENIKER, P. Méthods chimiothérapiques en Psychiat. Belgica, 60: 21, 1961. Apud LITTER, M. Farmacologia, 4 ed. Rio de Janeiro, El Ateneo, 1971, p. 270-97.
- 17 - DENEMAN, E.A. Double blind study with diazepam chordiazepoxide and placebo in the treatment of psychoneurotic anxiety. J.med.Ass.Ga, 53: 55, 1964.
- 18 - DETTLI, S. The benzodiazepines: from molecular biology to clinical practice. Ed. by E. Costa, New York, Raven Press, 1983a. Apud GOODMAN, L.S. & GILNAR, A.G., op. cit. ref. 29.
- 19 - DUBOIS, M.K.A. et alii. Colorimetric method for determination of sugars and related substances. Anal. Chem., 28: 350-6, 1956.
- 20 - EGGLESTON, L.V. & KREBS, H.A. Regulation of the phosphate cycle. Biochem.J., 138: 425-35, 1974.
- 21 - EMMELIN, N. & STROMBLAD, B.C.R. A method of stimulating and inhibiting salivary secretion in man. Acta physiol. scand., 31 (suppl. 114): 12-3, 1954.
- 22 - ———. Nervous control of salivary glands. Acta.physiol. scand., 37: 95-132, 1967.
- 23 - FABER, C.P. The causes of xerostomia. Acta Med.scand., 113: 69-82, 1943.
- 24 - FELLEENZ, J.A. Dryness of the mouth. Heidelberg, 1903, [Inaugural Dissertation] Apud op. cit. ref. 57.
- 25 - FOX, C.P. et alii. Xerostomia: Evaluation of a symptom with increasing significance. J.Am.dent.Ass., 110(4): 519-25, 1985.
- 26 - GARRETT, J.R. Adventures with autonomic nerves. Perspectives in salivary glandular innervations. Proc. R.Micr.Soc., 17: 242-53, 1982.

- 27 - GLASS, B.J. et alii. Xerostomia: diagnosis and treatment planning considerations. Oral Surg., 58(2): 248-52, 1984.
- 28 - GOODMAN, L.S. & GILMAN, A.G. As bases farmacológicas da terapêutica. 7 ed. Rio de Janeiro, Guanabara Koogan, 1987. p.222-8.
- 29 - GRAD, H.; GRUSHKA, M.; YANOVER, L. Drug induced xerostomia: The effects and treatment. J.Can.dent.Ass., 4: 296-300, 1985.
- 30 - GREENBLATT et alii. Clinical pharmacokinetics of the newer benzodiazepines. Clin.Pharmacokinet., 8: 223-52, 1983a. Apud GOODMAN, L.S. & GILMAN, A.E., p. 283, op. cit. ref. 29.
- 31 - HAUSLER, J.R. et alii. Diferential diagnosis of xerostomia by quantitative salivary gland scintigraphy. Ann Oral., 66: 333-41, 1977.
- 32 - HEIDNHALN, R. Ueber secretorische und tropische drusennerven. Archs Ges Physiol., 17: 1-7, 1878, Apud MAYHALL, C.W., op. cit. ref. 50.
- 33 - HIMWICH, H.E. Psychopharmacologic deves. Science, 127: 59, 1958. Apud LITLER, M. p. 274-8, Farmacologia, 4 ed. Rio de Janeiro, El Ateneo, 1971.
- 34 - JOHANN, C. & LENTINI, E.A. Simultaneous determination of glycogen and lipids from heart muscle. Analys.Biochem., 43: 183-7, 1971.
- 35 - KATZ, R.A. et alii. A new drues approach to muscle relaxation J.Neuropsychiat., 3: 591, 1965.
- 36 - KEELE, C.A. et alii. Sanson wright's applied physiology. 11. ed. London, Osford Univ., 1965. p. 96.
- 37 - KERRY, R.S. & JENNER, A. A double blind cross-over comparison of diazepam (valium) with chlordizepoxide in treatment of neurotic anxiety. Phychopharmacologia, 3: 302-6, 1962.
