

# OMNIA SAÚDE

Revista Científica das Faculdades Adamantinenses Integradas

III Edição - Volume 2, nº 2 - 2005



OMNIA SAÚDE, VOL. II NÚMERO II, JULHO/DEZEMBRO 2005



FAI - FACULDADES ADAMANTINENSES INTEGRADAS

RUA 9 DE JULHO, 730/40 - FONE/FAX: (18) 3522-1002

ADAMANTINA - SP - Brasil - 17800-000

site: [www.fai.com.br](http://www.fai.com.br)

e-mail: [fai@fai.com.br](mailto:fai@fai.com.br)

[omnia@fai.com.br](mailto:omnia@fai.com.br)

2005

OMNIA SAÚDE - FAI - Faculdades Adamantinenses Integradas, Adamantina:  
Edições Omnia, v. II (número II), p 104, Julho/Dezembro 2005.

Tiragem: 500 exemplares

ISSN: 1806-6763



---

Esta obra está protegida pela Lei. Não pode ser reproduzida, no todo ou em parte, qualquer que seja o modo utilizado, incluindo fotocópia e xerocópia, sem prévia autorização dos autores. Qualquer transgressão à Lei dos Direitos de Autoria será passível de procedimento judicial.

OMNIA SAÚDE, VOL. II NÚMERO II, JULHO/DEZEMBRO 2005

# OMNIA SAÚDE

Revista Científica das Faculdades Administrativas Integradas

III Edição - 2005

**Diretor da FAI:** Prof. Dr. Gilson João Parisoto  
**Vice-diretor da FAI:** Prof. Dr. Marcos Martinelli  
**Editor:** Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Maria Tereza Giroto Matheus  
**Editor Assistente:** Prof. Dr. Rubens Galdino da Silva  
**Jornalista:** Sérgio Barbosa - MTb No. 16.772/SP  
**Planejamento, Projeto Gráfico e Diagramação:** Anderson Flávio Piovesan  
**Capa:** Anderson Flávio Piovesan

## CONSELHO EDITORIAL

**Presidente:** Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Maria Tereza Giroto Matheus

## MEMBROS

Prof. Dr. Gilson João Parisoto - FAI  
Prof. Dr. Neoclaír Molina - FAI  
Prof. Dr. Gildo Matheus - FAI  
Prof. Dr. Gilson Machado D'Antonio - FAI  
Prof. Dr. Paulo Edson Bombonatti - FAI  
Prof. Dr<sup>a</sup>. Zuleice Viana da Silveira - FAI  
Prof. Dr. Ariovaldo Antônio Martins - FAI  
Prof. Dr. Olympio Correa de Mendonça - FAI  
Prof. Dr. Francisco Carlos de Francisco - FAI  
Prof. Dr. Carlos Marcelo Pastre - FAI  
Prof. Dr. Fabio César Ferreira - FAI

## CONSELHO CONSULTIVO

Prof. Dr. Luis Rachid Trabulsi - Prof. Titular aposentado da Escola Paulista de Medicina de São Paulo e da Universidade de São Paulo  
Prof. Dr. Eduardo de Bastos Santos - Prof. Titular da Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade Federal do Rio Grande do Sul  
Prof. Dr. João Palermo Neto - Prof. Titular da Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade de São Paulo  
Prof. Dr. Arary da Cruz Tiriba - Prof. Titular aposentado da Escola Paulista de Medicina  
Prof. Dr. Rubens Augusto Brazil Silvado - Prof. Titular da Faculdade de Medicina de Marília  
Prof. Dr. Valdeir Fagundes Queiroz - Prof. Titular da Faculdade de Medicina de Marília  
Prof. Dr. Vicente Borelli - Prof. Titular aposentado da Faculdade de Medicina Veterinária de São Paulo

## REVISÃO

Inglês

Prof. Ms. Márcio Castro

Português

Neusa Maria Paes



<b>Apresentação .....</b>	<b>5</b>
<b>Avaliação da biossegurança nos consultórios particulares de Presidente Prudente – SP. ....</b>	<b>6</b>
<i>Evaluation of the biosecurity in the private office of Presidente Prudente - SP.</i>	
<b>Avaliação do potencial mutagênico e citotóxico de extratos aquosos da planta medicinal <i>Turnera ulmifolia</i> L. (Chanana) em camundongos. ....</b>	<b>12</b>
<i>Evaluation of the mutagenic and cytotoxic potential of aqueous extract of the medicinal plant <i>turnera ulmifolia</i> L. (Chanana) in mice.</i>	
<b>Importância das Patentes e dos Genéricos no Mercado de Medicamentos .....</b>	<b>19</b>
<i>The Importance of patents and generics in the medicines' market</i>	
<b>Malformações congênitas encefálica e craniofaciais em bovino. ....</b>	<b>31</b>
<i>Cerebral and skull-facial congenital malformations in bovine.</i>	
<b>Métodos alternativos na Odontologia: visão global do paciente. ....</b>	<b>43</b>
<i>Alternative methods in dentistry: global vision of the patient.</i>	
<b>Métodos para Separação das Proteínas do Leite .....</b>	<b>52</b>
<i>Methods for separation of milk proteins</i>	
<b>Novo enfoque sobre a fisiopatologia das glândulas salivares. ....</b>	<b>59</b>
<i>New focus on physiopathology on the salivary glands.</i>	
<b>Prevalência e avaliação de mastigação unilateral em crianças com perda precoce de elementos dentários por cáries dentárias em Adamantina / SP / Brasil em 2004. ....</b>	<b>78</b>
<i>Prevalence and valuation of unilateral chewing in children with precocious loss dental elements by dental caries in Adamantina/SP/Brazil in 2004.</i>	
<b>Normas para publicação. ....</b>	<b>83</b>





# Apresentação

OMNIA  
SAÚDE



No momento histórico em que a FAI congrega uma plêiade de docentes e discentes das mais variadas áreas do saber, ligados aos diversos cursos, é de extrema importância poder contar com a sistemática publicação da Revista OMNIA-SAÚDE cujo objetivo primordial é a divulgação de pesquisas realizadas na própria Instituição, assim como em outras Instituições de Ensino Superior do Brasil e do Exterior.

Nunca é demais lembrar que Ensino, Pesquisa e Extensão de Serviços à Comunidade são alicerces de toda e qualquer Instituição de Ensino Superior que tenha como meta oferecer uma formação consistente e diferenciada e, concomitantemente, almeje cumprir sua função desenvolvimentista promovendo a divulgação do saber sem, contudo, esquecer sua função social.

Portanto, a publicação de mais um número da Revista Omnia Saúde representa a inquebrantável vontade da FAI de manter um vínculo de comunicação capaz de divulgar a produção científica tanto de professores e alunos envolvidos em projetos de pesquisa, quanto de profissionais e pesquisadores ligados as mais diferentes áreas.

**Maria Tereza Giroto Matheus**



## Avaliação da biossegurança nos consultórios particulares de Presidente Prudente – SP.

*Evaluation of the biosecurity in the private office of Presidente Prudente - SP.*

Cléa Adas Saliba Garbin

Professora Adjunta Faculdade de Odontologia Araçatuba – UNESP

Artênio José Insuper Garbin

Professor Assistente Doutor Faculdade de Odontologia Araçatuba – UNESP.

Tânia Adas Saliba

Professora Doutora UNESP e professora na FAI

Cláudio Tanaka

Cirurgião Dentista - UNESP

Giancarlo Baggio Parisoto

Mestre em Odontologia Preventiva e Social Araçatuba - UNESP e professor na FAI

### Resumo

A biossegurança, em Odontologia, envolve o conjunto de posturas adotadas pelo profissional e sua equipe com o intuito de diminuir os riscos de contaminação na prática odontológica. O objetivo deste estudo foi avaliar o comportamento de biossegurança de 100 cirurgiões-dentistas de consultórios particulares da cidade de Presidente Prudente/SP, sendo aplicado um questionário estruturado auto-aplicativo com questões relacionadas ao tema. Constatou-se que todos realizavam a esterilização dos instrumentais, sendo que 77% profissionais utilizam a autoclave para esterilização; 82% dos entrevistados realizam procedimentos de desinfecção no ambiente de trabalho após cada atendimento, sendo o micromotor/alta rotação (97%) e a seringa tríplice (95%) os locais mais frequentes de sua realização. Entre os equipamentos de proteção utilizados, somente a máscara foi uma constante durante o atendimento dos profissionais e entre as auxiliares, somente o jaleco. Com relação a troca da máscara e gorro entre cada paciente, foi encontrado um valor de 62%

e 42% respectivamente. Os resultados obtidos demonstram a necessidade de reorientação dos profissionais, para uma efetiva proteção do paciente e dos profissionais envolvidos.

### Palavras-chave

equipamentos de proteção - controle de infecções - medidas de segurança - contaminação.

### Abstract

The biosecurity, in dentistry, involves the set of positions adopted for the professional and its team with intention to inside diminish the risks of contamination in dental practice. The objective of this study was to evaluate the behavior of biosecurity of 100 surgeon-dentists of particular doctor's offices of the town of Presidente Prudente/SP, being been applied a applicatory auto questionnaire structuralized with questions related to the subject. One evidenced all carried through



the sterilization of the instruments, being that 77% professionals use the autoclave for sterilization; 82% of the interviewed ones after carry through procedures of disinfection in the environment of work each attendance, being high- or low-speed (97%) and the air-water syringe (95%) the places most frequent of its accomplishment. The used equipment of protection enters, only the mask was a constant during the attendance of the professionals and between the assistant, only gowns. With regard to exchange of the mask and cap between each patient, a value of 62% and 42% was found respectively. The gotten results demonstrate the necessity of reorientation of the professionals, for an effective protection of the patient and the involved professionals.

#### Key-words

Protective devices - infection control - security measures - contamination

#### Introdução

Historicamente, na prática odontológica, muitos cirurgiões-dentistas não têm se preocupado com a biossegurança em seus consultórios. As infecções que podem ocorrer em um consultório são em tudo semelhantes às infecções hospitalares, que representam seríssimos riscos aos pacientes em tratamento. Muitos pacientes que se contaminaram em consultório odontológico não tiveram e não têm suas rotas de contaminação identificadas; sendo impossível afirmar que se contaminaram durante o tratamento dentário. Dessa forma, o consultório, como um lugar de risco, tem-se mantido preservado (LIMA & ITO, 1996).

Todos os indivíduos atendidos no consultório odontológico devem ser considerados como um provável portador de doença infecciosa. Conse-

qüentemente, o controle das infecções é fundamental e requer, na clínica odontológica, proteção do profissional e do paciente com técnicas de bloqueio mecânico e biológico, esterilização de instrumentais, desinfecção de superfícies e equipamentos e ainda a eliminação apropriada de resíduos contaminados (RUNNELLS, 1991).

O trabalho odontológico, devido a sua área de atuação e os vários instrumento utilizados, possibilita várias vias de infecção cruzada, entre eles os aerossóis, criados durante o tratamento, sangue, saliva e fluidos orgânicos (RANALI, 1992; ROSSETINI, 1985).

Lofuto e Giorgi (1990), estudando a prevenção da infecção cruzada, a classificaram em 5 tópicos: história progressa médica e odontológica do paciente; proteção do cirurgião-dentista e auxiliar; eliminação do material contaminado; limpeza da área de trabalho; esterilização do instrumental.

Ferreira (1995) frisa a dificuldade de controle das infecções em consultórios odontológicos, e ressalta que a falta de cuidados por parte do profissional aumenta ainda mais o ciclo de infecções cruzadas, sendo necessário o conhecimento e utilização dos meios de controle por parte dos profissionais para a saúde da equipe e do paciente.

Teixeira et al. (1999) citam que equipamentos de proteção devem ser utilizados por todos os membros das equipes de saúde somente no ambiente de trabalho, sendo obrigação do empregador fornecê-los.

Garbin et al. (2003), ao pesquisar sobre o conhecimento dos cirurgiões-dentistas sobre protocolos de infecção e o atendimento de pacientes com Aids, encontrou que os profissionais possuem conhecimento sobre as normas, mas ainda assim necessitam de melhor orientação.

Garbin et al. (2004), analisaram as condições de





biossegurança nos serviços públicos de Araçatuba, encontrando muitos profissionais que adotam e tem noções de biossegurança, assim como outros que não dão o devido valor a ela, de eficiência comprovada.

O objetivo do presente estudo é verificar a utilização de algumas normas de biossegurança na prática odontológica, no que tange cuidados de seus equipamentos e a utilização das barreiras de proteção por parte do profissional e auxiliar.

### Material e Métodos

A população estudada para a realização deste trabalho consiste de cirurgiões-dentistas da cidade de Presidente Prudente, SP, que prestam serviços em consultórios particulares, sendo a lista de profissionais obtida junto a Vigilância Sanitária. Após a aprovação do trabalho junto ao comitê de ética em cumprimento à Resolução 196/96 do Conselho Nacional de Saúde, selecionou-se, através de uma técnica amostral simples, uma amostra de 100 cirurgiões-dentistas. Estes, após obtido o consentimento livre e esclarecido, responderam a um questionário estruturado auto administrativo sobre o uso de medidas de biossegurança no atendimento, sendo os dados obtidos analisados pelo software Epi-Info 6.04.

### Resultado e discussão

Com relação aos cuidados com os instrumentais, todos disseram realizar a esterilização dos mesmos, sendo que 14% se utilizam a estufa, 77% utilizam a autoclave e 9% utilizam os dois meios (gráfico 1), sendo este último o mais correto, pois nem todos os materiais podem ser esterilizados pelo mesmo meio (BRASIL, 1994). Kearns et al. (2001), verificando o método de esterilização dos instrumentais em 205 profissionais da Irlanda, encontrou que 97% destes utilizavam somente a autoclave.

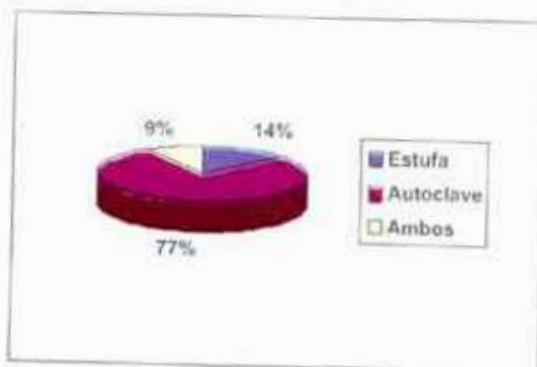


Gráfico 1 - Distribuição dos entrevistados com relação ao método de esterilização realizado. Presidente Prudente, SP - 2005.

Avaliando a frequência de higienização do equipo e proximidades, 82% dos entrevistados relataram realizá-lo entre cada consulta (gráfico 2), sendo este o procedimento ideal, devido a alta contaminação realizada pela utilização da alta rotação (GRENIER, 1995; NORO, 1998).



Gráfico 2 - Distribuição dos entrevistados com relação à frequência de desinfecção do equipo e das proximidades. Presidente Prudente, SP - 2005.

Apesar de não existir a necessidade e nem a possibilidade de esterilização de todos os itens do consultório, existe a obrigação de se realizar uma limpeza e desinfecção no ambiente de trabalho antes de cada atendimento (SAMARANAYAKE, 1993).

No momento da desinfecção do consultório, os locais mais frequentes encontrados em nosso estudo foram o micromotor/alta rotação, seringa, com mais de 90%, cuspidora (90%), seguidos pela cadeira, mesa e refletor (tabela 1).



Tabela 1 - Distribuição das superfícies que os entrevistados costumam desinfetar. Presidente Prudente, SP-2005.

	Frequência	Percentual
Micromotor/ Alta rotação	97	97 %
Seringa	95	95 %
Cadeira	83	83 %
Cuspideira	90	90 %
Refletor	73	73 %
Piso	41	41 %
Mesa	80	80 %
Raio X	42	42 %
<b>Total</b>	<b>100</b>	<b>100 %</b>

Para se proteger da infecção cruzada, os profissionais de saúde têm o dever de utilizar os equipamentos de proteção individual (TEIXEIRA, 1998).

Os dados mostram que todos os entrevistados utilizam máscara durante o atendimento, 97% atendem utilizando o jaleco, 87% utilizando o gorro e somente 43% utilizam o óculos de proteção (gráfico 3). Durante o trabalho, partículas de dentes ou restaurações podem ser lançadas para o rosto, além de existir o risco de contaminação, motivos que requerem o uso de óculos de proteção (LOFUTO & GIORGI, 1990).

Yengopal, Naidoo e Chikte (2001), verificando a rotina de uso de luvas, máscaras, e óculos pelos profissionais encontraram os valores de 97,1%, 82,4% e 52,9% respectivamente.

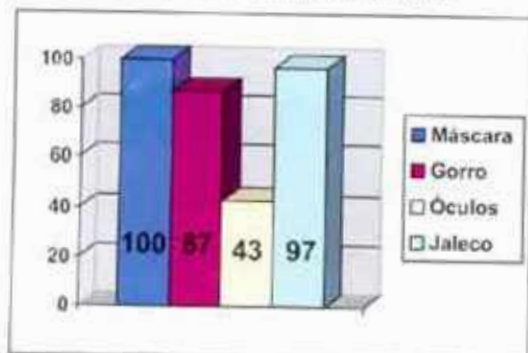


Gráfico 3 - Barreiras de proteção utilizadas pelos profissionais durante o atendimento. Presidente Prudente, SP - 2005.

Um fator de contaminação a se avaliar é a vestimenta, que ficando impregnadas com os resíduos, levarão este aos outros locais não contaminados, devendo ocorrer o uso de jalecos ou roupas de uso somente na área de trabalho (FERREIRA, 1995; LOFUTO & GIORGI, 1990). Nos casos em que o profissional trabalhava com uma auxiliar (n = 82), nota-se que somente o jaleco foi o equipamento constante durante o tratamento, sendo o óculos o equipamento que teve o seu uso mais negligenciado, apesar de sua importância (gráfico 4). Sendo um membro da equipe, é dever do auxiliar também se paramentar adequadamente. (TEIXEIRA, 1998)

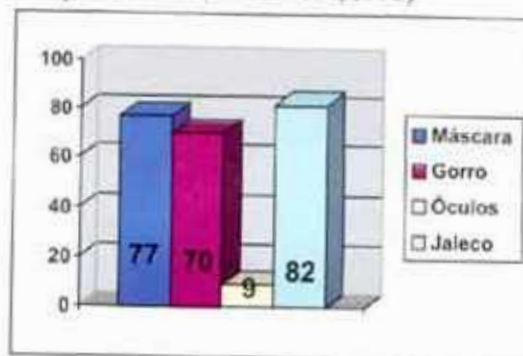


Gráfico 4 - Barreiras de proteção utilizadas pelo auxiliar durante o atendimento. Presidente Prudente, SP - 2005.

É importante a utilização da máscara, devido ao aerossol emitido durante os procedimentos, além de partículas de saliva, além da proximidade necessária para o tratamento entre o profissional e o paciente (RANALI, 1992; EPSTEIN et al., 1996).

As máscaras utilizadas na rotina odontológica devem ser descartáveis, apresentando boa qualidade de filtração e serem seguras durante 1 hora de uso. Porém, quando do uso do alta rotação, a segurança é reduzida para 20 minutos (EPSTEIN et al., 1996). Após o atendimento, 62% relataram utilizar uma máscara para cada paciente atendido, sendo encontrado um relato de utilização da mesma máscara durante todo o dia (gráfico 5).



Gráfico 5 - Troca de máscara realizada entre os procedimentos pelos cirurgiões-dentistas. Presidente Prudente, SP - 2005.

A não utilização do gorro permite que os aerossóis do ambiente se depositem nos cabelos, fonte de grande contaminação (TEIXEIRA & SANTOS, 1999). Garbin et al. (2005) registraram que o uso de gorros por profissionais foi de 55% entre os que trabalhavam no serviço público e 90% entre os de serviço privado. A utilização de um gorro para cada paciente foi relatada por somente 42% dos profissionais (gráfico 6).



Gráfico 6 - Troca de gorro realizada, entre os procedimentos, pelos cirurgiões-dentistas. Presidente Prudente, SP - 2005.