- 38 - LAMMERS, H.J. The neural connections of the amyegdaloid complex in mammals. Arch Neurol.Psychiat., 44: 718-24, 1972.
- 39 - LEHMANN, H.E. Tranquillizers and other psychotropic deves in clinical practice. Can.med.Ass.J., 79: 701, 1958.
- 40 - LEWIS, J.J. An introduction of pharmacology. 3 ed. Edinburg, E. & S. Livingstone, 1965. p.79.

- 41 - LOUIE, D.S. & OWYANG, C. Muscarinic receptor subtypes, on rat pancreatic acini: secretion binding studies. Am. J. Physiol., 251: 6275-9, 1986.
- 42 - LOWRY, O.H. et alii. Protein measurement with the folin-phenol reagent. J. Biol. Chem., 193: 265-75, 1951.
- 43 - LUNDBERG, A. Electrophysiology of the salivary glands. Physiol.Rev., 38: 21-40, 1958.
- 44 - MANDEL, D.I. et alii. The effect of pharmacologic agents on salivary secretion and compotion in man. I. Pilocarpine, atropine and anticholinesterases. J.oral Ther., 4(2): 192-9, 1968.
- 45 - ————— & WOTMAN, S. The salivary secretion in health and diseases. Oral Sci.Rev., 9: 25-47, 1978. Apud SPIELMAN, A., op. cit. ref. 70.
- 46 - MANSON, D.K. & CHISHOLM, D.M. Salivary glands in health and diseases. London, W.B.Saunder, 1975. p.120-4.
- 47 - MARTINEZ, J.R. & CASSITY, N. Salivary secretion induced from isolated perfused rat submandibular glands by sympathomimetic agents. Archs oral Biol., 28(12): 1101-8, 1983.
- 48 - MATHEW, R.J.; WEINMAN, M.; CLAGHORN, J.L. Xerostomia and sialorrehea in depression. Am. J. Psychiat., 136(1): 1476-7, 1979.
- 49 - MAYHALL, C.W. The physiological roles of saliva. Ala. J. Med. Sci., 12(1): 45-63, 1975.
- 50 - MELVIN, B.A. et alii. A method for the collection of large quantities of rat saliva. J.dent.Res., 35(2): 326-8, 1956.
- 51 - MIKKELSEN, P.L. et alii. Hiposalivation after single doses of antidepressants. Inc. Pharmac. Psychiat., 17: 35-42, 1982.
- 52 - MORSE, D.R. et alii. Stress, relaxation and saliva. Relationship to dental carie and its prevention, with a literature review. Ann. Dent., 42(2): 47-54, 1983.
- 53 - NEWBRUN, E. Cariology. 2 ed. Baltimore, Willians & Wiltikins, 1983. p.17-49.
- 54 - OSTLUND, S.G. Saliva and denture retention. J.prosth.Dent., 10: 658-63, 1960.

- 55 - PAVLOV, I.P. Conditioned reflexes. An investigation of the physiological activity of the cerebral cortex. London, Oxford. Apud, WHITE, K.D.. Salivation; a review and experimental investigation of major techniques. Psychophysiology, 14(2): 203-12, 1977.
- 56 - PRINZ, H. Xerostomia. Dent.Cosmos, 74: 129-133, 1932.
- 57 - PUTNEY Jr., J.W. & PAROD, R.J. Calcium mediated effects of carbachol on cation pupine and Na uptake in rat gland. J.pharmac.exp.Ther., 205: 449-58, 1978.
- 58 - QUISSELL, D.O.; BARZEN, K.A.; LAFFERTY, J.I. Role calcium and Camp in the regulation of rat submandibular mucin secretion. Am.J.Physiol., 241: c76-c85, 1981.
- 59 - RAFAELSEN, O.J. et alii. Comparison of peripheral anticholinergic effects of antidepressants: dry mouth. Acta psychiat.Neurol.Scand., 250: 364-9, 1981.
- 60 - RANDALL, L.O. et alii. Pharmacological and clinical studies ou valium. A new psychoterapeutic agent of the benzodiazepine class. Curr.ther.Res., 3: 405-25, 1961.
- 61 - ROSENZWEIG, E.I. Parotid gland secretion in manic-depressive patients. Am.J.Psychiat., 94: 1459-61, 1959.
- 62 - RUCH, T.C. Neurofisiologia de la emoción y la motivacion. Buenos Aires, Libreros Ed, 1969. p.505-10.
- 63 - SASSAKI, K.T. & NICOLAU, J. The effect of isoproterenol on some aspects of the anaerobic metabolism of carbohydrates in mouse submandibular gland. Gen Pharmac., 13: 353-6, 1982.
- 64 - SCHIELE, B.C. Newer danes for mental illness. A review. J. Am.med.Ass., 181: 126, 1962.
- 65 - SCHNEYER, L.H. Secretion of K and fluid by rat submaxillary during sympathetic nerve stimulation. Am.J.Physiol., 22 (4): 1056-61, 1975.
- 66 - SCHWARTZ, M.A. Metabolism of diazepam in rat, dog and man. Fedn.Proc.Fedn.Am.Socs.exp.Briol., 22 (Part1) :367, 1963.
- 67 - SMITH, R.B. et alii. Effect of subject age gender on the pharmacokinetics of oral tiazolan and alpraxolan. J.clin.Psychopharmac., 3: 172-6, 1983. Apud GOODMAN, L.S. & GILMAN, A.G., p. 228, op. cit. ref. 29
- 68 - SNYDER, F.C. et alii. Effect of reduced atmospheric pressure on retention of dentures. J.Am.dent.Ass., 32: 445, 1945.

- 69 - SPIELMAN, A. et alii. Xerostomia: diagnosis and treatment. Oral Surg., 51(2): 144-7, 1981.
- 70 - STAHLIN, F.O. et alii. Technique of continuous collection of parotid saliva in the rat. Res.exp.Med., 172(3): 247-53, 1978.
- 71 - STANITZ, J.D. An analysis of the part played by the fluid film in denture retention. J.Am.dent.Ass., 37: 168-72, 1948.
- 72 - STERNBACH, L. & REEDER, E. Quinazolines and 1,4 benzodiazepine. IV. Transformations of 7-chloro-2-methylomino-5-3H-4,4-benzodiazepine-4-oxide. J.org.Chem., 26: 4936, 1961. Apud RANDALL et alii. op. cit. ref. 61
- 73 - STEVENS, J.B. & WILKINSON, E. Drugs, dry mouth and dental disease. Psychosomatics, 12: 43-8, 1971.
- 74 - SWINYARD, E.A. & CASTELLION, A.W. Anticonvulsivante properties of some benzodiazepines. J.Pharmac.exp.Ther., 151: 369, 1966.
- 75 - THULIN, A. Secretory and motor effects in the submaxillary gland of the rat on intraarterial administration of some polypeptides and autonomic drues. Acta physiol.scand., 97: 343-8, 1976.
- 76 - TOBIM, I.M. et alii. Clinical evaluation of oxazepam for the management of anxiety. Dis.nerv.Syst., 25: 689, 1964.
- 77 - WEST, W.L. Calmodulin-regulated enzymes: modifications by drug and disease. Fedn.Proc.Fedn.Am.Socs.exp.Biol., 41: 2251-2, 1982. Apu MARTINEZ, J.R. & CASSITY, N., op. cit. ref. 48.
- 78 - YOUNG, J.A. & SCHNEYER, C.A. Salivary secretion of electrolytes. Physiol.Rev., 52: 720-77, 1972.
- 79 - ——— & Van LENNEP, E.W. Salivary secretion of inorganic eletrolytes. In: CRANE, R.K., ed. Internatiol Review of physiology. Baltimore, Univ.Park., 1979. v.19, p. 1-50.