A eficiência e a importância de cada recurso e método dependem de outros, anteriores e posteriores. Podemos dizer, portanto, que são interdependentes. A biossegurança nunca é completa quando os profissionais de saúde atendem a um paciente ou manipulam instrumentos, material biológico e superfícies contaminadas. Porém, o fato de sempre haver um risco, deve ser um estímulo

para uma evolução que se faz extremamente necessária no momento, e não o inverso, ou seja, uma justificativa às falhas. Desse modo, o uso de apenas alguns materiais e protocolos pode não constituir controle de infecção (LIMA & ITO, 1996; TEIXEIRA & SANTOS, 1999).

Entre os profissionais de saúde, a incidência de algumas doenças infecciosas é maior do que na população em geral. Essa incidência tende a ser maior quanto mais expostos estão os profissionais ao sangue e outros líquidos corporais. O cirurgião-dentista realiza com frequência intervenções invasivas na cavidade oral, o que é considerado um risco, pois a boca abriga uma enorme quantidade de bactérias. Quanto maior a manipulação de sangue, visível ou não, pelos profissionais de saúde, maior é a sua chance de contrair uma doença infecciosa e de contaminar as superfícies ao redor (TEIXEIRA & SANTOS, 1999).

## Conclusão

Com os resultados encontrados concluímos que:

- Há uma deficiência na utilização das barreiras de proteção, tanto pelo profissional como auxiliar, para prevenir a infecção cruzada;
- O cirurgião-dentista e o auxiliar odontológico estão amplamente expostos às doenças infecto-contagiosas, como também podem estar contribuindo com a disseminação destas doenças;
- É necessário a orientação dos profissionais para o controle de infecção, sendo os procedimentos de fácil execução.

## Referências

BRASIL. Ministério da Saúde. **Coordenação de Controle de Infecção Hospitalar. Processamento de artigos e superfícies em estabelecimentos de saúde**. 2. ed. Brasília, 1994. 50 p.





- CERRI, A.; SILVA, E.X.R. Infecções cruzadas: O C. D. tem obrigação de conhecer e divulgar normas preventivas. *Assoc. Paul. Cir. Dent. J.*, 460:34-37, 1995.
- EPSTEIN, J.B.; R.E.A, G.; SHERLOCK, C.H.; MATHIAS, R.G. Continuing investigation and controversy regarding risk of transmission of infection via dental handpieces. *J. Infection Control*, 62:485-491, 1996.
- FERREIRA, R. A. Barrando o invisível. *Rev. Assoc. Paul. Cir. Dent*, 49:417-27, 1995.
- GARBIN, A. J. I.; GARBIN, C. A. S.; FERREIRA, N. F. Controle de infecção e atendimento aos pacientes portadores de doenças infecto-contagiosas. *Rev. Odontol. Araçatuba*, 24:65-9, 2003.
- GARBIN, C. A. S. et al. A importância da Biossegurança para o Cirurgião-dentista. *J. Bras. Clin. Odontol. Int.*, 8:216-21, 2004.
- GARBIN, A.J.I.; GARBIN, C.A.S.; ARCIERI, R.M.; CROSSATO, M.; FERREIRA, N.F. Biosecurity in public and private office. *J. Appl. Oral Sci*, 13:163-6, 2005
- GRENIER, D. Quantitative analysis of bacterial aerosols in two different dental clinic environments. *Appl. Environ. Microbiol.* 61 :3165-8, 1995.
- HAIKEL, Y.; SERFATY, R.; BLEICHER, P.; LWIN, C.T.; ALLEMANN, C. Effects of Cleaning, Chemical disinfection and sterilization procedures on the mechanical properties of endodontics instruments. *J. Endod.* 23:15-8, 1997.
- LIMA, S. N. M., ITO, I. I. **Infecções odontogênicas.** O controle de infecções no consultório odontológico. Sistema BEDA de controle. [s.n.t.]. [1996]
- LOFUTO, R. F. M; GIORGI, S. M. Infecção cruzada existe no seu consultório? *Rev. Assoc. Paul. Cir. Dent.*, 45:105-7, 1990.
- MAGRO FILHO O.; MELLO M. S.; MARTIN S. C. Métodos de esterilização, desinfecção e paramentação utilizados pelo cirurgião-dentista e auxiliário no consultório odontológico. Levantamento entre os profissionais. *Rev. Assoc. Paul. Cir. Dent.*, 45:589-92, 1991.
- NORO, A.; SUYAMA, Y.; TAKAHASHI, E.; CHANTTIN, B.R. HIRAI, Y; TAKAHASHI, K.; ISHIKAWA, T. The effectiveness of the "clean-area-system" for infection control in the dental clinic. *Bull. Tokyo. Dent. Coll.*, 39:15-24, 1998.
- RANALI, J.; MATTOS FILHO, T.R.; GONÇALVES, R.B. Eficiência de máscaras cirúrgicas frente a aspersões produzidas por alta rotação. *Rev. Brás. Odontol.*, 49:46-8, 1992.
- ROSSETINI, S. M. **O consultório Odontológico: como entender e prevenir.** São Paulo: Santos, 102p, 1985.
- RUNNELLS R.R. **Clínicas de Odontologia da América do Norte: controle da infecção e segurança no consultório.** Rio de Janeiro: Interlivros, 461p, 1991.
- SAMARANAYAKE, L. Roles of infection control. *Int. Dent. J.*, 43:578-584, 1993.
- TEIXEIRA, M. Controle de infecção cruzada. In: CORRÊA, M.S.N.P. **Odontopediatria na primeira infância.** São Paulo: Santos, p. 593-611, 1998.
- TEIXEIRA, M.; SANTOS, M. V. Responsabilidade no controle de infecção. *Ver. Assoc. Paul. Cir. Dent.*, 53 : 177-89, 1999.
- YENGOPAL, V.; NAIDOO, S.; CHITE, U.M. Infection control among dentist in private practice in Durban. *SADJ*, 56:580-4, 2001.



## Avaliação do potencial mutagênico e citotóxico de extratos aquosos da planta medicinal *Turnera ulmifolia* L. (Chanana) em camundongos.

*Evaluation of the mutagenic and cytotoxic potential of aqueous extract of the medicinal plant Turnera ulmifolia L. (Chanana) in mice.*

Zuleice Viana da Silveira

Doutora em Genética/USP e Professora da FAI

Kelly Cristina Lopes

Bolsista de Iniciação Científica

André Takahashi

Estagiário de Iniciação Científica

Sílvia H. V. Perri

Doutora em Estatística/UNICAMP e Professora Araçatuba - UNESP

### Resumo

A Chanana (*Turnera ulmifolia* L.) é utilizada em grande escala, principalmente, pela população da região do Maranhão e é popularmente indicada para melhorar as defesas do organismo. Estudos fitoquímicos demonstraram que o extrato hidroalcoólico de suas partes aéreas tem atividade anti-inflamatória em camundongos. Considerando-se que extratos aquosos de determinadas plantas são misturas que podem ser mutagênicas ou antimutagênicas, o objetivo deste trabalho foi estudar o potencial mutagênico e citotóxico dos extratos aquosos da Chanana no sistema de células da medula óssea de camundongos, através dos testes do micronúcleo (MN) em eritrócitos policromáticos (EPMN) e de metáfases para aberrações cromossômicas (AC). Foram utilizados camundongos isogênicos ZATA/br, de ambos os sexos, com, aproximadamente 60 dias de idade que constituíram cada grupo de tratamento. Animais tratados com Chanana (125, 250, 500 mg/kg - i.p.) foram sacrificados 24 e 48 horas após. Os tratados com água destilada (i.p.) e ciclofosfamida (20 mg/kg - i.p.) constituíram os

grupos controles negativo e positivo, respectivamente e foram sacrificados 24 horas após. A citotoxicidade foi determinada pela proporção entre EP e eritrócitos normocromáticos (EN) e através da comparação dos índices mitóticos. Os dados analisados pelo teste do Qui-quadrado revelaram não haver diferença significativa nas frequências de EPMN para quaisquer dos tratamentos em relação ao controle negativo ( $P > 0,05$ ), bem como para toxicidade (índice mitótico), exceto para o controle positivo ( $P < 0,05$ ). Embora os resultados sejam negativos nesse modelo experimental, são necessários estudos sobre os efeitos do princípio ativo dessa planta em outros sistemas de células, inclusive procariotos e humanos, para conclusões definitivas sobre o seu potencial mutagênico.

### Palavras-chave

micronúcleo - aberração cromossômica - citotoxicidade - camundongo - *Turnera ulmifolia*.





## Abstract

Chanana (*Turnera ulmifolia* L.) is used on a large scale especially by the population from the region of Maranhão and is popularly indicated for improvement of the body's defenses. Phytochemical studies have demonstrated that the water-alcohol extract of the aerial parts of the plant exerts an anti-inflammatory activity in mice. Since aqueous extracts of certain plants are mixtures that can be mutagenic or antimutagenic, the objective of the present study was to determine the mutagenic and cytotoxic potential of aqueous extracts of Chanana using the mouse bone marrow micronucleus test and the determination of chromosome aberrations in metaphases. Isogenic ZATA/br mice of both sexes, at approximately 60 days of age, were treated with Chanana (125, 250, and 500 mg/kg, i.p.) and sacrificed after 24 and 48 h. Animals treated with distilled water (i.p.) and cyclophosphamide (20 mg/kg, i.p.) and sacrificed after 24 h were used as negative and positive controls, respectively. Cytotoxicity was evaluated based on the proportion between polychromatic and normochromatic erythrocytes and by comparison of the mitotic index. Analysis of the data by the chi-square test revealed no significant difference in the frequency of micronucleated polychromatic erythrocytes between any of the treatments and the negative control ( $P > 0.05$ ), or for toxicity (mitotic index), except for the positive control ( $P < 0.05$ ). Although the results were negative in this experimental model, further studies regarding the effects of the active ingredient of this plant on other cell systems, including prokaryotes and humans, are necessary to reach definitive conclusions regarding its mutagenic potential.

## Key-words

micronucleus - chromosome aberration - cytotoxicity - mice - *Turnera ulmifolia*

## Introdução

Na medicina popular, o uso de extratos de plantas para tratamentos de doenças humanas é uma prática antiga que tem aumentado, consideravelmente, nos últimos anos. Entretanto, pouca informação se tem sobre os riscos desses produtos para a saúde. Há evidências de que várias plantas contêm compostos que causam doenças e mesmo a morte em animais e humanos (EVANS e OSMAN, 1974; KANGWANPONG e ARCECULE-RATNES, 1981; PANIGRAHI e RAO, 1990), ou que agem como mutágenos e/ou carcinógenos (HARTWELL e ABBOTT, 1969; AMES, 1982; PEREZ et al., 1984; SUGIMURA, 1986; SAKAMOTO-HOJO et al., 1988; SCHIMMER e KUHNE, 1990).

A *Turnera ulmifolia* L. pertence à família Turneraceae e é popularmente conhecida como Chanana. É um subarbusto silvestre de flores amareladas, encontrado, principalmente, em terrenos arenosos, frequentemente cultivado em pátios e jardins e comum no nordeste do Brasil (Ceará, Pernambuco e Maranhão). É indicada popularmente, para melhorar as defesas do organismo e como anti-inflamatório.

Outras variedades e espécies do gênero *Turnera* com importância medicinal, são encontradas em outros países (México, Cuba, Bolívia, Costa Rica, Jamaica, Colômbia, Índia) e utilizadas como: expectorante, diurético, afrodisíaco, antipirético (ASPREY e THORNTON, 1955), abortivo (GARCIA-BARRIGA, 1975); no tratamento de espermatorréia, otites e nefrites (FRYER, 1965; PEREZ et al., 1984), distúrbios digestivos (KRAIG 1976; WENIGER et al., 1986; IMANISHY et al., 1991), gonorréia (KOCH, 1936), amenorréia (AYENSU, 1978) e cólicas menstruais (ROIG e MESA, 1945).

Por outro lado, o extrato diclorometano, obtido a partir das folhas secas de *T. acuta*, apresentou concentração de 600 mg/placa (WALL et al., 1988) enquanto que, o etanólico obtido a partir de raízes secas de *T. blanchetiana* e das folhas de *T. diffusa*, apresentou atividade citotóxica em

células em cultura (NASCIMENTO et al., 1990).

Antônio (1996) mostrou que o extrato bruto hidroalcoólico (EBH) das partes aéreas da Chanana, em camundongo, apresenta LD<sub>50</sub> por via i.p., de 7,8 g/kg e, o extrato aquoso não mostrou toxicidade até 10 g/kg. Constatou também atividade anti-inflamatória tanto em modelos experimentais de edema da pata induzido em ratos, quanto em modelos de úlcera gástrica induzida por indometacina e ligadura do piloro, com doses de até 1 g/kg.

Tendo em vista o uso em grande escala da Chanana pela população da região nordeste, principalmente, do Maranhão, foi objetivo deste trabalho avaliar o potencial clastogênico e citotóxico do extrato dessa planta, em células do sistema de medula óssea de camundongos pelos testes do micronúcleo (MN) e de metáfases para detecção de aberrações cromossômicas.

### Material e Métodos

Folhas e caules secos das partes aéreas da *T. ulmifolia* (Fig. 1), provenientes de São Luiz (MA) foram pesados e fervidos em água destilada, filtrados e o pH ajustado para 6,8. As diferentes concentrações foram obtidas de acordo com a proporção peso/volume, sendo mg de folha por ml de água destilada (PRESTON et al., 1987). A concentração mais alta foi obtida usando-se folhas e caules (3,5 g) em 100 ml de água destilada. As concentrações restantes foram obtidas por diluição em água destilada.



Fig. 1. *Turniera ulmifolia* L.

Camundongos isogênicos (ZATA/br) obtidos do Departamento de Ciências Básicas da FOA/UNESP, com aproximadamente oito semanas de idade receberam, via i.p., 0,5 ml do extrato aquoso nas seguintes concentrações: 124, 250 e 500 mg/kg de peso corporal. As amostras foram colhidas 24 e 48 horas após o tratamento, para cada uma das concentrações testadas, num total de seis grupos de seis animais cada (três de cada sexo). Os grupos controles negativo e positivo foram constituídos pelos mesmos números de animais e receberam, via i.p., 0,5 ml de água destilada e de ciclofosfamida (CP = 20 mg/kg), respectivamente. Foram sacrificados 24 horas após os tratamentos.

Foram utilizados os testes do micronúcleo (MN) em eritrócitos policromáticos (MACGREGOR et al., 1987) e o de metáfases para aberrações cromossômicas (FORD e HAMERTON, 1956).

Agentes clastogênicos ou que interferem na formação do fuso mitótico, alterando a distribuição equitativa dos cromossomos durante a divisão celular, podem ser detectados, pelo teste do micronúcleo, em mamíferos (HEDDLE, 1973).

Os micronúcleos (MN) resultam de fragmentos cromossômicos acêntricos ou cromossomos que se atrasam em relação aos demais em sua migração para os pólos da célula na anáfase, após a ação de determinadas substâncias químicas. Assim, eritrócitos jovens são policromáticos (RNA-positivos) e coram-se em azul o que permite contarmos os micronúcleos apenas nesse tipo de célula.

Nas células em metáfase os cromossomos são visíveis ao microscópio óptico quando corados com Giemsa, por estarem num alto grau de condensação. As células que forem atingidas por um agente mutagênico durante a intérfase, apresentarão alterações cromossômicas na metáfase que poderão ser analisadas qualitativa e quantitativamente. A medula óssea de mamíferos é excelente material para estudo de aberrações cromossômicas (AC) induzidas por drogas, visto





que suas células levam de 22 a 24 horas para completar um ciclo de divisão (DATTA et al., 1970).

Os animais foram sacrificados por deslocamento cervical e, cada fêmur de um animal, foi destinado a um dos testes, de tal modo que foram analisadas as freqüências de MN e de AC no mesmo animal.

As lâminas preparadas para os dois testes foram examinadas ao microscópio óptico com objetiva de imersão de aumento 100X. Para detectar a ação clastogênica pelo teste do MN, foi contado o número células com MN em 2000 EP por animal. A ação citotóxica foi determinada pela proporção de EP/EN (eritrócitos normocromáticos) em 2000 células por animal. Na análise microscópica, artefatos foram excluídos de acordo com o critério de Schmid (1975).

O número de AC (falhas, quebras cromatídicas e isocromatídicas e fragmentos) foi determinado em 100 células por animal e o índice mitótico (medida da citotoxicidade) correspondeu à freqüência de células em metáfase em 1000 células por animal. Para os dois testes, as contagens foram feitas em teste cego.

O teste do Qui-quadrado (PEREIRA, 1991) foi utilizado para determinar as diferenças entre grupos controles e tratados submetidos ao teste do MN e, também, para comparar os índices mitóticos. A comparação das freqüências de AC entre os grupos controles e tratados foi feita pelo teste de FISHER, ao nível de 5% de probabilidade.

## Resultados

A tabela 1 mostra que o número de aberrações cromossômicas, bem como os índices mitóticos, não diferiram significativamente, entre os grupos tratados com *T. ulmifolia* e o grupo controle negativo ( $P > 0.05$ ) nas diferentes concentrações e

tempos de exposição. Apenas no grupo controle positivo houve aumento significativo nas freqüências de AC e diminuição do índice mitótico ( $P < 0.05$ ).

**Tabela 1** - Freqüência de aberrações cromossômicas e índice mitótico em células da medula óssea de camundongos isogênicos Zata/Br tratados com extrato aquoso de *T. ulmifolia* (Chanana), ciclofosfamida e água destilada.

Tratamento	Dose mg/kg	Exposição (h)	Índice mitótico (%)	Tipos de aberrações				Células aberrantes	
				falha t	quebra i	fragmento c	total	(%)	
Água	-	24	1,42	1	0	1	0	2	0,33
CP	20	24	0,90	42	13	12	8	75	35,00*
	125	24	1,72	6	0	1	1	8	0,33
Chanana	250	24	1,60	2	0	0	0	2	0,33
	500	24	1,60	1	0	1	0	2	0,50
	125	48	1,53	1	1	0	0	2	0,50
Chanana	250	48	1,60	1	0	0	0	1	0,33
	500	48	1,60	1	0	0	0	1	0,33

\* $P < 0.05$ , teste de Fisher. c = cromatídica; i = isocromatídica; CP = ciclofosfamida

Ao contrário do que ocorreu no grupo controle positivo (CP = 20 mg/kg), onde se constatou mais de um tipo de aberração cromossômica por célula, nos demais grupos tratados cada célula apresentou apenas um tipo de AC.

A tabela 2 mostra que as freqüências de EPMN e as proporções de EP/EN não diferiram, significativamente, entre o grupo controle negativo ( $P > 0.05$ ) e os grupos tratados com *T. ulmifolia* nas concentrações utilizadas e nos diferentes tempos de exposição. Apenas o grupo controle positivo apresentou aumento significativo ( $P < 0.05$ ) nas freqüências de EPMN.



**Tabela 2** - Frequência de micronúcleos em eritrócitos policromáticos da medula óssea de camundongos isogênicos Zata/Br, tratados com extrato aquoso de *T. ulmifolia* L. (Chanana), ciclofosfamida e água destilada.

Tratamento	Dose mg/kg	Exposição (h)	EP/EN						Total	Frequência	MN/EP							
			Macho			Fêmea					Macho			Fêmea				
			1	2	3	1	2	3			1	2	3	1	2	3		
Água CP	20	24	504	468	420	504	463	442	2891	2801/12000=0,23%	5	2	3	0	2	3	15	15/12000=0,13%
		24	448	375	418	433	443	402	2537	2537/12000=0,21%	12	11	10	8	10	10	61	61/12000=0,51%
		24	326	508	488	473	473	444	2711	2711/12000=0,23%	2	2	2	4	2	3	17	17/12000=0,14%
Chanana	125	24	491	430	463	485	479	469	2816	2816/12000=0,23%	3	3	1	2	1	2	12	12/12000=0,10%
		24	436	506	560	488	479	470	2919	2919/12000=0,24%	4	5	3	2	3	4	21	21/12000=0,18%
		24	498	501	480	450	494	447	2680	2680/12000=0,22%	2	2	2	2	1	3	12	12/12000=0,10%
Chanana	250	48	480	516	523	488	480	453	2968	2968/12000=0,25%	4	2	4	2	4	2	18	18/12000=0,15%
		48	536	455	479	472	544	464	2961	2961/12000=0,25%	4	4	5	5	1	7	26	26/12000=0,22%
		48	498	501	480	450	494	447	2680	2680/12000=0,22%	2	2	2	2	1	3	12	12/12000=0,10%

\*  $P < 0,05$ , qui-quadrado (PEREIRA, 1991). EP = eritrócito policromático; EN = eritrócito normocromático; MN = micronúcleo; CP = ciclofosfamida.

## Discussão e Conclusões

Extratos aquosos das partes aéreas de *T. ulmifolia*, nas concentrações e tempos de exposição utilizados no presente experimento, não induziram aumento significativo nas frequências de AC e de EPMN em células da medula óssea de camundongos isogênicos ZATA/br (tabelas 1 e 2). Além disso, não alteraram os índices mitóticos nem as proporções de EP/EN, sugerindo não serem clastogênicos e tampouco citotóxicos. Resultados semelhantes foram obtidos com extratos de outras plantas medicinais, como: *Lufa operculata* (MEDEIROS E TAKAHASHI, 1987), *Stryphnodendron obovatum* BENTH (VICENTINI-DIAS e TAKAHASHI, 1993), *Pogostemum heyneanus* BENTH e *Alpinia nutans* ROSC (DIAS e TAKAHASHI, 1994) nas frequências de AC em células do sistema de medula óssea de ratos Wistar.

Muitos extratos de plantas têm mostrado efeito antimutagênico contra potentes mutágenos (SASAKI et al., 1990; RENNER, 1990; IMANISHI et al., 1991; WRONG et al., 1992). O extrato das sementes de *T. ulmifolia* apresenta uma grande quantidade de lipídios, sendo a maior concentração de ácido linolêico (HOSAMANI, 1992), um ácido graxo cuja ação antimutagênica foi demonstrada em hamsters tratados com o mutágeno busulfan (RENNER e DELINCEE, 1988).

Os resultados obtidos no presente trabalho revelam que nas condições experimentais utilizadas, a espécie estudada não é mutagênica. Por outro lado, sugere a necessidade de estudos sobre o seu potencial antimutagênico. Além disso, considerando-se as ações farmacológicas dos princípios ativos presentes no EBH da *T. ulmifolia* em modelos de inflamação e dor (ANTÔNIO, 1996), é inegável a importância de estudos sobre a ação dos mesmos no material genético. Tais estudos, em andamento, não se restringirão ao sistema de células utilizado no presente trabalho, mas também, deverão estender-se a outros, como procaríotos e linfócitos humanos em cultura.

## Agradecimentos

Aos Servidores do Departamento de Ciências Básicas (FOA/UNESP): Sandra Aparecida dos Santos Pinheiro, Ilda Araújo Teixeira, André Luiz Matos Piedade e ao estagiário Edilson Ervolino pelo apoio na parte laboratorial. À Fundação De Amparo À Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) e Fundação para o Desenvolvimento da UNESP (FUNDUPESP) pelo suporte financeiro. Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pela bolsa de Iniciação Científica (PIBIC) concedida à Kelly Cristina Lopes.





## Referências

- AMES, N. Dietary carcinogens and anticarcinogens. **Science**, 221: 1256-1265, 1983.
- ANTÔNIO, M. A. *Ações farmacológicas gerais da Turnera ulmifolia L. sobre a resposta inflamatória*. Campinas: UNICAMP, 1996, 630p. Originalmente apresentado como Dissertação de Mestrado, Faculdades de Ciências Médicas da Universidade Estadual de Campinas.
- ASPREY, G. F.; THORNTON, P. Medicinal plants of Jamaica. Part IV. **West Indian Med. J.** 4:145-165, 1955.
- AYENSU, E. S. **Medicinal plants of the west indies**. Manuscript, 110p., 1978.
- DATTA, P. K.; FRIGGER, H.; SCHLEIERMACHER, E. The effect of chemical mutagens on the mitotic chromosomes of the mouse *in vivo*. In: F. VOGEL e B. ROHRBORN (ed.). **Chemical Mutagenesis in mammals and man**. Springer-Verlag New York, p. 194-213, 1970.
- DIAS, F. D.; THAKAHASHI, C. S. Cytogenetic evaluation of the effect of aqueous extracts of the medicinal plants *Alpinia nutans* ROSC (ZINGIBERACEAE) and *Pogostemon heyneanus* BENTH (LABIATAE) on wistar rats and *Allium cepa* LINN (LILIACEAE) root tip cells. **Rev. Bras. Genet.**, 17: 175-180, 1994.
- EVANS, L. A.; OSMAN, M. A. Carcinogenicity of bracken and shikimic acid. **Nature**, 250: 348-349, 1974.
- FORD, C. E.; HAMERTON, J. L. A colchicines hypotonic citrate, squash sequence form mammalian chromosomes. **Stain Technol.**, 31:247-251, 1956.
- FRYER, F. A. A chemical investigation of Damiana (*Turnera diffusa*). **Specialites**, 112: 21, 1965.
- GARCIA-BARRIGA, H. **Flora medicinal de Colombia**, v.2/3, Universidad Nacional, Bogotá, 1975.
- HARTWELL, J.; ABBOTT, B. J. Antineoplastic principles in plants: Recent development in the field. **Adv. Pharmacol. Chemoter**, 7:117-208, 1969.
- HOSAMANI, K. M. Fatty acids in seed oil from *Turnera ullmifolia* **Phytochemistry**, 345:1363-1365, 1993.
- IMANISHI, H., SASAKI, Y. F., OHTA, T., WATANABE, M., KATO, T. e SHIRASU, Y. Tea tannin components modify the induction os siste-chromatid exchanges and chromosome aberration in mutagen treated cultured mammalian cells and mice. **Mutat. Res.**, 259:79-87, 1991.
- ISHIKURA, N. Flavonol glycosides in the flowers of *Hiscus mutabilis* v. *versicolor*. **Agr. Biol Chem.**, 46:1705-1706, 1982.
- KANGWANPONG, D., ARCECULERATNES, S. N. e SIRISINHA, S. Clastogenic effect of aqueous extracts of palmyrah (*Borassus flabellifer*) flower of human blood lymphocytes. **Mutat. Res.**, 46:63-68, 1981.
- KOCH, L. Drug collection from Bolivia. Systematically, anatomically and chemically examined. **Arch. Pharm.**, 274:343-369, 1926.
- KRAG, K. J. **Plants used as contraceptives by the North American Indians. An ethnobotanical study**. Thesis-BS-Harvard University, 117p., 1976.
- MACGREGOR, J. T.; HITE, M.; MARGOLIN, B. H.; RAMEL, C.; SALAMONE, M. G.; TICE, R. R.; WILD, D. Guidelines for the conduct of micronucleus assays in mammalian bone marrow erythrocytes. **Mutat. Res.**, 189:103-112, 1987.
- MEDEIROS, M. G.; TAKAHASHI, C. S. Action of *Luffa operculata* (CURCUBITACEAE) on the chomosomes of wistar rats. **Cytologia**, 52:261-265, 1987.



- NASCIMENTO, S. C.; CHIAPPETA, A. A.; LIMA, R. M. O. C. Antimicrobial and cytotoxic activities in plants from Pernambuco, Brazil. **Fitoterapia**, 614: 353-355, 1990.
- PANIGRAHI, G. B. e RAO, A. R. Chromosome-breaking ability of arecoline, a major betel-nut alkaloid, in mouse bone-marrow cells "in vivo". **Mutat. Res.**, 102:197-204, 1982.
- PEREIRA, A. B. Testes estatísticos para comparar proporções em problemas de citogenética. In: RABELLO-GAY, M. N.; REGINA-RODRIGUES, M. N.; MONTELEONE, R. (ed.) **Mutagênese, Carcinogênese e Teratogênese: Métodos e Critérios de Avaliação**. Rev. Bras. Genet. Ribeirão Preto, SP, p. 113-121, 1991.
- PEREZ, R. M.; OCEGUEDA, G. A.; MUNOZ, J. L.; AVILA, J. G.; MORROW, W. W. A study of the hypoglucemic effect of some Mexican plants. **J. Ethnopharmacol.**, 123:253-262, 1984.
- PRESTON, R. J.; DEAN, B. J.; GALLAWAY, S.; HOLDEN, H.; McFEE, A. F.; SHEIBY, M. Mammalian "in vivo" cytogenetic assays. Analysis of chromosome aberrations in bone marrow cells. **Mutat. Res.**, 189:157-165, 1987.
- RENNER, H. W. "In vivo" effects of single or combined dietary antimutagens on mutagen-induced chromosomal aberrations. **Mutat. Res.**, 244:185-188, 1990.
- RENNER, H. W. e DELINCEE, H. Different antimutagenic actions of linoleic - and linoleic acid derivatives on busulfan-induced genotoxicity in chinese hamsters. **Nutrit. Res.**, 8:635-642, 1988.
- ROIG, Y. e MESA, J. T. In: **Plantas medicinales, aromáticas e venenosas de Cuba**. Ministerio da Agricultura, Republica de Cuba, Havana, 872 p., 1945.
- SAKAMOTO-HOJO, E. T.; TAKAHASHI, C. S.; FERRARI, I.; MOTIDOME, M. Clastogenic effect of the plant alkaloid ellipticine on bone marrow of wistar rats and human peripheral blood lymphocytes. **Mutat. Res.**, 199: 11-19, 1988.
- SASAKI, Y. F.; MATSUMOTO, K. M.; IMANISHI, H.; WATANABE, M.; OHTA, T.; SHIRASU, Y.; TUTIKAWA, K. "In vivo" anticlastogenic and antimutagenic effects of tannic acid in mice. **Mutat. Res.**, 244:43-47, 1990.
- SCHIMMER, O.; KUHNE, I. Mutagenic compounds in an extract from *Rutae Herba* (*Ruta graveolens* L.). II. UV-mediated mutagenicity in the green alga *Clamydomonas reinhardtii* by furoquinoline alkaloids and furocoumarins presents in a commercial tincture from *Rutae Herba*. **Mutat. Res.**, 243:57-62, 1990.
- SCHMID, W. The micronucleus test. **Mutat. Res.**, 31:09-15, 1975.
- SUGIMURA, T. Studies on environmental chemical carcinogenesis in Japan. **Science**, 233:312-318, 1986.
- VICENTINI-DIAS, V. E. P.; TAKAHASHI, C. S. Action of an extract of *Stryphnodendron obovatum* BENTH seed on rat bone marrow and human lymphocytes. **Rev. Bras. Genet.**, 16:175-185, 1992.
- WALL, M. R.; WANI, M. C.; HUGHES, T. J.; TAYLOR, JH. Plant antimutagenic agents. I. General bioassay and isolation procedures. **J. Nat. Prod.**, 515:866-873, 1988.
- WENIGER, B.; ROUZIER, M.; DAGUILH, R.; HENRYS, D.; HENRYS, J. H.; ANTON, T. Popular medicine of the Central Plateau of Haiti. I. Ethnopharmacological inventory. **J. Ethnopharmacol.**, 171: 13-30, 1986.
- WONG, B. Y. Y., LAU, B. H. S., TADI, P. P. e TEEL, T. W. Chinese medicinal herbs modulate mutagenesis, DNA binding and metabolism of aflatoxin B1. **Mutat. Res.**, 279:209-216, 1992.





# Importância das Patentes e dos Genéricos no Mercado de Medicamentos

## *The Importance of Patents and Generics in the Medicines' Market*

**Larissa Pernomian**

Farmacêutica

**Fernanda S. B. Tofoli**

Mestre em Educação Marília - UNESP e professora na FAI.

**Odair José Gaspar**

Mestre em Tecnologia Farmacêutica Araraquara - UNESP e professor na FAI.

### Resumo

Procurou-se estudar a importância das patentes e dos genéricos no mercado de medicamentos, assim como descrever seus efeitos sobre a demanda consumidora e a oferta empresarial do setor. No contexto, transcorrem discussões voltadas à produção, circulação e confiabilidade dos genéricos, em caráter informativo, contribuindo para a disseminação do assunto entre a população.

### Palavras-Chave

patentes – genéricos – similares – medicamentos de referência

### Abstract

Tried to study the importance of patents and generic medicines in the medicines' market, as well as to describe their effects on the consumer demand and the enterpriser offer of this sector. In the context, elapse discussions turned to the produce, the circulation and the trustworthiness of generics, contributing to the releasing of the subject among the population.

### Key-words

patents – generic – similar medicines – reference's

medicines

### Introdução

Atualmente, o mercado de medicamentos brasileiro dispõe de uma oferta formada por genéricos, similares e medicamentos de referência. Trata-se de um setor regulamentado pelo governo federal, que atua por meio da ANVISA (Agência Nacional de Vigilância Sanitária), fiscalizando a qualidade dos medicamentos e tabelando os preços de oferta destes produtos.

O reconhecimento legal das patentes, em 1996, tomou-se um incentivo à pesquisa e ao desenvolvimento de novos medicamentos por laboratórios farmacêuticos, que passaram a produzi-los em maiores quantidades. Em função do reconhecimento das patentes, surgiram os genéricos, uma categoria de medicamentos mais baratos e de qualidade garantida, introduzida legalmente em 1999, com a lei nº 9.787. A partir daí, um mercado anteriormente formado apenas por medicamentos de referência e similares, passou a dispor de um novo tipo de produto, ampliando as opções de consumo à população.

Entretanto, a participação dos genéricos no mercado consumidor ainda é pequena, visto a falta de informações da população quanto à



confiabilidade destes produtos e a resistência da classe médica (e demais prescritores) em prescrever medicamentos genéricos. Apenas uma pequena parcela da população adere-se à terapia com genéricos, enquanto que a maior parte volta-se ao consumo de similares.

Neste contexto, torna-se essencial estabelecer a importância das patentes e dos genéricos no mercado para conscientizar a população quanto à qualidade dos medicamentos que utiliza.

**O Mercado de Medicamentos e seus Produtos**  
Entre 1971 e 1996 o Brasil não reconhecia patentes, um direito de propriedade industrial que concede a exploração exclusiva de uma invenção, por seu inventor, durante um prazo determinado. Durante este período, o mercado de medicamentos nacional era composto apenas por medicamentos de referência, também conhecidos como medicamentos inovadores e por similares.

De acordo com as definições da Lei no. 9 787/99, o medicamento de referência consiste num produto inovador, registrado no órgão federal responsável pela vigilância sanitária (no caso do Brasil, a ANVISA), comercializado no país, e cuja eficácia terapêutica, segurança e qualidade são comprovadas cientificamente junto ao órgão federal competente, por ocasião do registro, através de estudos pré-clínicos (realizados em animais de laboratório) e clínicos (realizados em humanos). O desenvolvimento de medicamentos inovadores requer o investimento em pesquisas, por parte do laboratório produtor. Dessa forma, a produção de medicamentos de referência restringe-se majoritariamente aos grandes laboratórios farmacêuticos, geralmente representados por empresas multinacionais, que dispõem de recursos financeiros suficientes para serem investidos em pesquisa e publicidade para divulgação da marca do produto. Durante a produção de um medicamento inovador, o laboratório produtor desenvolve uma formulação e uma forma farmacêutica adequadas

à via de administração e à indicação terapêutica do produto, estabelecendo e validando os processos de fabricação, assim como as especificações que deverão ser reproduzidas posteriormente, lote a lote (STORPIRTIS, 1999).

A ausência de patentes no Brasil, durante o período anteriormente citado, não garantia o retorno lucrativo aos laboratórios produtores de medicamentos inovadores, já que permitia, a outros laboratórios, produzir medicamentos similares aos produtos inovadores quanto à composição em princípios ativos e à indicação terapêutica, sem, contudo, exigir a comprovação científica da equivalência entre o produto inovador e o produto similar, e o decurso de um prazo adequado de exploração exclusiva do produto inovador para garantir o retorno lucrativo ao laboratório produtor antes da produção do medicamento similar.

Neste contexto, surgiram os similares, uma categoria de medicamentos que, ainda segundo a Lei no. 9 787/99, contém os mesmos princípios ativos, presentes nas mesmas concentrações, e que apresentam a mesma forma farmacêutica, via de administração, posologia e indicação terapêutica, preventiva ou diagnóstica do medicamento de referência registrado no órgão federal responsável pela vigilância sanitária (ANVISA), podendo diferir somente em características relativas ao tamanho e a forma do produto, prazo de validade, embalagem, rotulagem, excipientes e veículos. Estes produtos não são submetidos a nenhum teste científico para a comprovação de sua equivalência farmacêutica e terapêutica em relação ao seu medicamento de referência, e, portanto, não são com estes intercambiáveis (não podem substituí-los em prescrições).

Entretanto, de acordo com o exposto na Resolução RDC No. 134, de 29 de maio de 2004, até 2009 todos os medicamentos similares em circulação no mercado deverão ser submetidos ao teste de equivalência farmacêutica pelos centros credenciados pela ANVISA, até 2014, estes pro-





duto também deverão apresentar o teste de bioequivalência e biodisponibilidade relativa. Considerando tal medida legislativa, prevê-se que, num futuro bastante próximo, os similares serão extintos do mercado de medicamentos, uma vez que, ao serem submetidos aos testes citados transformar-se-ão em produtos genéricos.

Em 1996, foi estabelecida a lei nº 9.279 (Lei das Patentes), concedendo aos laboratórios produtores de medicamentos inovadores o direito de exploração exclusiva de seu produto durante um prazo determinado (de 10 a 20 anos, no Brasil), estabelecido de acordo com os custos da pesquisa. Em função do reconhecimento das patentes, foi estabelecida, em 10 de fevereiro de 1999, a lei nº 9.787 (Lei dos Genéricos), que deu origem a uma nova categoria de medicamentos, os genéricos.

De acordo com a Lei no. 9 787/99 os medicamentos genéricos são produtos similares a medicamentos de referência, com estes intercambiáveis, produzidos após a extinção da patente de seu produto de referência, designados pela DCB (Denominação Comum Brasileira), ou, em sua ausência, pela DCI (Denominação Comum Internacional), e submetidos a testes de bioequivalência (quando necessário) e equivalência farmacêutica, para a comprovação de sua intercambialidade com seus medicamentos de referência, e, portanto, de sua eficácia, segurança e qualidade. Os genéricos e seus respectivos medicamentos de referência são equivalentes terapêuticos, ou seja, medicamentos que apresentam a mesma eficácia clínica e o mesmo potencial para gerar efeitos adversos (MARZO & BALANT, 1995; MEREDITH, 1996; GENEVA, 1996; BENET, 1999; MARZO, 1999; MEYER, 1999). A equivalência terapêutica dos genéricos em relação aos seus medicamentos de referência é geralmente assegurada por meio de testes de equivalência farmacêutica, de bioequivalência e de boas práticas de fabricação e controle de qualidade (STORPIRTIS et al., 2004). Equivalentes farmacêuticos são medicamentos que contém o mesmo fármaco, presente

em concentrações idênticas, sob a mesma forma farmacêutica, o que pode ser avaliado por meio de testes *in vitro* (SHARGEL & YU, 1999). Em relação aos excipientes e veículos de genéricos, a resolução de nº 135, de 29 de maio de 2003, publicada no Diário Oficial da União em 02 de junho de 2003, atualmente em vigor para o registro de genéricos, estabelece que os excipientes e veículos empregados na formulação de genéricos podem ou não ser idênticos aos empregados na formulação de seus respectivos medicamentos de referência (ANVISA, 2003a), e, portanto, é possível que dois produtos sejam considerados equivalentes farmacêuticos, mesmo apresentando formulações diferentes em relação à composição qualitativa e quantitativa dos excipientes e veículos (DIGHE, 1999). A legislação brasileira estabelece que, para um medicamento ser registrado como genérico, é necessário que se comprove sua equivalência farmacêutica e sua bioequivalência em relação ao medicamento de referência indicado pela ANVISA (2003a). Os genéricos são produtos mais baratos, cujos preços representam, em média, 60% dos preços de seus medicamentos de referência, o que os tornam mais acessíveis à população consumidora, principalmente a de baixa renda. Isso só é possível porque os laboratórios produtores de genéricos não precisam investir em pesquisas para o desenvolvimento de novas formulações, e em publicidade para divulgação de marca, ausente no produto. Os genéricos aprovados pela ANVISA devem conter na embalagem a expressão “Medicamento Genérico – Lei 9.787/99”, e ser identificados pelo nome do princípio ativo e por uma tarja amarela contendo um ‘G’ maiúsculo em azul.

### Produção e Circulação de Genéricos

Os genéricos constituem uma categoria especial de medicamentos similares, caracterizada pela comprovação da eficácia, segurança e qualidade destes produtos por meio de testes de bioequivalência e equivalência farmacêutica, que



também asseguram sua intercambialidade com os medicamentos de referência. Dessa forma, existem algumas condições que se aplicam à produção de genéricos, para que estes possam ser comercializados. A primeira delas corresponde à extinção da patente do medicamento de referência a partir do qual será produzido o genérico, seja pelo decurso do prazo ou pela renúncia do direito patentário, seja pela falta de pagamento da taxa anual ao INPI (Instituto Nacional da Propriedade Industrial) ou pela falta de representante legal no Brasil quando o titular é domiciliado no exterior. A segunda condição refere-se à comprovação da eficácia terapêutica, segurança e qualidade do genérico através de testes de bioequivalência e equivalência farmacêutica entre o produto genérico e seu produto de referência, realizada por centros cadastrados e credenciados pela ANVISA, como a Santa Casa do Rio de Janeiro, a Universidade Federal do Ceará (UFCE), a Universidade de Campinas (UNICAMP), a Universidade de São Paulo (USP), entre outros centros nacionais e internacionais. A ANVISA participa da produção dos genéricos regulamentando o controle de qualidade destes produtos, através do acompanhamento dos testes exigidos para sua comercialização, e, portanto, apenas os centros cadastrados e credenciados pela ANVISA têm o poder de realizar os testes para determinação da equivalência entre genéricos e medicamentos de referência. A ANVISA também é responsável pelo registro dos genéricos, necessário para sua comercialização, e pela regulamentação da dispensação de genéricos pelos serviços de saúde públicos e privados. A terceira e última condição que se aplica à produção dos genéricos representa a designação destes produtos pela DCB, ou, em sua ausência, pela DCI. De acordo com esta condição, os genéricos devem ser designados pelo nome de seu(s) princípio(s) ativo(s), que por sua vez, deve corresponder ao nome do(s) princípio(s) ativo(s) de seu medicamento de referência, e, portanto, deve constar das listas de DCB, ou então, nas listas de DCI, uma vez que os medicamentos inovadores, quando

registrados, também têm o nome de seus princípios ativos registrados e aprovados pelo órgão competente da DCB (ANVISA) ou da DCI (Organização Mundial da Saúde – OMS).

Durante a produção de um medicamento genérico, o laboratório produtor deve investir num desenvolvimento farmacotécnico que resulte num produto que cumpra com as mesmas especificações *in vitro* do medicamento de referência utilizado. Entretanto, aceita-se que a formulação e o processo de fabricação não sejam idênticos, o que geralmente ocorre, devido aos diferentes equipamentos e fornecedores de matérias-primas dos diversos laboratórios, desde que essas diferenças não comprometam a bioequivalência entre os produtos (DIGHE, 1999). Dessa maneira, é conveniente ressaltar que diferenças quanto a características físicas e físico-químicas do fármaco e dos demais componentes da formulação, assim como diferenças quanto aos processos de fabricação, podem gerar diferenças na biodisponibilidade do produto final, o que, no caso de genéricos, podem comprometer sua bioequivalência e, conseqüentemente, sua intercambialidade com seu medicamento de referência, contudo, isso pode ser evitado realizando-se o desenvolvimento farmacotécnico do produto de maneira adequada (STORPIRTIS et al., 1999).

Definidos a formulação e o processo de produção, o laboratório deverá cumprir com todas as etapas do procedimento de produção do medicamento genérico, junto a ANVISA e ao Ministério da Saúde. As etapas do processo de produção de um genérico correspondem às etapas de pré-submissão, registro e pós-registro.

Na etapa de pré-submissão, o laboratório deve apresentar um projeto, para análise e aprovação da ANVISA, constando de fórmula padrão, processo de fabricação, equipamentos utilizados, protocolo com estudos de estabilidade e validação do processo, metodologia analítica utilizada e protocolo de estudos de bioequivalência, atendendo às normas estabelecidas pela Resolução de nº 10,





de 2001. O projeto é, então, analisado, e se aprovado, o laboratório receberá autorização para produzir lotes preliminares, que serão utilizados nos estudos de estabilidade e validação do processo de produção, de equivalência farmacêutica e bioequivalência.

Na etapa de registro, o laboratório deverá apresentar toda a documentação exigida pela legislação vigente (alvará de funcionamento, certificado de Boas Práticas de Fabricação, certificado de responsabilidade técnica e relatório técnico do fármaco contendo aspectos farmacodinâmicos, farmacocinéticos, toxicológicos e resultados de estudos clínicos realizados). Caso o parecer técnico seja favorável após análise completa do processo, o medicamento será considerado genérico e terá seu registro publicado no DOU (Diário Oficial da União). A partir daí, poderá ser comercializado como genérico.

Na etapa de pós-registro, o laboratório deverá, após a publicação do registro do produto, distribuir no mínimo 03 lotes à ANVISA, para que a Agência, a seu critério, faça apreensão para análise de controle da qualidade dos lotes produzidos e distribuídos mensalmente. A ANVISA torna-se responsável por enviar relatórios, periodicamente, informando quanto à ocorrência de reações adversas, para garantir o monitoramento da segurança e da eficácia do medicamento genérico.

Com a circulação de genéricos, o profissional farmacêutico, os consumidores, as empresas farmacêuticas e a indústria nacional sofreram algumas modificações. O profissional farmacêutico passou a ter autonomia para intercambiar medicamentos de referência com seus genéricos (exceto quando expressa a decisão de proibição da troca pelo prescritor, ou quando prescrito um similar). O campo de atuação do farmacêutico também foi ampliado, a partir da entrada dos genéricos no mercado de medicamentos, com o surgimento de atividades que exigem a participação de um farmacêutico, como o desenvolvimento de

metodologia analítica empregada nos testes de bioequivalência e equivalência farmacêutica, a validação de processos de produção e o desenvolvimento farmacotécnico voltado à garantia da intercambialidade. Para os consumidores, a entrada dos genéricos no mercado de medicamentos trouxe apenas benefícios, pois aumentou suas opções de consumo, disponibilizou medicamentos mais baratos e de qualidade garantida, facilitando o acesso a estes produtos pela população consumidora, principalmente a de baixa renda, e forçou a queda dos preços dos medicamentos de referência por estimular a concorrência. Para as empresas farmacêuticas, a entrada dos genéricos no mercado de medicamentos produziu impactos variáveis de acordo com o porte e com o tipo de atividade econômica explorada pela empresa: para os grandes laboratórios, geralmente, produtores de medicamentos inovadores, o impacto foi negativo, pois seus lucros foram reduzidos em virtude da queda dos preços de seus produtos, forçada pela concorrência promovida pelos genéricos, e conseqüente redução da procura pelos medicamentos de referência; para os pequenos laboratórios, geralmente produtores de genéricos e similares, o impacto foi positivo, pois, com o aumento do número de vendas destes produtos, os lucros do laboratório também aumentaram; para as drogarias, que circulam todos os tipos de medicamentos, o impacto foi negativo, pois sua margem de lucros foi reduzida (há um aumento no número de vendas de genéricos, e, por conseqüência, uma queda no número de vendas de similares, o que extingue as vantagens recebidas pela drogaria na compra de similares, como bonificações de descontos e amostras grátis). Para a indústria nacional, a circulação dos genéricos permitiu seu fortalecimento e desenvolvimento tecnológico, culminando com o crescimento econômico do país.

### **Confiabilidade dos Genéricos**

Os genéricos não devem oferecer nenhum risco



extra à saúde do consumidor, uma vez que, ao passarem pelos testes de bioequivalência e equivalência farmacêutica, comprovam sua eficácia, segurança, qualidade e intercambialidade com seus medicamentos de referência. Os únicos riscos à saúde que podem ser oferecidos por genéricos restringem-se aos seus efeitos colaterais, também oferecidos por seus medicamentos de referência que, no entanto, são notificados ao consumidor na bula. Reações idiossincráticas também podem ser relatadas, assim como em qualquer outro medicamento.

Riscos adicionais podem estar relacionados a diversos fatores, como interações alimentares e/ou medicamentosas, posologia inadequada, incomplacência do paciente quanto à duração do tratamento, más condições de armazenamento na drogaria ou residência, acidentes com o medicamento durante o transporte (como processos de lixiviação, extravasamento do conteúdo medicamentoso, decomposição dos princípios ativos em função da alteração das condições de temperatura e aeração do veículo transportador), entre outros. Contudo, desde que os genéricos sejam submetidos e aprovados pelos testes de bioequivalência e equivalência farmacêutica com seus medicamentos de referência, toma-se impossível a ocorrência de efeitos adversos decorrentes de incompatibilidades entre as drogas da formulação do produto genérico. A confiabilidade dos genéricos, portanto, é assegurada pelos ensaios de equivalência farmacêutica e bioequivalência, realizados por centros cadastrados e credenciados pela ANVISA.

Os testes de equivalência farmacêutica correspondem à execução de ensaios físicos e físico-químicos comparativos entre o genérico e seu medicamento de referência, realizados por um centro prestador de serviços em Equivalência Farmacêutica (EQFAR) devidamente habilitado pela Rede Brasileira de Laboratórios Analíticos em Saúde (REBLAS – ANVISA). Estes testes verificam se há equivalência entre os tipos de prin-

cípios ativos presentes no genérico e em seu medicamento de referência, entre as concentrações destas drogas, entre a forma farmacêutica e a via de administração de cada medicamento. Através destes testes, comprova-se a equivalência terapêutica do genérico em relação ao seu medicamento de referência, uma vez que identificam o tipo de princípio ativo presente em cada produto (equivalentes terapêuticos contêm o mesmo princípio ativo em sua formulação e, portanto, devem produzir o mesmo efeito terapêutico).

O teste de bioequivalência deve ser precedido pelo teste de equivalência farmacêutica e tem por objetivo comparar a biodisponibilidade dos fármacos contidos no medicamento genérico com a biodisponibilidade dos fármacos contidos em seu medicamento de referência, verificando se há ou não equivalência entre elas. O termo biodisponibilidade refere-se à quantidade de droga presente na corrente sanguínea sistêmica em sua forma disponível (forma livre), após administração do medicamento e, portanto, relaciona-se diretamente com a velocidade de absorção e de depuração da droga (que reflete as taxas de biotransformação e excreção da droga, processos farmacocinéticos que removem a droga da corrente sanguínea, reduzindo sua porcentagem biodisponível). O estudo comparativo da biodisponibilidade das drogas do produto genérico e de seu produto de referência possibilita conhecer como a formulação do medicamento afeta a farmacocinética de seu(s) fármaco(s), o que é indispensável para avaliar a qualidade do medicamento. Estes testes são realizados em voluntários sadios e semelhantes quanto ao porte físico, constituição corporal, idade, sexo e raça. O estudo da biodisponibilidade envolve três etapas: etapa clínica, etapa analítica e etapa estatística. Para que o estudo da bioequivalência apresente resultados confiáveis é necessário que seja bem planejado, sendo que este planejamento abrange todas as etapas do teste (STORPIRTIS et al., 2004). A seguir, estão descritas sucintamente as etapas do teste de bioequivalência:





**1. Etapa Clínica:** refere-se à administração dos medicamentos, em doses iguais e em períodos distintos, com posterior coleta de alíquotas de sangue e urina, após um tempo determinado, para análise laboratorial. Nesta etapa, devem ser estabelecidos o cronograma de coleta das amostras, de acordo com o tipo de forma farmacêutica (liberação imediata ou modificada) e a meia-vida de eliminação do fármaco. Os critérios de inclusão e exclusão de voluntários do estudo devem ser suficientes para selecionar voluntários saudáveis, evitando que características fisiológicas dos indivíduos interfiram nos resultados (STORPIRTIS et al., 2004). A forma pela qual as amostras serão coletadas, processadas, armazenadas e transportadas também faz parte do planejamento da etapa clínica (SHARGEL & YU, 1999). Na etapa clínica, seleciona-se 24 voluntários sadios, que são internados um dia antes da administração da droga, passando pela primeira coleta de sangue. Metade dos voluntários recebe o medicamento genérico e os demais, recebem o medicamento de referência. Mais tarde, os grupos se invertem, ou seja, o grupo de voluntários que recebeu o medicamento genérico passa a receber o medicamento de referência, e vice-versa. Realizam-se cerca de 15 coletas de sangue periódicas. O plasma sanguíneo das amostras é separado e congelado para posterior análise.

**2. Etapa Analítica:** refere-se à quantificação do fármaco presente nas alíquotas de sangue e urina, através de métodos analíticos específicos. Durante o planejamento da etapa analítica deve ser estabelecido o analito a ser quantificado (fármaco inalterado, metabólito ou pró-fármaco), a matriz biológica utilizada (sangue total, plasma, soro ou urina) e o método analítico adequado (STORPIRTIS et al., 2004). O método de quantificação deve ser específico para cada analito, exato e relativamente simples, de modo a minimizar os erros (STORPIRTIS et al., 2004). Toda a metodologia deve ser devidamente validada antes da realização do estudo, apresentando todos os parâmetros de validação previamente estabe-

lecidos (BRESSOLE et al., 1996; CAUSON, 1997). Desenvolve-se uma metodologia analítica específica para o teste e, após validação do método, passa-se à análise, na qual o fármaco é extraído das amostras e quantificado por aparelhos de alta sensibilidade.

**3. Etapa Estatística:** refere-se à realização de cálculos a partir de parâmetros farmacocinéticos e de cálculos estatísticos para determinar a equivalência entre a biodisponibilidade das drogas do produto genérico e do produto de referência. A etapa estatística começa, na realidade, antes do início do estudo, com o cálculo do número adequado de voluntários para o fármaco em questão e a elaboração da lista de randomização (STORPIRTIS et al., 2004). Também faz parte do planejamento da etapa estatística, o tratamento a que serão submetidos os dados gerados na etapa analítica (SHARGEL & YU, 1999). Nesta etapa, os resultados da biodisponibilidade do princípio ativo contido no genérico são comparados com os resultados do medicamento de referência.

As preocupações em termos de biodisponibilidade, bioequivalência e intercambialidade recaem sobre medicamentos apresentados sob formas farmacêuticas para as quais existem muitos fatores que podem alterar a liberação, a dissolução e a absorção do fármaco no organismo. Tais fatores devem ser amplamente estudados durante o desenvolvimento farmacotécnico do produto, o que, no entanto, não exclui a necessidade da realização do teste de bioequivalência (BANAKAR, 1992; STORPIRTIS et al., 2004). Desse modo, o teste de bioequivalência realizado de acordo com as Boas Práticas de Clínica e de Laboratório, empregando-se voluntários sadios, é fundamental para garantir que dois medicamentos que comprovaram a equivalência farmacêutica apresentarão o mesmo desempenho no organismo em relação à biodisponibilidade, expressa em termos da quantidade absorvida do fármaco, a partir da forma farmacêutica administrada, e da velocidade do processo de absorção



(STORPIRTIS et al., 2004; SHARGEL & YU, 1999; STORPIRTIS, 1999).

Algumas formas farmacêuticas dispensam o teste de bioequivalência, tendo sua intercambialidade garantida apenas pelo teste de equivalência farmacêutica. No caso de medicamentos isentos de bioequivalência, a equivalência farmacêutica passa a ser o principal requisito que sustenta a intercambialidade (STORPIRTIS et al., 2004). Estes produtos liberam seus fármacos de forma que, depois de absorvidos, apresentam-se 100% biodisponíveis na corrente sanguínea sistêmica (100% de biodisponibilidade) ou, quando liberados, não necessitam sofrer absorção sistêmica para promoção de seus efeitos. Merecem atenção especial as formas farmacêuticas em que o fármaco está presente na forma sólida, cuja dissolução pode ser afetada significativamente pelas características inerentes ao próprio fármaco, bem como pela presença de excipientes que favorecem ou dificultam a dissolução, além das técnicas de fabricação empregadas (GIBALDI, 1991). Portanto, formas farmacêuticas sólidas de uso oral, de liberação imediata ou modificada, são aquelas que, potencialmente, podem apresentar problemas em relação à biodisponibilidade e à bioequivalência (ABDOU, 1989; ARANCÍBIA, 1991; BANAKAR, 1992). Esta constatação torna-se clara quando se considera casos de isenção de testes de bioequivalência para o registro de determinados medicamentos genéricos, como por exemplo, as soluções aquosas injetáveis por via intravenosa, nas quais o fármaco já está dissolvido e toda a dose será administrada diretamente na corrente sanguínea sistêmica do paciente, o que implica em 100% de biodisponibilidade (STORPIRTIS et al., 2004). Para um genérico deste tipo, a comprovação da equivalência farmacêutica e das Boas Práticas de Fabricação e Controle de Qualidade é suficiente para garantir a sua intercambialidade com o medicamento de referência (ANVISA, 2003a). Outro exemplo de isenção de bioequivalência corresponde a determinadas soluções aquosas de administração oral,

que também apresentam o fármaco já dissolvido, e em condições de ser absorvido pelo organismo (STORPIRTIS et al., 2004). Para tais medicamentos, a experiência internacional demonstrou que não é necessário requerer a comprovação da bioequivalência do genérico em relação ao medicamento de referência para fins de registro, uma vez que a bioinequivalência é altamente improvável, desde que a formulação do genérico não contenha qualquer substância que possa alterar a absorção do fármaco, em relação à formulação do medicamento de referência (ANVISA, 2003b). Dentre as formas farmacêuticas isentas de bioequivalência, encontram-se:

1. medicamentos administrados por via parenteral (intravenosa, intramuscular, subcutânea ou intratecal), como soluções aquosas que contêm o mesmo fármaco, na mesma concentração em relação ao medicamento de referência e excipientes de mesma função, em concentrações compatíveis;
2. soluções de uso oral que contêm o mesmo fármaco, na mesma concentração em relação ao medicamento de referência e que não contenham excipientes que afetem a motilidade gastrointestinal ou a absorção do fármaco;
3. pós para reconstituição, que resultem em soluções que cumpram com os requisitos anteriores;
4. gases;
5. soluções aquosas otológicas e oftálmicas que contêm o mesmo fármaco, nas mesmas concentrações em relação ao medicamento de referência e excipientes de mesma função, em concentrações compatíveis;
6. medicamentos de uso tópico, não destinados a efeito sistêmico, contendo o mesmo fármaco, na mesma concentração em relação ao medicamento de referência e excipientes de mesma função, em concentrações compatíveis, destinados a uso otológico e oftálmico, que se apresentem da for-





ma de suspensão, devendo ser apresentados os resultados de estudos farmacodinâmicos que fundamentem a equivalência terapêutica;

7. medicamentos inalatórios ou aerossóis nasais, administrados com ou sem dispositivo, apresentados sob a forma de solução aquosa e contendo o mesmo fármaco, na mesma concentração em relação ao medicamento de referência e excipientes de mesma função, em concentrações compatíveis;

8. medicamentos de uso oral cujos fármacos não sejam absorvidos no trato gastrointestinal;

9. medicamentos isentos de prescrição médica, que contenham os fármacos: ácido acetilsalicílico, paracetamol, dipirona ou ibuprofeno, em formas farmacêuticas sólidas;

10. medicamentos de aplicação tópica, exceto os previstos no item 6, contendo fármacos na mesma concentração em relação ao medicamento de referência e excipientes de mesma função, em concentrações compatíveis.

### Genéricos e Fitoterápicos

O Ministério da Saúde publicou no Diário Oficial da União, em 12 de agosto de 2003, a resolução de nº 135, que estabelece a inexistência de genéricos para fitoterápicos (medicamentos preparados exclusivamente por substâncias de origem vegetal). O efeito terapêutico de fitoterápicos é resultante da interação das substâncias presentes em sua formulação, o que dificulta a conclusão de que fitoterápicos de marcas diferentes sejam exatamente iguais, através de testes de bioequivalência. Dessa forma, o registro de genéricos para fitoterápicos torna-se impossível.

### A Importância dos Genéricos no Mercado de Medicamentos

Os principais efeitos produzidos pela circulação dos genéricos referem-se ao aumento das opções de consumo de produtos homogêneos e intercambiáveis, porém, mais baratos, e a disponibilização de medicamentos de referência a preços menores. A existência dos genéricos é de fundamental importância para o mercado de medicamentos porque facilita o acesso da população consumidora a medicamentos mais baratos e de qualidade garantida, o que é essencial para a satisfação das necessidades humanas, principalmente as vitais, através do consumo destes produtos. Por serem equivalentes terapêuticos de seus medicamentos de referência, os genéricos constituem mais uma opção de consumo, aumentando a oferta de produtos homogêneos e intercambiáveis entre si. Dessa forma, favorecem a concorrência e, por consequência, induzem à diminuição da procura por seus medicamentos de referência, sensivelmente mais caros que os genéricos. A baixa demanda por medicamentos de referência, por sua vez, força a queda dos preços destes produtos, que se tornam mais baratos e, portanto, também mais acessíveis aos consumidores.

Com a entrada dos genéricos no mercado de medicamentos, a população consumidora de baixo poder aquisitivo que, antes não tinha acesso a medicamentos de qualidade, pôde adquirir produtos seguros, muitas vezes essenciais à sua saúde. Sem os genéricos, os produtos do mercado de medicamentos restringiriam-se a similares, produtos mais baratos, mas sem qualidade comprovada, e a medicamentos de referência, produtos de qualidade comprovada, mas extremamente caros, impossibilitando o acesso da população consumidora em geral a produtos realmente seguros.

Contudo, mesmo sendo produtos tão vantajosos aos consumidores, os genéricos ainda têm uma pequena participação no mercado consumidor, equivalente à cerca de 12%, de acordo com o IMS Health. Dentre os inúmeros fatores que contribuem para tal situação, estão a falta de informação da população quanto à confiabilidade e à



qualidade dos genéricos, a presença de similares no mercado de medicamentos (mais consumidos que os genéricos), a existência de bonificações dadas às drogarias durante a compra de similares (como descontos e ganho de amostras grátis), que induzem à *empurroterapia* nas drogarias e a resistência da classe médica em prescrever medicamentos genéricos (80% das prescrições incluem medicamentos de referência, de acordo com o Presidente da Abrafarma). Entretanto, a venda de genéricos cresceu 60% no terceiro trimestre deste ano, em comparação ao terceiro trimestre de 2004, segundo o balanço da Associação Brasileira das Indústrias de Medicamentos Genéricos (Pro Genéricos) o que demonstra o sucesso da implantação da política dos genéricos no país.

### **Patente de Invenção e sua Importância no Mercado de Medicamentos**

A patente consiste num direito de propriedade industrial, concedido pelo INPI (Instituto Nacional da Propriedade Industrial), que atua como um instrumento de concessão da exploração exclusiva de uma invenção, por seu inventor, durante um prazo determinado (de 10 a 20 anos, no Brasil), estabelecido de acordo com os custos da pesquisa. As patentes só foram reconhecidas, em território nacional, a partir de 1996, com o estabelecimento da Lei nº 9.279 (Lei das Patentes).

O efeito produzido pelas patentes, no mercado de medicamentos, refere-se ao aumento dos preços dos medicamentos registrados, uma vez que concedem o direito de exploração exclusiva do produto inovador pelo laboratório titular. A oferta do medicamento inovador patenteado, a partir daí, fica restrita ao laboratório titular, o que ocasiona, por conseqüência, a falta de opções de consumo. Como resultado, os preços de oferta do produto se elevam.

Entretanto, as patentes são de fundamental importância ao mercado de medicamentos, pois in-

centivam a pesquisa e o desenvolvimento de novos medicamentos, contribuindo para a evolução da qualidade dos produtos farmacêuticos. A partir da concessão do direito de exploração exclusiva do medicamento inovador, o laboratório titular pode obter o retorno lucrativo dos investimentos gastos durante a pesquisa, o que atua como um incentivo ao desenvolvimento de novas formulações. Embora acarretem o aumento dos preços dos medicamentos inovadores, mesmo que por tempo limitado, a falta de patentes comprometeria a satisfação das necessidades humanas através do consumo destes produtos e, portanto, a saúde humana. Sem as patentes, a evolução da qualidade dos medicamentos ficaria estagnada.

### **Considerações Finais**

Por ser um setor diretamente relacionado com a saúde humana e, portanto, com a vida das pessoas, o mercado de medicamentos deve disponibilizar, em sua oferta, produtos de qualidade, segurança e eficácia terapêutica garantidas. Dentre os tipos de medicamentos disponíveis neste setor, apenas genéricos e medicamentos de referência mostram-se confiáveis quanto a estes aspectos, uma vez que são submetidos a estudos científicos para comprovação de sua qualidade. Entretanto, a maior parte dos consumidores, induzidos por informações incorretas quanto à confiabilidade dos genéricos e pela busca de preços menores, demandam por similares, que, em geral, são mais baratos que os genéricos, mas não dispõem de qualidade garantida. Diante deste contexto, torna-se de fundamental importância disseminar informações corretas quanto à confiabilidade e à qualidade dos genéricos entre a população consumidora, por meio de profissionais de saúde, na tentativa de modificar a situação dos genéricos no mercado de medicamentos e otimizar sua participação na demanda consumidora do setor.

Quanto à qualidade dos produtos farmacêuticos





medicamentosos, também diretamente relacionados com a saúde humana, é inquestionável o papel das patentes em sua evolução: o reconhecimento das patentes, em 1996, foi o estopim para a evolução da qualidade dos produtos farmacêuticos, assim como para o desenvolvimento dos genéricos, que surgiram em função do reconhecimento do direito patentário.

Patentes e genéricos são de suma importância para o mercado de medicamentos, por motivos um pouco distintos entre si, mas que se voltam para um mesmo fim: a satisfação das necessidades humanas através do consumo de medicamentos de qualidade. As patentes alavancam a evolução da qualidade dos medicamentos ao incentivarem a pesquisa e o desenvolvimento de formulações inéditas, enquanto que os genéricos facilitam o acesso da população consumidora a medicamentos de qualidade garantida e a preços mais baixos.

### Referências

- ABDOU, H.M. **Dissolution, bioavailability and bioequivalence**. Easton: Mack Publishing Company, 554p, 1989.
- ARANCÍBIA, A. Calidad biofarmacéutica – Estudios in vitro y in vivo. **Acta Farm. Bonaerense**, 10:123-33, 1991.
- BANAKAR, U.K. **Pharmaceutical dissolution testing**. New Cork: Marcel Dekker Inc., 437p, 1992.
- BENET, L. Z. Understanding bioequivalence testing. **Transplant. Proc.**, 31: 75-95, 1999.
- BRASIL**. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. RDC n. 135, de 29 de maio de 2003. “Regulamento técnico para medicamentos genéricos”. Diário oficial da União, Brasília, 02 jun. 2003a. Disponível <[www.anvisa.gov.br](http://www.anvisa.gov.br)>. Acesso em: 25 jun. 2004.
- BRASIL**. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. RE n. 897, de 29 de maio de 2003. “Guia para isenção e substituição de estudos de bioequivalência”. Diário Oficial da União, Brasília, 02 jun. 2003b. Disponível <[www.anvisa.gov.br](http://www.anvisa.gov.br)>. Acesso em: 25 jun. 2004.
- BRESSOLE, F.; BROMET – PETIT, M.; AUDRAN, M. Validation of liquid chromatographic and gas chromatographic methods: applications to pharmacokinetics. **J. Chromatogr., B: Biomed. Sci. Appl.**, 686:3-10, 1996.
- CAUSON, R. Validation of chromatographic methods in biomedical analysis: view point and discussion. **J. Chromatogr., B: Biom. Appl.**, 689:175-80, 1997.
- DIGHE, S.V. A review of the safety of generic drugs. **Transplant. Proc.**, 31:235-45, suppl. 3A, 1999.
- GIBALDI, M. **Biopharmaceutics and Clinical Pharmacokinetics**. 4°. Ed. Philadelphia Lea & Febiger, 406p., 1991.
- MARZO, A. Open questions on bioequivalence: some problems and solutions. **Pharm. Res.** New York, 40: 357-369, 1999.
- MARZO, A; BALANT, L.P. Bioequivalence: an updated reappraisal addressed to applications o interchangeable multi-sorce pharmaceutical products. **Arzneim. – Forsch./Drug Res.**, 45:109-115, 1995.
- MEREDITH, P.A. Generic drugs: therapeutic equivalence. **Drug Saf., Auckland**, 15:233-242, 1996.
- MEYER, G.F. History and regulatory issues of generic drugs. **Transplant. Proc.** 31: 105-125, suppl.3A, 1999.
- SHARGEL, L.; YU, A.B.C. **Applied**



biopharmaceutics and pharmacokinetics. 4. ed. Stamford: Appleton & Lange, 768p., 1999.

STORPIRTIS, S. **Biofarmacotécnica: fundamentos de biodisponibilidade, bioequivalência, dissolução e intercambialidade de medicamentos genéricos.** São Paulo: [s.n.], 78p., 1999.

STORPIRTIS, S.; MARCOLONGO, R.; GASPAROTTO, F. S.; VILANOVA, C. M. **A equivalência farmacêutica no contexto da intercambialidade entre medicamentos genéricos e de referência: bases técnicas e científicas.** ANVISA, 2004.

STORPIRTIS, S.; KIMURA, C. M. R. E.; REZENDE, K. R.; PALUDETTI, L.<sup>a</sup>; MORI,<sup>a</sup> L. P. M. "Estudo comparativo da cinética de dissolução de ibuprofeno em comprimidos de liberação imediata comercializados no Brasil". **Rev. Brás. Cien. Farm.**, São Paulo. 35:281-88, 1999.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. Expert committee on specification for pharmaceutical preparation. 34 report. Geneva: **WHO**, 46p, 1996.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. Marketing authorization of pharmaceutical products with special reference to multisource (generic) products: a manual for a drug regulatory authority". Geneva: [s. n.], 1999.

#### Sites consultados

[www.farmaciahamburguesa.com.br](http://www.farmaciahamburguesa.com.br). Acesso em: 21 jun. 2004.

[www.maringasaude.com.br](http://www.maringasaude.com.br). Acesso em: 29 jun. 2004.

[www.medicamentogenerico.org.br](http://www.medicamentogenerico.org.br). Acesso em 21 jun. 2004.

[www.progenericos.org.br](http://www.progenericos.org.br). Acesso em: 18 jun. 2004.

[www.unifesp.br](http://www.unifesp.br). Acesso em: 30 jun. 2004.





# Malformações congênitas encefálica e craniofaciais em bovino.

## *Cerebral and skull-facial congenital malformations in bovine.*

Maria Tereza Giroto Matheus

Professora Titular em Histologia e Embriologia - UNESP e professora na FAI

Gildo Matheus

Professor Titular em Patologia - UNESP e professor na FAI

Fábio Silva Stevanato

Mestre - UNIMAR e professor na FAI

Flávio Roberto Navasconi

Biólogo e Encarregado Laboratórios na FAI

Maria Luciana Pereira Manzoli Capaldi

Bióloga e Técnica Laboratório Histopatologia na FAI

### Resumo

Foram analisadas, macroscopicamente, malformações congênitas encefálicas e craniofaciais em bovino mestiço, recém-nascido. À análise observou-se macrocefalia, em forma de abóboda, como principal anomalia. A necropsia revelou inexistência de ossificação da calota craniana, substituída por uma expansão de tecido mole, recoberto por tegumento normal. Após incisão antero-posterior e exposição da porção interna da cavidade craniana constatou-se a inexistência dos hemisférios cerebrais, cerebelo e hipófise, com persistência de remanescentes de tecido nervoso em continuidade com a medula óssea. Da cavidade craniana foram retirados 3,340 ml de líquido cefalorraquidiano, tendo ainda sido observadas fenda nasal parcial, fenda labial total, maloclusão, ausência dos incisivos, desvio da linha sagital, defeitos de formação da órbita e globos oculares anômalos.

### Palavras-Chave

malformações congênitas – crânio-faciais – encefálicas – macrocefalia.

### Abstract

It was analyzed, anatomical, cerebral and skull-facial congenital alterations in bovine of mixed race, newly born. To the analysis macrocephaly was observed, in abóboda form, as main anomaly. The necropsy revealed inexistence of ossification of the cranium, substituted by an expansion of soft fabric, covered for normal tegument. After incision in the front sense back and exhibition of the portion interns of the cranial cavity was verified the inexistence of the cerebral hemispheres, cerebellum and hypophysis, with persistence of remainders of nervous fabric in continuity with the bone marrow. Of the cranial cavity they were solitary 3.340 ml of LCR, having been still observed partial nasal rift, split labial total, alteration in the occlusion, absence of incisors, deviation of the medium line, defects of formation of the orbit and anomalous eyeballs.

**Key-words:** congenital malformations – skull-facial – cerebral - macrocephaly.

### Introdução



Embriologicamente sabe-se que o neurocrânio, ou seja, as porções laterais e o teto do crânio derivam do mesênquima que envolve o encéfalo através de ossificação intramembranosa. Neste tipo de ossificação as células mesenquimais proliferam e gradualmente mudam de forma passando a osteoblastos que vão formar tecido osteóide que, posteriormente, se mineraliza. Formam centros primários de ossificação que crescem para a periferia da futura peça óssea, irradiando espículas ósseas. A base do crânio ou condrocrânio origina-se a partir do mesênquima adjacente à notocorda que se condrifica e passa a formar a cartilagem paracordal. Rostralmente à cartilagem paracordal encontram-se as cartilagens hipofisárias e as trabéculas crânicas que se fundem e formam, respectivamente, o corpo do esfenoide e o etmoide. Outras condensações mesenquimais aparecem, a cada lado da placa mediana e originam as asas menor e maior do esfenoide. Com o aparecimento da cápsula peri-ótica desenvolve-se o labirinto membranoso que dá origem às partes petrosas e mastóideas do temporal; mais tarde estas duas partes se unem com a asa temporal e a placa paracordal e completa-se a formação do osso temporal (SADLER, 2002; KATCHBURIAN & ARANA, 2004).

O crânio pode apresentar anomalias de formação, que variam de grandes defeitos como a craniosquise, combinados com grosseiras deformidades encefálicas como a anencefalia, a até pequenas alterações, evidenciáveis apenas radiograficamente. Outras anomalias são causadas por ossificação prematura de uma ou mais suturas. Como exemplos se têm a escafocefalia que é o fechamento precoce da sutura sagital; a acrocefalia que é o resultado do fechamento precoce da sutura coronal e a plagiocefalia que consiste no fechamento das suturas coronal e lambdoide de um dos lados do crânio (SADLER, 2005). A acrania é o oposto dessas lesões, porque neste caso pode ocorrer apenas a formação parcial da calota craniana ou mesmo sua ausência total (COLHO, 2002) e, portanto, não haverá presença de suturas. Existem ainda, numerosas sinostoses

craniofaciais. A mais conhecida é a síndrome de Crouzon, com ossificação das suturas sagital e coronal ao nascimento, além do fechamento antecipado da fontanela anterior e da sutura frontal. Uma outra síndrome que envolve desenvolvimento cranial é a de Apert, que se caracteriza pelo fechamento prematuro da sutura coronal. Outras anomalias como, por exemplo, a microcefalia, decorre da falta de crescimento do encéfalo, enquanto que a macrocefalia é a expansão da caixa craniana atendendo a um aumento exagerado do crescimento do encéfalo ou resposta a uma pressão intraluminal intensa (PORTILLO, 2004).

Por sua vez, a face ou viscerocrânio é dividida em três terços. O terço superior, que faz parte do neurocrânio e tem o osso frontal como principal estrutura, é formado pelo processo frontonasal. O seu desenvolvimento origina o processo frontal, responsável pelo terço superior da face e os processos nasais mediais e laterais, que originam a região nasal, a porção mediana do lábio superior e o palato primário. Os terços médio e inferior originam-se dos dois primeiros arcos branquiais. O primeiro arco divide-se em processos maxilares direito e esquerdo e originam a maxila, o osso zigomático e parte do osso temporal, e em processos mandibulares direitos e esquerdos que originam a mandíbula, os ossículos do ouvido e o lábio inferior. O segundo arco origina a porção basal da face, região do osso hióide (BHASKAR, 1989; KATCHBURIAN & ARANA, 2004).

Segundo Stark e Ehrmann (1958) a fossa incisiva é ponto utilizado como referência para defeitos faciais anteriores e posteriores. As fendas anteriores encontradas na face são ocasionadas pela falta de penetração mesodérmica apropriada nos sulcos e a desintegração de tecidos entre o processo nasal medial e processo maxilar da região do filtro do lábio superior e abarcam a fenda labial e as fendas entre o palato primário e o palato secundário. As fendas situadas atrás da fossa incisiva devem-se à falta de fusão das prateleiras palatinas, originando então as fendas palatina e uvular.





Outra malformação facial diz respeito ao tamanho da abertura bucal. A fusão dos processos maxilares e mandibulares leva a formação de uma abertura bucal normal, de acordo com os componentes genéticos herdados durante a fecundação; se a fusão for menor do que o normal tem-se uma macrostomia e, se maior, uma microstomia.

O primórdio do sistema nervoso central é a placa neural. Com o desenvolvimento da placa neural tem-se a formação do sulco, da goteira e finalmente do tubo neural. Em torno de 24 dias de gestação fecha-se o neurópodo anterior e o posterior dois dias após. A porção mais anterior, mais larga, do tubo neural forma o encéfalo e a posterior, mais longa e regular, origina a medula espinhal. Na quinta semana o encéfalo já apresenta dilatações características de suas porções definitivas: o telencéfalo, os hemisférios cerebrais primitivos, o diencéfalo e o mesencéfalo já mostrando o início de formação do metencéfalo, mielencéfalo e a flexura pontina. A cavidade neural é contínua em todo o tubo e forma o canal central na medula espinhal; o quarto ventrículo no rombencéfalo; o aqueduto cerebral no mesencéfalo; terceiro ventrículo no diencéfalo e ventrículo lateral em cada hemisfério cerebral. Preenchendo toda esta cavidade neural está o líquido cefalorraquidiano (SADLER, 2005).

O desenvolvimento do sistema nervoso central depende do estado de saúde materna, das condições da placenta, do parto e do funcionamento correto do sistema cardiopulmonar do neonato. Entre os fatores exógenos considera-se que o tipo de comprometimento cerebral vai depender do momento em que o agente atua, de sua duração e da sua intensidade. Quanto ao momento em que o agente etiológico incide sobre o SNC em desenvolvimento, distinguem-se os períodos pré-natal, peri-natal e pós-natal (ROTTA, 2002). No período pré-natal a perfusão do cérebro fetal pode comprometer-se por enfermidades sistêmicas, por traumatismos, por intoxicações da mãe, por incompatibilidades materno-fetais, por

desequilíbrios circulatórios em gestações monocoriais, por patologias placentárias ou por problemas de formação do próprio coração fetal (BURKE; TANNENBERGH, 1955; PERES MIES, 1999; 2000).

O tubo neural pode ser sede de defeitos (DTN) como a anencefalia, encefalocele e espinha bifida. Além dessas malformações, diretamente relacionadas com o fechamento normal do tubo neural, encontram-se também aquelas relacionadas às encefalopatias vasculares fetais. São as denominadas lesões destrutivas císticas secundárias ou acidentes vasculares durante a vida intra-uterina e que abrangem a hidranencefalia, a porencefalia e a encefalopatia multicística.

A hidranencefalia é um defeito que se origina depois da neurulação e consiste na ausência completa ou incompleta dos hemisférios cerebrais que se encontram substituídos por cavidades recobertas por meninges e ocupadas por líquido cefalorraquidiano (LCR), porém a abóbada craniana e as meninges permanecem intactas. A calota craniana está normal ou distendida. Em geral observa-se um crescimento progressivo do perímetro cranial, somente depois do nascimento e devido a isto o tamanho da cabeça pode ser normal, sobretudo no momento do nascimento. A região basal dos lóbulos occipitais e temporais, o tálamo, a porção posterior dos núcleos da base, o tronco e o cerebelo encontram-se, geralmente, conservados (BURKE; TANNENBERG, 1995; PÉREZ MIES et al., 1999; 2000). Acredita-se que seja causada por um acidente cerebrovascular intra-uterino no território de ambas as carótidas internas (SALES LLOPES et al., 2005). Pode ser o resultado de um processo destrutivo cerebral como o decorrente de um maciço infarto na região irrigada pela artéria carótida interna, especificamente pelas artérias cerebral anterior e cerebral posterior. As causas também podem ser infecciosas: herpes congênito ou neonatal, toxoplasmose, encefalite eqüina, entre outras (SALES LLOPES et al., 2005). Desta maneira, a hidranencefalia é consequência de uma redução generalizada da perfusão

cerebral com um comprometimento disseminado (COTRAN, KUMAR & ROBBINS, 1996).

Quando a isquemia e/ou hipóxia são mais extensas, provocando necrose quase total dos hemisférios cerebrais, estes podem estar reduzidos a um saco cístico cheio de líquido cuja parede membranosa é formada apenas pela pia-aracnóide e por fina pelúcula glial. Podem estar preservadas porções póstero-inferiores dos hemisférios (pólos occipitais e superfície inferior dos lóbulos temporais). O comprometimento dos núcleos da base e do tálamo é variável. Tronco encefálico e cerebelo permanecem intactos. Para Brasileiro Filho et al. (1994) tanto a porencefalia quanto a hidranencefalia são conseqüências de agressões hipóxicas-isquêmicas, que ocorrem entre a vigésima e vigésima oitava semanas de gestação.

A hidranencefalia ocasionalmente pode apresentar malformação facial, enquanto que a holoprosencefalia, sempre é acompanhada de dismorfismo facial.

A holoprosencefalia é uma malformação caracterizada pela falta de desenvolvimento do prosencefalo que é responsável pela formação do lóbulo frontal do cérebro do embrião e determina alterações no desenvolvimento da face e na estrutura e funcionamento cerebral.

Os agentes etiológicos das malformações congênitas gerais, segundo Sadler (2005) são diversos e distribuídos em 10% para fatores ambientais; 10% para fatores genéticos e cromossômicos e os 80% restantes seriam devido a complexas interações de fatores genéticos e ambientais. Conhece-se uma grande variedade de agentes que produzem malformações congênitas: víruses, radiações, drogas medicamentosas e sociais, hormônios, diabetes materna e anormalidades cromossômicas, entre outras.

Tomando como base as considerações expostas, é objetivo do presente trabalho analisar e des-

crever as malformações congênitas encefálicas e craniais de bovino neomorto, discutindo a possível etiopatogenia dessas anomalias.

### Relato de caso

Bovino, com aproximadamente dois dias de idade, macho, mestiço, nascido de mãe mestiça e pai nelore tabapuã, sem consangüinidade, mesclado em branco e preto, foi encaminhado, pelo seu proprietário, ao Curso de Medicina Veterinária das Faculdades Adamantinenses Integradas – FAI, por ser portador de malformações congênitas encefálicas e craniofaciais.

Dados fornecidos pelo proprietário dão conta de que o animal apresentando peso normal encontrava-se ao lado da mãe, em decúbito lateral, berrando a curtos intervalos de tempo, não tendo ainda se alimentado. Levado para o curral percebeu-se que o animal conseguia deglutir com bastante dificuldade.

Embora apresentando artrogripose, conseguia movimentar-se toda vez que encontrava apoio para os cacos. Quando em decúbito lateral esquerdo mostrava-se tranqüilo; quando em decúbito lateral direito tornava-se agitado, berrando com freqüência. Ficou evidente a existência de retardo de neuropsicomotor assim como a macrocefalia, cujo aumento de volume foi ocorrendo gradativamente desde o nascimento (Fig. 1).



Fig. 1. Animal em decúbito lateral. Observar deformidade crânio-facial, em forma de cuspula.





Ao exame clínico verificou-se hipotermia generalizada, tendo ocorrido o óbito do animal, aproximadamente 48 horas após o nascimento. A necropsia começou com a medição da cúpula que apresentou 74 centímetros de diâmetro e 24 centímetros de altura (Fig. 2) e cujo conteúdo, retirado por perfuração na porção superior da cabeça do animal (Figs. 3 e 4), resultou em 3.340 mililitros de líquido cefalorraquidiano (LCR). Na seqüência foi realizada uma incisão no sentido antero-posterior expondo a porção interna da cúpula, quando se constatou a ausência total da porção óssea do neurocrânio (Fig. 5), ausência dos hemisférios cerebrais, do cerebelo e da hipófise; com persistência de remanescentes de tecido nervoso (Fig. 6). Devido a ausência de tecido ósseo, da calota craniana, as meninges mostraram-se aderidas diretamente aos componentes tegumentares da cúpula mencionada (Fig.7).

**métrica.  
perfuração.**



Fig. 4. Provetas mostrando LCR coletado num total de 3.340 ml.



Fig. 2. Medição da malformação, utilizando fita



Fig.5. Abertura da abóbada craniana. Observar ausência de ossificação.



Fig. 3. Retirada de LCR da cúpula, através de



Fig. 6. Remanescentes dos componentes encefálicos, em continuidade com a medula.





Fig. 7. Porção interna das meninges, com vascularização normal.

Verificou-se ainda, que a deformidade causada pela dilatação crânica (cúpula) além de ocupar toda a extensão do neurocrânio, comprometera o viscerocrânio na medida em que avançava sobre os dois terços superiores da face. Portanto, a expansão da cúpula e a compressão exercida pela grande quantidade de líquido nela contida impediram o desenvolvimento do terço superior da face, sendo que o terço médio mostrou-se também bastante comprometido, especialmente na linha mediana, onde apenas a porção inferior do nariz, igualmente malformado, pode ser evidenciado (Fig.8).

Presença de fenda parcial nasal do lado direito cuja cavidade nasal está constituída exclusivamente de tecido mole, representado por conjuntivo denso fibroso, semelhante ao periosteio. O septo nasal, subdesenvolvido, mostrava falta de fusão com as estruturas que formam o assoalho da cavidade nasal, estas de constituição fibrocartilaginosa (Fig.9).



Fig.8. Região do terço médio da face, mostrando septo nasal desviado para a esquerda



Fenda labial unilateral completa do lado superior direito, sendo que o labro dobrava-se para o interior da cavidade bucal; desenvolvimento normal do labro inferior; palato duro não fendido, porém alargado na região dos molares, com desvio para o lado esquerdo resultando em maloclusão, ausência de incisivos e desvio da linha sagital (Figs. 10 e 11). A língua mostrou padrões normais de desenvolvimento,



Fig. 10. Região do palato, mostrando alargamento na região dos molares.



Fig. 11. Região de molares, mostrando maloclusão.



Os globos oculares de tamanho e formas normais apresentavam diferentes nuances de coloração, sendo o esquerdo de um azul profundo e o direito, esbranquiçado e opaco (Fig. 12). No que se refere à posição, o globo ocular direito situava-se mais posteriormente e a órbita era incompleta; o direito mostrava localização anatômica normal (Figs. 13 e 14)



Fig. 12. Globos oculares dissecados.



Fig. 13. Crânio seco, lado direito, mostrando vários graus de deformidades.



Fig. 14. Crânio seco, lado esquerdo, mostrando órbita bem formada.

## Discussão e Conclusão

Com base em nossos achados, de todas as malformações congênitas encefálica e craniofaciais apresentadas pelo espécime analisado, a mais evidente e deformante foi a macrocefalia. Dai, inicialmente, pensou-se tratar-se de hidrocefalia ou hidranencefalia.

A comprovação ou negação desta hipótese poderia ter sido confirmada com a realização de um eletroencefalograma (EEG) que teria evidenciado inexistência de atividade elétrica no caso de hidranencefalia ou um traçado elétrico anômalo, porém mostrando existência de atividade de fundo de cérebro, no caso de hidrocefalia máxima (GARDEA et al., 1995). No entanto, esta manobra simples que poderia orientar a definição do tipo de anomalia encontrada esvaiu-se em decorrência do óbito prematuro do animal, ainda quando do início da realização do exame clínico.

Assim sendo, recorrendo aos dados da literatura, verificou-se que na hidrocefalia ocorre a formação normal da calota craniana e da cortical cerebral, inclusive a ossificação, sendo a expansão do crânio ocasionada pelo aumento do líquido cefalorraquidiano. No caso em questão, apesar da macrocefalia, observou-se que a calota craniana cedia à palpação e não apresentava ossificação fugindo, portanto, das características essenciais da hidrocefalia.

No que se refere ao revestimento da macrocefalia notou-se que o tegumento estava totalmente desenvolvido e apresentava todos os seus constituintes, principalmente os pêlos; abaixo desta estrutura ectodérmica estava presente também tecido conjuntivo cuja origem é mesodérmica, o que está em concordância com o descrito pela literatura. Isto porque após a neurulação primária, durante a formação do tubo neural e a separação do ectoderma superficial, acontece uma rápida invasão do mesoderma circundante que ocupa o



espaço entre o neuroectoderma \_ agora se constituindo no tubo neural \_ e o ectoderma de revestimento. Durante a neurulação secundária o tubo neural encontra-se recoberto pelo ectoderma de revestimento e, em humanos, entre 24 e 32 dias de gestação, fecha-se na região do neurópodo anterior e o tubo neural começa a apresentar conteúdo líquido que passa a constituir um sistema ventricular primitivo. Este por sua vez gera uma força intraluminal cujo resultado será a formação do cérebro e do sistema ventricular definitivo (PORTILLO, 2004), desta maneira fica estabelecida a porção nervosa, as meninges, o revestimento externo da cabeça e a formação do neurocrânio. Este se desenvolve do mesênquima que envolve o encéfalo, através de ossificação intramembranosa, a partir de centros primários de ossificação (SADLER, 2005).

Baseando-se nestes fatos não se pode dizer que houve uma malformação por migração anormal do tecido mesenquimal que cobre os hemisférios cerebrais, pois segundo Hagen-Ansert (2004) esta migração defeituosa resultaria em ausência parcial ou completa do crânio, com completo desenvolvimento cerebral. No presente caso não houve a formação dos ossos da calota craniana como também não houve formação do cérebro, fatos que se contrapõem ao relatado pela autora.

Também é sabido que as células da crista neural, que surgem da fusão do tubo neural, originam as meninges primárias, as células de Schwann, os primórdios dos nervos ópticos, a bainha destes nervos, gânglios dos pares cranianos e a glândula adrenal. Ao deixar o tubo neural estas células podem seguir dois caminhos: migrar mais dorsalmente ao tubo e constituir os melanócitos da pele ou migrar mais ventralmente e constituir, por exemplo, os gânglios das raízes dorsais. A falta de distensão do tubo neural afeta estruturas do cérebro e produz desorganização da migração neuronal, que por sua vez provoca uma força indutiva sobre o mesoderma originando um espaço aracnoideo, mais espesso e menos permeável

à circulação do líquido cefalorraquidiano. Ainda, estes transtornos do tubo neural originam uma formação desordenada da calota craniana.

Dentro deste mecanismo "em cascata" as alterações não são mais do que o resultado de uma formação alterada das vias de circulação do líquido cefalorraquidiano tanto intracranial (aqueduto de Silvio, forames de Luschka e Mangendie) quanto dos espaços cerebrais (espaço subaracnoideo, onde o LCR é absorvido pelas vilosidades aracnóides).

Pode-se então supor que a ausência do tecido ósseo deva-se à pressão interna ocasionada pela presença de grande quantidade de LCR que teria impossibilitado o estabelecimento de condições favoráveis para formação de centros de ossificação. Pode-se ainda supor que os centros de ossificação se formaram, mas devido as condições desfavoráveis já mencionadas sofreram degeneração. É importante ressaltar que o LCR é secretado pelas células epiteliais dos tufos do plexo coróide, localizado no assoalho ventral dos ventrículos cerebrais e teto do terceiro ventrículo. No humano adulto, normal, é produzido em uma velocidade de 500 ml/dia; como o volume total é de 140 a 150 ml, é renovado a cada 6 horas e é um processo de secreção e filtração (COTRAN; KUMAR; ROBBINS, 1987). Portanto, toda e qualquer alteração no mecanismo de produção, filtração e circulação do LCR podem resultar em alterações encefálicas.

Difícil também, pela falta do tecido ósseo, dizer que houve uma acrania porque está é descrita como malformação aberta, que expõe tecidos encefálicos à ação do líquido amniótico e que por isso deveria ter causado uma anencefalia, uma vez que mesmo sendo a acrania menos freqüente do que a anencefalia, pode ser um precursor embriológico para o desenvolvimento desta (HAGEN-ANSERT, 2004). Talvez pudesse ser compreendida como uma acrania parcial, pois porções mais inferiores (basais) do crânio foram





observadas; porções ligadas ao desenvolvimento do viscerocrânio e que para Kwon e Jeanty (1991) é uma meroacrania pela presença do occipital. Por sua vez, Coelho (2002) descreve que a ausência da caixa craniana é uma acrania e é este conceito que está sendo considerado neste trabalho.

Se o LCR estivesse situado no espaço subaracnóideo seria uma hidrocefalia externa benigna; se estivesse dentro do cérebro seria uma hidrocefalia típica e se não houvesse cortical cerebral seria uma hidranencefalia (COELHO, 2002; SALES LLOPES et al., 2005). Hidranencefalia é uma anormalidade rara, isolada, que acontece em menos de um por 10.000 nascimentos mundiais em humanos (NYBERG, PRETORIUS, 1990). Esta lesão acontece depois que o cérebro e os ventrículos estão formados completamente e a destruição pode ser completa ou parcial, com os hemisférios cerebrais substituídos por fluido coberto pelas meninges. Durante a fase destrutiva, inicial, podem ser vistas massas incomuns de hemorragias e tecido macio (GREENE; BENACERRAF e CRAWFORD, 1975), porém neste caso a lesão já estava em fase avançada e o LCR já se apresentava com sua coloração característica.

Os animais com hidranencefalia apresentam cegueira, decúbito dorsal, coma, crânio em cúpula e braquignatismo. Quando apresentam lesões unilaterais inclinam a cabeça em direção ao lado afetado, midríase ipsilateral e deficiência contralateral ao reflexo à ameaça. Também são descritas deformidades esqueléticas associadas à rígida extensão ou contração de um ou mais membros (artrogripose), costelas anormalmente curvas, crânio em abóboda, espessamento da calvária, cifoescoliose e braquignatismo (GEORGE, 1994). Estas observações corroboram o que foi encontrado neste caso, porém nem todas as alterações estavam presentes. Também, os autores não descrevem lesões faciais e segundo Salles Llopis et al. (2005) é pouco frequente observar dismorfismo

facial na hidranencefalia.

Acontece que as malformações que abrangem a região facial são sempre descritas fazendo parte de holoprosencefalia, que é causada pela falta de divisão do lóbulo frontal para formar os hemisférios cerebrais direito e esquerdo, determinando defeitos no desenvolvimento da face e na estrutura e funcionamento cerebral. Num extremo as malformações cerebrais são tão sérias ao ponto de serem incompatíveis com a vida e quase sempre causam mortes intra-uterinas. No outro extremo, as malformações faciais podem afetar os olhos, o nariz, o lábio superior, sendo que o desenvolvimento do cérebro é normal ou quase normal, podendo ocorrer convulsões ou retardo mental. A malformação facial mais grave é a ciclopia (NINDS, 2005).

O descrito difere dos nossos achados com relação ao excesso de LCR encontrado, muito embora as deformidades faciais presentes tenham relação. Entretanto analisando o animal em questão encontrou-se o terço superior da face preenchido por LCR e a cúpula atingindo até a frente da região que deveria estar situada a base do nariz, o que leva a interpretar que os mesmos fatores que influenciaram a ausência óssea da calota craniana interferiram para a não formação da região do terço superior da face e abalaram a formação do terço médio; porém a destruição cerebral não estava apenas ao nível da porção lobular frontal nas sim na quase ausência de tecido nervoso encefálico.

Com a ausência da maior porção cerebral ou sua totalidade, o correto seria que a cabeça se apresentasse pequena, porém quase sempre esta tem diâmetro normal ou aumentado em tamanho porque o plexo coróide continua produzindo o líquido cefalorraquidiano (LCR) que não é absorvido adequadamente. Isto causa um aumento da pressão que pode ampliar a cabeça pelo o manto cerebral (KURTZ; JOHNNON, 1999). Acredita-se que estes "sacos" contendo grande quantidade



de LCR possam ter pesado sobre as demais estruturas embrionárias e dificultado a migração celular para a área da face determinando malformações não somente no terço superior da face como também no terço médio. No lado mais afetado apareceu fenda nasal parcial, falta de formação óssea da órbita direita, deslocamento posterior da mesma, campilognatismo lateral direito.

Com relação à etiologia da lesão sabe-se que a hidranencefalia é um defeito que se origina depois da neurulação e consiste na ausência total ou quase total do cérebro, porém a abóbada e as meninges craniais permanecem intactas e a cavidade intracranial está cheia de LCR. Em geral observa-se um crescimento progressivo do perímetro cranial, podendo também o tamanho da cabeça ser normal, sobretudo no momento do nascimento; ocasionalmente pode apresentar macrocefalia e é pouco freqüente o dismorfismo facial (SALES LLOPES, 2005). Segundo Stevens e Lowe (2002) uma necrose cerebral pode produzir uma gliose cística que abrange a ulegéria, a porencefalia e necrose da substância branca nos hemisférios cerebrais que se denomina leucomalácia periventricular. Como a forma mais agressiva de porencefalia é a hidranencefalia acredita-se que, por extensão, a necrose pode desencadear esta última. A descrição destes autores fala a favor de que a possível etiopatogenia das malformações descritas no presente trabalho possam ter relação com fatores desencadeantes de necrose cerebral seguida de gliose cística já que no presente caso ocorreu grande aumento da cabeça, representado pelo aumento do perímetro cefálico o qual se intensificou após o nascimento do animal.

No entanto, para alguns autores a patogênese da hidrocefalia é um acidente vascular, porém isto nem sempre pode ser confirmado uma vez que não é sempre que as artérias carótidas internas estão ocluídas (FILLY, 1994). Para outros a atribuição da mesma está ligada às infecções intra-uterinas, particularmente a toxoplasmose e infecções viróticas causadas pelo enterovírus,

adenovírus, parvovírus, citomegalovírus, herpes simples e pelo Epstein-Barr, além das exposições tóxicas e abuso de cocaína e, a hidranencefalia, também foi descrita fazendo parte de síndromes raras (HOYME, HIGGINBOTTOM; JONES, 1981; RAIS-BAHRAMI; NAQVI, 1990). Ainda, foi descrita hidranencefalia em gravidez com gêmeos monocoriais (RAIS-BAHRAMI; NAQVI, 1990).

Também se encontra na literatura que a hidranencefalia em ambos os hemisférios do cérebro são "sacos" repletos de líquido, ocorrem em caprinos, cordeiros e bezerras, como lesão subsequente à infecção intra-uterina com o vírus Akabane (STORTS, 1998). Contudo, uma nova síndrome descrita em cordeiros Corriedale australianos envolveu hidranencefalia e esta foi atribuída a uma homozigose de um traço recessivo simples (LEIPOLD; HORST; WOOLLEN, 1994), condições que não podem ser desprezadas na etiopatogenia do caso relatado.

Num estudo retrospectivo em 6021 necrópsias bovinas, realizadas em um período de 36 anos no sul do Brasil, Sanches et al. (2000) encontraram 305 animais com alterações congênitas do sistema nervoso central, porém apenas um caso de porencefalia que em sua amostragem significou 0,33%. Os animais com malformação do SNC nascem mortos ou muito fracos e quando isso acontece morrem logo após o nascimento e para Noronha et al. (2000) o período neonatal corresponde à fase crítica, com maior densidade de óbitos, sugerindo que o ambiente intra-uterino pode desempenhar um papel protetor para os indivíduos com malformação do SNC. Estas informações demonstram que as malformações referidas no presente caso enquadram-se nas premissas de ambos os autores citados e reforçam a raridade de tais achados.

Entretanto, embora citando algumas das causas que podem ter levado ao aparecimento da lesão, não se tem aqui a intenção discuti-las e indepen-





dente de suas causas a hidranencefalia clássica é a substituição completa dos hemisférios cerebrais pelo LCR onde normalmente são poupados o tálamo e o cerebelo e, ainda, segundo Wheeler et al. (1991) são preservadas porções basais do frontal, do temporal e também, às vezes, são preservados os lóbulos do occipital dependendo das variações provisionais sanguíneas do fluxo da artéria basilar do temporal.

Se de um lado as alterações cerebrais levam a se pensar em hidranencefalia, por outro as alterações faciais tendem a se considerar como parte de uma holoprosencefalia, porém a posição dos olhos põe por terra este último aspecto por ser encontrado até mais afastados do que o normal para a anatomia deste animal.

Os achados relatados no presente caso são por demais complexos para serem explicados com base em uma única teoria, tudo levando a crer tratar-se da associação de múltiplos fatores que culminaram a malformação relatada.

## Referências

BASKAR, S.N. **Histologia e embriologia oral de Orban**. 10.ed., São Paulo: Artes Médicas, p. 1-25, 1989.

BASTOS, C.M. Lesiones hipoxi-isquémicas del sistema nervioso central en el período perinatal. **Rev. Española Patología**, vol. 35, 2002. Disponível em: <http://www.pagmachine.es/revpatologia/Index.html>. Acesso em 03 fevereiro 2005.

BRASILEIRO FILHO, G.; PITTELLA, J.E.H.; PEREIRA, F.E.L.; BAMBIRRA, E.A. BARBOSA, A.J.A. **Bogliolo. Patologia**. 5. ed., Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, p 734, 1994.

BURKE, C.J. TANNERBERG, A.E. Prenatal brain damage and placental infarction. An autopsy

study. **Developmental Medicine and Child Neurology**, 37:555-62, 1995.

COELHO, H.E. **Patologia Veterinária**. Barueri: Manole, p. 160, 2002.

COTRAN, R.S., KUMAR, V.; ROBBINS, S.L. **Robbins. Patologia Estrutural e Funcional**, 5. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, p. 148-149, 1996.

Espanha. NINDS. National Institute of Neurological Disorders and Stroke. *Los trastornos encefálicos*. Publicación de NIH 04-4339s. Disponível em: <http://www.ninds.nih.gov/disorders/spanish>. Acesso em 14 março 2005.

FILLY, R. A. Ultrasound evaluation of the fetal neural axis. 1994. In KURTZ, A.B.; JOHNNON, P.T. Case 7: Hydranencephaly. **Radiology**, 210:419-422, 1999.

GARDEA, L.G.; GORDILLO, D.F.; GONZÁLES, P.F. Aspectos de neuroimagen y comportamiento eletrofisiológico de la hidranencefalia. Informe de un caso. **Rev. Med. Hosp. Gen. Mex.**, 58:41-45, 1995.

GEORGE, L.W. Moléstia do sistema nervosa. In: SMITH, B.P. **Tratado de medicina veterinária interna de grande animais: moléstias de equinos, bovinos, avinos e caprinos**. São Paulo: Manole, v. 2, p. 951-953, 1994.

GREENE, M.F.; BENACERRAF, B.; CRAWFORD, J.M. Hydranencephaly: US appearance during in utero evolution. **Radiology**, 156:779-80, 1975.

HAGEN-ANSERT, S. Evaluación por ultrasonido de la cabeza fetal. Disponível em: <http://www.gehealthcare.com/helpcenter.html>. Acesso em 10 de agosto 2004.

HOYME, H. E.; HIGGINBOTTOM, M.C.;



- JONES, K. L. Vascular etiology of disruptive structural defects in monozygotic twins. **Pediatrics**, 67: 288-91, 1981.
- KATCHBURIAN, E; ARANA, V. **Histologia e embriologia oral. Texto – Atlas – Correlações clínicas**. 2. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, p. 10-15, 2004.
- KWON, T-H; JEANTY, P. Acrania: review of 13 cases. Disponível em: <http://www.thefetus.net/>. Acesso em 12 outubro 2005.
- KURTZ, A.B.; JOHNNON, P.T. Case 7: Hydranencephaly. **Radiology**, 210:419-422, 1999.
- LEIPOLD, H.W.; WOOLLEN, N.E.; SAPERSTEIN, G. Defeitos congênitos em ruminantes. In. SMITH, B.P.. **Tratado de medicina veterinária interna de grande animais: moléstias de equinos, bovinos, avinos e caprinos**. São Paulo: Manole, v. 2, 1994.
- NORONHA, L.; MEDEIROS, F.; MARTINS, V.D.M; SAMPAIO, G.A.; SERAPIÃO, M. J.; KASTIN, G; TORRES, L.F.B. Malformações do sistema nervoso central. Análise de 157 necrópsias pediátricas. **Arq. Neuro-Psiquiatr.** 58: 890-96, 2000.
- NYBERG, D.A.; PRETORIUS, D.H. Cerebral malformation. 1990. **Apud** KURTZ, A.B.; JOHNSON, P.T. Case 7: Hydranencephaly. **Radiology**, 210:419-422, 1999.
- PÉREZ MIES, B.; MORALES, C.; ESTEBEN, I; PÉREZ, A.P.; MARTINEZ, M.; RODRÍGUEZ, J.I. Neuropatología del recién nacido pretérmino: revisión de 417 autopsias. **Neurología**, 14:142-143, 1999.
- PÉREZ MIES, B.; MORALES, C.; ESTEBEN, I; RODRÍGUEZ, J.I. Neuropatología del recién nacido pretérmino en las gestaciones múltiples: revisión de 74 autopsias. **Neurología**, 15:588, 2000.
- PORTILLO, S. Deformidad craneana. Su importancia en la pediatría general. **Arch. Argent. Pediatr.**, 102:190-213, 2004.
- RAIS-BAHRAMI, K; NAQVI, M. Hydranencephaly and maternal cocaine use: a case report. **Clin Pediatric**, 29:729-30, 1990.
- ROTTA, N.T. Paralisia cerebral, novas perspectivas terapêuticas. **J. Pediatr**, 78:48-54, 2002.
- SADLER, T.W. **Langman. Embriologia Médica**. 9. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, p. 99-112, 2005.
- SALES-LIOPIS, J.; NIETO NAVARRO, J.; BOTELLA ASUNCIÓN, A.C. Hidrocefalia. 2005. Disponível em: [www.neurocirurgia.com/hidrocefalia/hidrocefalia/htm](http://www.neurocirurgia.com/hidrocefalia/hidrocefalia/htm). Acesso em 03 setembro 2005.
- SANCHES, A.W.D.; LANGOHR, I.M. ; STIGGER, A.L ; BARROS, C.S.L. Doenças do sistema nervoso central em bovinos no sul do Brasil. **Pesq. Vet. Bras.** , 20: 113-18, 2000.
- STARK, R.B.; EHRMANN, N.A. The developmental of the center of the face with particular reference to surgical correction of bilateral cleft lip. **Palst. Reconstr. Surg.** 21:177-81, 1958.
- STEVENS, A; LOWE, J. **Patologia**. 2. ed. Barueri: Manole, p.458, 2002.
- STORTS, R.W. Sistema nervoso central. In CALTON, W.W., McGAVIN, M.D. **Patologia Veterinária Especial de Thomson**. 2. ed. Porto Alegre: ArtMed, p. 357-360, 1998.
- WEELER, T.C.; DAO, A.; JEANT, P. Hydranencephaly. 1991. Disponível em: <http://www.thefetus.net>. Acesso em 28 setembro 2005.





## Métodos alternativos na Odontologia: visão global do paciente.

*Alternative Methods in Dentistry: global vision of the patient.*

Wanilda Maria Meira Costa Borghi  
Cirurgiã Dentista - UNESP.

Nemre Adas Saliba  
Professora Titular em Odontologia Preventiva e Social - Araçatuba - UNESP.

Giancarlo Baggio Parisoto  
Mestre em Odontologia Preventiva e Social Araçatuba - UNESP e professor na FAL.

Tânia Adas Saliba  
Professora Doutora - Piracicaba - UNICAMP e professora na FAL.

### Resumo

Vários métodos alternativos podem aliar-se ao tratamento odontológico convencional. O objetivo deste trabalho, por meio de pesquisa bibliográfica, foi avaliar o papel de alguns deles: Biocibernética Bucal, Homeopatia e Terapia Floral que, fundamentadas na Energia Vital, cuidam das emoções, evitando e tratando doenças inclusive bucais. A Biocibernética Bucal considera o homem como o microcosmo dentro do macrocosmo. Para a Homeopatia, a verdadeira cura vem do interior e é consequência do amor. A Terapia Floral, embora com poucas evidências científicas, é aceita pela Organização Mundial de Saúde e considerada verdadeira 'vacina energética'. Conclui-se que as Terapias Holísticas, além de estarem ao alcance individual e coletivo, são excelentes alternativas, porque deixam o paciente mais harmonizado, auto-motivado à sua higiene e mais cooperador ao tratamento odontológico convencional.

### Palavras-chave

saúde holística - terapias alternativas - homeopatia - medicamentos florais.

### Abstract

Several alternative methods can be allied to the conventional dentistry. The objective of this article, aimed through bibliographic research, was to value the role of some of these methods: Oral Biocibernetics, Homeopathy, and Floral Therapy, which grounded on the Vital Energy, take care of the emotions, avoiding and healing diseases including the oral ones. The Oral Biocibernetics, considers the human being as the microcosmo inside the macrocosmo. For the Homeopathy, the real healing comes from the inside, and is a consequence of love. The Floral Therapies, although with little available evidences, are accepted by the World Health Organization (WHO) and considered real 'energy vaccines'. It concludes that the Holistic Therapies, besides being at the individual and collective reach, are excellent for they leave the patient more harmonized, self-motivated to his hygiene and more cooperative with the conventional odontological treatment.

### Key-words

holism health - alternatives therapies - homeopathy - floral drugs.



## Introdução

A Odontologia e a Era da Sutileza...

Holismo e Odontologia: Atendimento Global do Paciente

Holismo, do grego, hólou, significa inteiro, completo. A saúde, sob o prisma holístico, deve ser encarada nos três níveis interdependentes: o ecológico, o social e o individual; esse último, visando ao restabelecimento do organismo como um todo: sentimento (religiosidade), pensamento (filosofia de vida) e prática (ação). (SGRINHELLI; COELHO, 1998).

A Homeopatia, a Medicina Chinesa e outras correntes utilizam-se de terapias energéticas para o re-equilíbrio orgânico, baseando-se na Física, que diz, serem todas as formas de matéria, manifestações de energia. Segundo aquelas terapias, os seres podem ser vistos, a partir de sua anatomia energética sutil. O organismo, sistema energético dinâmico, seria formado por outros campos de energia ou corpos: emocional, mental, astral, etérico padrão, celestial e causal, que influenciariam o corpo físico. (BONTEMPO, 1994).

## Proposição

Esta pesquisa teve por objetivo, levantar trabalhos de atenção holística ao paciente odontológico, especificamente em Homeopatia, Terapia Floral e Biocibemética Bucal; terapias que, entre outras, contribuem para o diferencial clínico em nossa época.

“Hipócrates é o pai da Medicina Holística: tudo que Hahnemann, Bach e outros praticaram, já existia antes deles...”.

## Revisão de literatura

Novos Olhares sobre Antigas Práticas

“A Hahnemann, todas as honras, por ter antecipado a ciência em mais de um século”.  
(Edward Bach)

## Homeopatia

O princípio básico da Homeopatia surgiu na Antiguidade, a partir da máxima ‘**os semelhantes curam os semelhantes**’, atribuída a **Hipócrates**. A Homeopatia do Grego homoiou (semelhante), pathos (dor, sofrimento); surgiu em 1796 com o médico alemão Cristian Federico Samuel Hahnemann (1755 - 1843). Segundo ele, “no estado de saúde, a **Energia Vital**, soberana, imaterial - DYNAMIS - que anima a parte material do corpo humano (organismo), reina de maneira absoluta, mantendo uma harmonia que provoca admiração. O espírito, dotado de razão, que habita neste organismo, pode assim livremente servir-se deste instrumento vivente e são, para alcançar o fim elevado de sua existência”. (EIZAYAGA, 1972).

Para a Homeopatia, a enfermidade ocorre da mente ao soma (centripetamente) e sua única causa é o desequilíbrio (desarmonia) da **Força Vital**, que só se faz reconhecer, através de seus efeitos no organismo. A **primeira etapa da enfermidade**, também chamada **etapa de saída**, é caracterizada apenas por *sintomas da esfera afetivo-emotiva*.

O ideal é que o paciente seja tratado nesta fase, para que o equilíbrio perdido seja restabelecido. Caso contrário atinge-se a **segunda etapa**, em que o estado geral já é englobado pelo mal. É a **somatização** e os *sintomas são afetivo-emotivo e gerais*. Na **terceira etapa**, além, dos sintomas da fase anterior, aparecem os **sintomas locais: manifestações anátomo-clínicas**. Nesta fase é que a Alopátia (termo também criado por Hahnemann) inicia o tratamento, já na fase final do processo. “É a cinza depois do incêndio, como por exemplo, quando se forma um tumor maligno”.





no: já de muito antes, se vem gestando, em diferentes etapas vitais, a perturbação dinâmica que arremata no tumor". Em todo o processo patológico, existe uma luta entre o hospedeiro, terreno e o agente patógeno. No final, ou o organismo consegue se defender; ou vence o agressor; ou há empate, ou melhor, o organismo, apesar de continuar vivo, não está são; está enfermo. Esta tentativa de eliminar a enfermidade, acontece de dentro para fora, obedecendo à hierarquia dos órgãos: dos mais vitais, aos de menor importância, como as mucosas e a pele, que são os pontos em contato com o exterior, por onde se dá a descarga mórbida. O processo patológico difere do fisiológico, na quantidade e não na qualidade. É, portanto, um exagero das funções normais. Para que haja a cura de uma enfermidade dinâmica, é preciso que ela seja substituída por outra enfermidade artificial e mais forte, medicamentosa, que seja o mais semelhante possível aos sintomas da enfermidade natural. A cura advém não do medicamento, mas da reação vital por ele provocada. (EIZAYAGA, 1972).

A Homeopatia, foi introduzida no Brasil, por volta de 1840, pelo médico francês Benoit Jules Mure e foi oficializada como especialidade médica em 1979. (PEDRO et al., 2001).

### Homeopatia e Odontologia

A compreensão dos quatro princípios: experimentação no homem são, cura pelo semelhante, doses infinitesimais e remédio único permitirá ao cirurgião-dentista o uso da Homeopatia em sua área de atuação. Os Cirurgiões-Dentistas homeopatas ainda são poucos, mas já existe um movimento para que seja reconhecida esta prática junto ao CFO, como aconteceu com a Medicina Veterinária e Farmácia. (SEIXAS, 2005).

### Biocibernética Bucal

Bio (vida), cibernética (ciência que estuda as re-

lações, as comunicações), a Biocibernética Bucal (o diagnóstico através dos dentes), nasceu em 1960, em Araçatuba, com os dentistas Mauro Baldani e Denisard Figueiredo. Teve seu ápice na década de 70 e objetiva uma abordagem globalizante do indivíduo. (SÁ, 1985). Reapareceu sob o nome de Odontologia Sistêmica em 1986. É também chamada Odontologia Holística. (SAMPAIO, 1994).

"Olhando além do céu da boca..."

Para a biocibernética, as funções dos dentes (mastigação, fonética e estética) são conseqüências de outras, consideradas principais: respiração (a mais importante), bioquímica e postura esquelética. O espaço interno da boca: lateralidade, altura (dimensão vertical) e profundidade (dimensão antero-posterior), ganha uma quarta dimensão: o vazio ou espaço problema. Os dentes trabalham como colunas que sustentam o espaço para a língua e permitem uma respiração mais saudável. Quanto maior for essa estrutura, maior o volume de oxigênio. Toda vez que houver deficiência no crescimento bucal, o espaço lingual se reduz, assim como o volume de entrada de ar; gerando sintomas (doenças), que vão desde ronco, apnéia, bronquite, rinite, distúrbios do sono; a dores de cabeça, alterações neurológicas; disfunções esqueléticas: prognatismo, escoliose, lordose; disfunções bioquímicas ou digestivas: queda de cabelo, artrite, cárie, periodontite etc. (FURLAN; SANTOS, 2002).

### Terapia Floral

A Terapia Floral foi descoberta em maio de 1930, por Edward Bach (1886 - 1936), que conheceu e converteu-se à Homeopatia, interessado em descobrir um método alternativo para aplicar suas vacinas: Os Sete Nosódios de Bach. (BONTEMPO, 1994).

Bach percebeu que a doença só ocorre se estivermos em desarmonia com nossa verdadeira natureza, nosso Eu Superior, altruísta e



prestativo e que esta desarmonia é causada por estados negativos da mente (medo, ansiedade etc.). Para tratar cada um destes estados, criou a partir de uma planta ou flor, diferentes remédios: o floral. As essências florais são o resultado da transferência da energia vital das plantas e flores para a água, sob a luz do sol. (BONTEMPO, 1994).

Os Florais de Bach são em número de trinta e oito, além do Rescue, o remédio da emergência. O Rescue é a combinação de cinco florais: Impatiens, Star of Bethlehem, Cherry Plum, Rock Rose e Clematis. O Rescue é indicado para ajudar no equilíbrio das emoções em tempos de pressão e trauma, ou simplesmente em situações de mudança emocional, quando se está precisando de um pouco de conforto e segurança, ajuda a restaurar uma visão mais positiva. (BONTEMPO, 1994).

Atualmente existem outros florais: Florais da Califórnia, Florais da Austrália, Florais do Alasca, Florais do Pacífico, Florais da Amazônia, Florais de Minas etc.

### Florais na Odontologia

Existem flores que tratam do nosso emocional, evitando doenças que fariam parte de nossas vidas, inclusive aftas e gengivites.

Mantle (1997), Howard (1998), Van Haselen (1999), Walach et al. (2001), Ernst (2002), Moraes (2002), entre outros autores estudaram florais na área odontológica.

### Discussão

É cada vez maior o número de pessoas que procuram por dentistas que associem à Odontologia, técnicas da medicina holística, como a Biocibernética bucal, a Homeopatia e outras prá-

ticas que buscam equilibrar a energia do indivíduo e eliminar as causas das desordens que acabam se refletindo na boca.

Vários trabalhos avaliam técnicas de tratamento não convencionais, ligados à Odontologia: Bontempo (1994), Coulter et al. (1994), Freeman (1997), Heyden (1998), Howard (1998), Jacobsen & Cohan (1998), Karimi (1999), Ocasio et al. (1999), Corrigan et al. (2001), Long et al. (2001), Walach et al. (2001), Weinstein (2001), Axtetius et al. (2002), Ernst (2002), Moraes (2002), Roslindo et al. (2003).

Heyden (1998) em estudo do perfil da saúde de idosos, na Suécia, verificou que em geral, a saúde é largamente dependente do meio ambiente e a saúde bucal pode ser o espelho da saúde geral. Corrigan et al. (2001) realizaram pesquisa para avaliar os conceitos de saúde geral e bucal, em 95 pessoas de diferentes grupos étnicos e sociais. Os resultados foram separados em dois grupos: para o primeiro grupo, aqueles conceitos são separados, porém relacionados. Para o segundo grupo, os dois conceitos são inseparáveis aspectos de uma única dimensão, relacionada a fatores culturais, em que a qualidade de vida é indispensável para a promoção de saúde bucal.

Para Bontempo (1994), uma parte do organismo, por menor que seja, só adoece se em conformidade com o todo, da mesma forma, só se pode ter uma boa saúde bucal se a saúde global estiver em bom estado, dentro de um contexto sócio-econômico-cultural satisfatório. Em estudo realizado por Freeman (1997), o triângulo da saúde, composto pelas dimensões física, psicológica e social, deve ser respeitado tanto no tratamento preventivo, quanto restaurador, conforme as necessidades do paciente.

Axtetius et al. (2002) verificaram que o stress afeta a saúde geral, que por sua vez, repercute na saúde bucal. Weinstein (2001) evidencia a relação entre doenças dental e sistêmica e faz alerta





para que sejam identificados os fatores estressantes, de modo mais efetivo.

Estudo de Coulter (1994), para a obtenção do estado de saúde bucal, relatam que, mais recentemente, teorias holísticas sobre doenças bucais, vêm propondo a mudança do foco de atenção ao paciente, para que ao enfoque objetivo, seja adaptado o enfoque subjetivo; porque a relação saúde geral e saúde bucal, está sendo insuficiente e pelos registros encontrados, estes métodos são considerados ainda em construção. Também Ocasio et al. (1999) discutem o papel da homeopatia e outras abordagens holísticas para o restabelecimento da saúde bucal, considerando-as como um guia de auto-cuidados sobre remédios facilmente disponíveis à população, por serem poucos os estudos clínicos e, ainda, pequeno o conhecimento dos benefícios ou malefícios subsequentes à sua ingestão.

Para Jacobsen & Cohan (1998), a área alternativa, complementar ou holística, está crescendo na Medicina e na Odontologia. É grande o número de produtos dentais "alternativos" comercializados, que muitos dentistas recomendam e muitos pacientes usam. São confeccionados com ingredientes naturais, produtos herbáreos homeopáticos e produtos sintéticos alternativos, cujo uso requer, além de base científica segura e eficaz, conhecimento sobre a real necessidade do paciente, para que a indicação do medicamento alternativo, seja adequada e o tratamento eficaz.

Long et al. (2001) realizaram pesquisa sobre os benefícios da medicina complementar alternativa e concluíram que os profissionais devem orientar os pacientes interessados em fazer uso delas.

Karimi (1999) observou que o crescente interesse da população pelas práticas inovadoras recomendadas pela terapia holística, apontam-na como uma alternativa para a terapêutica tradicional, mas

reconhece a necessidade de maiores pesquisas na área holística odontológica.

## Homeopatia

A Homeopatia procura respeitar o homem como um ser único considerando o **doente** no que ele apresenta de mais característico, ímpar, o que é propriamente dele, a identidade do próprio ser, portanto "**do-ente**". A Homeopatia, ao propor essa metodologia individualizante, preocupa-se em identificar no **sujeito**, seu modo, o seu íntimo, o "**seu-jeito**" de adoecer, indispensável para o tratamento e a cura. (QUEVEDO, 2003). O tratamento odontológico, por ser geralmente prolongado, facilita a atuação da Homeopatia: enquanto uma consulta comum, tem em média 30 minutos, a consulta odontológica homeopática leva de 60 a 90 minutos para traçar o perfil psicológico do paciente. Atualmente a Homeopatia tem despertado grande interesse, sobretudo pelo fato de que o modelo de saúde atual é mercantilizado, especialista, tecnológico e marcado por terapêuticas invasivas e às vezes iatrogênicas. (MARIA; DREHMER, 2002). A Homeopatia possui medicamentos atóxicos, sem efeitos colaterais, de baixo custo e compatíveis à realidade social brasileira. O medicamento homeopático é derivado de substâncias existentes na natureza, de origem animal, vegetal ou mineral. (MAGALHÃES, 2005). Os medicamentos são diluídos e dinamizados: agitados de forma a liberarem energia. Como a energia interna dos seres é suscetível a outras formas de energia, o remédio homeopático irá estimular a energia vital do paciente no sentido da cura. A Homeopatia é um excelente recurso terapêutico na área odontológica. Além das 'bolinhas', pós e líquidos, o CD homeopata pode utilizar também os nosódios: bioterápicos preparados a partir da análise da cultura de uma secreção do paciente; muito úteis nas periodontias. (PEDRO et al., 2001; SEIXAS, 2005).

Roslindo et al. (2003) mostraram que o



symphytum officinale (confrey), na potência de 6 CH (Escala centesimal de diluição e dinamização), possui propriedades biológicas e terapêuticas no processo de reparo em feridas, acelerando a neoformação óssea após a extração dentária em camundongos. O medicamento foi administrado por via oral, durante cinco dias antes da extração do incisivo superior direito, na posologia de duas gotas, três vezes ao dia. Os autores concluíram que o medicamento homeopático pode ser opção em ato cirúrgico odontológico, desde que o profissional tenha conhecimento sobre sua dosagem e tipo de administração para humanos.

A Homeopatia pode tratar o medo de dentista, ansiedade e náuseas; agindo também nas disordens bucais de origem sistêmica: herpes, sinusite, halitose e glossite. É útil nos casos de implantes, perdas ósseas, nevralgia, periodontia e clínica geral. Também no pré e pós-operatório, evitando sangramentos, dores e melhorando a cicatrização (PEDRO et al., 2001; SEIXAS, 2005).

### **Biocibernética Bucal**

A Biocibernética Bucal pode ser um método auxiliar para pacientes em tratamento homeopático, pois encara o homem como um microcosmo dentro do macrocosmo e os dentes como meridianos energéticos. Admite que a boca é um indicador do estado de saúde do corpo e que, os procedimentos nela realizados, interferem na integridade física e mental do indivíduo. Dentro da boca, está a causa de noventa por cento das doenças que atingem os sistemas respiratório, neurológico, esquelético (prognatismo), digestório: periodontites e cáries que segundo a Biocibernética são o resultado, não da placa bacteriana (biofilme dental), mas de um estado tensional do indivíduo, em relação direta entre o dente atingido e o problema originador: relacionamento familiar, social, problemas estomacais. (SAMPAIO, 1994).

Para os dentistas cibernetas, cada dente espelha um sistema biológico: os incisivos centrais, repre-

sentam o sistema nervoso e a estrutura básica da personalidade; os laterais, os órgãos dos sentidos e o relacionamento com o mundo; os caninos, o sistema circulatório e o amor: ataque / defesa; os primeiros pré – molares, o sistema excretor e a segurança (afetiva, familiar, social); os segundos pré-molares, o sistema respiratório e a estabilidade emotiva; os primeiros molares, o sistema digestivo e a vitalidade; os segundos molares, o sistema reprodutor e os hormônios; e os terceiros molares, a complementação da personalidade. Esses conceitos, segundo aqueles dentistas necessitam de comprovação científica, embora, a margem de erros seja mínima. (SÁ, 1985). "A Odontologia sistêmica está crescendo e é aceita pela ABO como atividade científica". (ODONTOLOGIA, 2005).

### **Terapia Floral**

Segundo Ernst (2002), os Florais de Bach, são um tipo de medicação alternativa, com o propósito de auto ajuda em que um crescente número de indivíduos obtiveram benefício em relação à saúde, porém, a hipótese de que o remédio floral está associado com os efeitos além do grupo placebo, não é apoiada pelos dados da rigorosa triagem clínica. Também Walach et al. (2001) realizaram estudos com florais de Bach e ansiedade e não observaram efeito positivo significativo.

Howard (1998) verificou que os que necessitavam de alguma ajuda emocional e atenção: pacientes ansiosos, depressivos, presos às suas lembranças; após o uso dos florais, se libertavam. Transformavam-se em novas pessoas. Estudo de Mantle (1997) confirma serem os Florais de Bach, indicados em dosagens homeopáticas, para o tratamento da saúde emocional; seguros além de não interferirem com outra medicação.

A terapia floral é um excelente preventivo em todas as doenças crônicas, mentais, emocionais e físicas, elevando a natureza humana. Não há o





menor risco de algum efeito prejudicial ou conflitante em qualquer circunstância, porque como as essências florais trabalham no nível da consciência, sua atuação se auto-ajusta. Embora seja escassa a literatura sistemática sobre florais, a "Homeopatia Floral" é considerada uma verdadeira "vacina energética".

Van Haselen (1999) explorou a relação entre Homeopatia e florais de Bach e concluiu que embora sendo claramente diferentes podem ser associadas, num papel insuficientemente reconhecido.

Os florais, em ressonância com vibrações sutis, aceleram processos de transformação da consciência, despertando talentos e virtudes latentes. Quando a essência floral está atuando e trazendo para a consciência as emoções subjacentes à doença, pode haver uma exacerbação dos sintomas, sejam físicos ou emocionais, que é a chamada 'crise de cura'.

O Rescue é indicado como socorro imediato em situações do dia-a-dia, como a ida ao dentista. Segundo Monari (1995), o paciente que tem pânico de ir ao dentista, deve tomar Rescue na véspera e no dia do atendimento. Ao paciente infantil, principalmente, o Rescue pode ser ministrado na sala de espera, para que melhor coopere com o tratamento. Durante atos cirúrgicos odontológicos, recomenda que se vá pingando o Rescue, na boca do paciente, para diminuir o sangramento e tranquilizá-lo.

No pós-cirúrgico, o Rescue ajuda na cicatrização e antes da cirurgia, seu uso é indicado para deixar os pacientes mais calmos e relaxados. (MONARI, 1995).

Morais (2002) obteve resultados positivos com a abordagem terapêutica floral, na Odontologia. Realizou estudo apresentando dois casos clínicos, ambos de pacientes com medo do tratamento dentário. Ministrou florais de Bach por um período de quinze dias, anterior aos procedimentos odontológicos, na tentativa de harmonizar os pa-

cientes e deixá-los mais cooperativos ao tratamento. Concluiu que a terapia com florais foi bastante válida, pois os pacientes vieram por sua própria vontade ao consultório, onde fizeram tratamentos diversos, inclusive procedimentos cirúrgicos, mostrando-se tranqüilos.

Os florais ainda não obtiveram reconhecimento científico de órgãos oficiais de saúde.

*"Que a simplicidade deste método não desencoraje sua utilização..."*

(Edward Bach.)

## Conclusão

Embora na literatura odontológica, existam ainda poucos trabalhos relacionados às abordagens holísticas, devido ao seu enfoque às emoções, raízes das enfermidades, poderão estas ser de grande valia na promoção de saúde, aliados à abordagem tradicional.

Os profissionais da Odontologia, associando ao tratamento convencional, as terapias alternativas, podem ir além da complexidade clínica e causal das doenças bucais, oferecendo não somente tratamento curativo, mas saúde ao paciente. Através delas, será possível uma maior cooperação dos pacientes, devido ao conforto e harmonização a que esses métodos não ortodoxos se propõem, fazendo com que os tratamentos odontológicos sejam mais eficazes.

## Referências

AXTETIUS, B.; SODERFELDT, B.; BRING, G. Self assessments of general and oral health in persons with chronic whiplash-related disorders. **Community Dent. Health**, 19: 32-8, 2002.

BONTEMPO, M. **Medicina floral**. Rio de Janeiro: Ediouro, 1994.



CORRIGAN, M.; NEWTON, J. T.; GIBBONS, D. E.; LOCKER, D. The mouth-body split: conceptual models of oral health and their relationship to general health among ethnic minorities in South Thames Health Region. **Community Dent Health**, 18:42-6, 2001.

COULTER, I. D.; MARCUS, M.; ATCHINSON, K. A. Measuring oral health status: Theoretical and methodological challenges. **Soc. Sci. Med.**, 38:1531-41, 1994.

EIZAYAGA, F. X. **Tratado de medicina homeopática**. Buenos Aires: Marecel, 319p. 1972.

ERNSTE, "Flower remedies": a systematic review of the clinical evidence. **Wien Klin Wochenschr**, 114:23-24 p. 963-6, dez. 2002.

FREEMAN, R. - The triangle of health. 1: the clinical arena. **Dent. Update**, 24:61-3, 1997.

FURLAN, E.; SANTOS, R. P. **Biocibernética bucal**. São Paulo: Madras, 2002.

HEYDEN, G. Health profile of the ageing population: the Swedish experience. **Int. Dent. J.** 48:167 - 72, 1998.

HOWARD J. Bach flower remedies: A personal commentary on the work of Dr Edward Bach. **Complement Ther Nurs Midwifery**, 4:148-9, 1998.

KARIMI, K. The impact of current alternative herbal remedies on dental patient management. **Gen. Dent.**, 47:264-6, 1999.

JACOBSEN, P.L.; COHAN, R.P. Alternative dental products. **J. Calif. Dent. Assoc.**, 26:191-8, 1998.

LONG, L.; HUNTLEY, A.; ERNST, E. Which complementary and alternative therapies benefit which conditions? A survey of the opinions of 223

professional organizations. **Complement Ther Med.** 9:p.178-85, 2001.

MAGALHÃES, T. R. A homeopatia na odontologia. Disponível em: <<http://www.powerline.com.br/~neisavet/homeopatiaodontologica>>. Acesso em 25 jul. 2005.

MANTLE, F. - Bach flower remedies. **Complement Ther Nurs Midwifery**, 3:142-4, 1997.

MARIA, J. D.; S.; DREHMER, T. M. Homeopatia na Odontologia: uma terapêutica possível. In: Congresso Brasileiro de Saúde Bucal Coletiva. Porto Alegre. **Rev. Bras. Odontol. Saúde Coletiva**, supl. esp. Porto Alegre, p.52, 2002.

MONARI, C. **Participando da vida com os florais de Bach. Uma visão mitológica e prática**. Campinas: Roca, 1995.

MORAIS, E. O uso de florais para pacientes odontológicos: estudo de casos. In: Congresso Brasileiro de Saúde Bucal Coletiva. Porto Alegre. **Rev. Bras. Odontol. Saúde Coletiva**, supl. esp. Porto Alegre, p.113, 2002.

OCASIO, N. A.; SOLOMOWITZ, B. H.; SHER, M. R. Natural remedies recommended for the management of oral health. **N.Y. State Dent. J.**, 65:22-4, 1999.

ODONTOLOGIA sistêmica trata problemas no corpo a partir da boca. Disponível em: <[http://www.guiadonto.com.br/ver\\_artigo.asp?codigo=37](http://www.guiadonto.com.br/ver_artigo.asp?codigo=37)>. Acesso em 27 jul. 2005.

PEDRO, M. J. C.; BARBOSA, M. F. Z.; VEIGA, A. E. M. P.; MEYER, H. C.; BAUER, J. A.; GIOGI, J. Incorporando novas ferramentas. **Rev. Assoc. Paul. Cir. Dent.**, 55:233-42, 2001.





QUEVEDO, R. Sujeito doente. **Jornal da APCD**, p. 48, mar. 2003.

ROSLINDO, E.B.; MATA, A.C.; MALAGOLI, D.M. Ação do symphytum officinale na reparação do processo alveolar após exodontia. **Rev. Fac. Odontol. Lins**, 15:47-52, 2003.

SÁ, N. N. **A cura pelos dentes: biocibernética bucal uma revolução na saúde**. São Paulo: 1985.

SAMPAIO, M. **A odontologia holística: a natureza, os dentes e a saúde**. São Paulo: Mythos, 178 p, 1994.

SEIXAS, L. Dentistas começam a descobrir a Homeopatia. Disponível em: <<http://www.odontologia.com.br/noticias.asp?id=84&ler=s&busca=s>>. Acesso em 22 jul. 2005.

SGRINHELLI, M.R.F.; COELHO, H. **Odontologia do 3º milênio**. São Paulo: Proton, 180p., 1998.

VAN HASELEN, R. A. The relationship between homeopathy and the Dr. Bach system of flower remedies: a critical appraisal. **Br. Homeopath J.**, 88:121-7, 1999.

WALACH, H.; RILLING, C.; ENGELKE, U. Efficacy of Bach-flower remedies in test anxiety: a double-blind, placebo controlled, randomized trial whit partial crossover. **J. Anxiety Disord**, 15:359-66, 2001.

WEINSTEIN, A. Stress, disease, and dentistry. **J. Indiana Dent. Assoc.**, 80:18-20. 2001.



# Métodos para Separação das Proteínas do Leite

## *Methods for Separation of Milk Proteins*

Soraya Stefani Butarelo

Mestre em Ciência de Alimentos - UEL e professora na FAI

Larissa Pernomian

Farmacêutica

### Resumo

As autoras estudaram e discorreram sobre os principais métodos de separação das proteínas do leite (cromatografia, eletroforese e ensaios imunológicos), técnicas analíticas que desempenham um papel de extrema importância no controle de qualidade de produtos lácteos. Para tanto, uma revisão de diversas pesquisas referentes ao assunto é apresentada como embasamento teórico do trabalho. No contexto da dissertação, busca-se uma posição conclusiva acerca dos métodos de maior resolução e viabilidade para tal análise.

### Palavras-chave

proteínas do leite – cromatografia – eletroforese – ensaios imunológicos

### Abstract

The authors studied and they talked about the main methods for separation of milk proteins (chromatography, electrophoresis and immune essays), analytical techniques that take on a role of extremely importance in the quality's control of milky products. To do this, a review of many researches that refer to the subject is presented as a theoretical basis of the work. In the context of the dissertation, it seeks a conclusive position about the methods more feasible and with best resolution.

### Key-words

milk proteins – chromatography – electrophoresis

– immune essays

### Introdução

O leite consiste numa emulsão de gorduras em água, estabilizada por uma dispersão coloidal de proteínas em solução de sais minerais, vitaminas e peptídeos, com pH variando de 6,5 a 6,7. A grande diversidade das proteínas presentes no leite, assim como sua importância funcional e nutricional, explicam o elevado interesse no estudo da composição desta fração láctea.

A caseína, uma fosfoproteína obtida por acidificação do leite desnatado em pH equivalente a 4,6 a 20° C, é a principal proteína do leite e ocorre em quatro subtipos principais: a-caseína (50%), b-caseína (33%), d-caseína (5%) e a k-caseína (15%). As proteínas que permanecem em solução após precipitação e separação da caseína constituem o soro, sendo representadas por: a-lactoalbumina e b-lactoglobulina, que correspondem a 70-80% das proteínas do soro, e em menor proporção, soroalbumina, imunoglobulina, lactoferrina e transferrina.

O diferente comportamento das caseínas e das proteínas séricas, devido às suas diferenças estruturais, permite sua separação, identificação e posterior quantificação. Os métodos analíticos mais utilizados nestes processos são os cromatográficos, os eletroforéticos e os imunológicos.

Os métodos de separação, identificação e quantificação das proteínas do leite voltam-se à





análise de polimorfismos, à avaliação da extensão dos tratamentos térmicos aplicados aos laticínios, à determinação de adulterações em leites e derivados, e à detecção de peptídeos derivados da proteólise que ocorre nestes produtos. Esta revisão dá ênfase à descrição dos principais métodos de separação das proteínas do leite.

## Métodos de Separação das Proteínas do Leite

### 1- Métodos Cromatográficos

A cromatografia é uma técnica físico-química de separação dos componentes químicos de uma amostra (solutos), baseada na migração diferencial destes solutos ao longo de duas fases que integram o sistema cromatográfico: a fase móvel e a fase estacionária. Durante a eluição dos solutos, estabelecem-se interações químicas entre estes e a fase estacionária (eletrostática e imóvel), o que permite ou não a retenção dos solutos nesta fase. Dentre os métodos cromatográficos mais utilizados para separação e identificação das proteínas do leite inclui-se a cromatografia líquida de alta pressão por permuta iônica, a cromatografia líquida de alta pressão em fase reversa, e a cromatografia líquida por exclusão molecular.

#### 1.1 - Cromatografia líquida de alta pressão por permuta iônica

Este método cromatográfico, o mais utilizado na separação de proteínas do leite, baseia-se no processo químico de troca de íons entre a fase estacionária e o meio eluente. Sua fase estacionária é formada por trocadores iônicos (moléculas que retém íons por afinidade química) ligados covalentemente à matriz da coluna cromatográfica. Estes trocadores trocam seus íons por outros íons presentes no meio formado pela fase móvel (que define o caráter elétrico dos solutos da amostra) e pela amostra (com solutos de carga elétrica compatível ao trocador da fase estacionária). Os trocadores iônicos classificam-se em: trocadores aniônicos (apresentam carga elétrica positiva, e, portanto, retém e trocam ânions); e trocadores catiônicos (apresentam

cargas elétricas negativas, e, portanto, retém e trocam cátions). A fase móvel eluente deste sistema cromatográfico deve conter íons de carga elétrica compatível aos trocadores da fase estacionária, porém de pouca afinidade a estes trocadores, que os adsorverão apenas durante a eluição inicial da fase móvel, em ausência da amostra. A amostra em análise deve ser preparada na fase móvel eluente para definição da carga elétrica de seus solutos, e então, ser eluída ao longo da coluna. À medida que ocorre a eluição da fase móvel com os solutos da amostra, os íons retidos aos trocadores, por apresentarem menor afinidade, vão sendo substituídos pelos solutos iônicos da amostra, que apresentam maior afinidade química ao trocador. Para isolar o soluto desejado na coluna, deve-se eluir a fase móvel contendo íons de maior afinidade ao trocador do que os íons que provavelmente se adsorveram ao trocador. Após a eluição destes íons, e, portanto, separação e isolamento do soluto desejado, que permanece retido na coluna, deve-se eluir a fase móvel contendo íons de maior afinidade ao trocador do que os solutos a ele adsorvidos, para que estes sejam recolhidos no eluato. Em seguida, a coluna deve ser regenerada com o eluente inicial. Na tabela abaixo, encontram-se os estudos da separação das proteínas do leite por cromatografia de permuta iônica.

**Tabela 1** – Cromatografia por permuta iônica aplicada à análise das proteínas do leite

Aplicação	Condições de Análise	Compostos Separados	Referência
Separação das proteínas do leite	Coluna de troca aniônica (Pharmacia Mono QHR5/5), gradiente de NaCl 0-0,35M em tampão Tris-HCl 20mM a pH 7 com ureia 4,5M e 2-mercaptoetanol 10mM	$\beta$ - $\kappa$ , $\alpha$ , $\alpha_2$ , $\alpha_1$ , $\beta_2$ , $\beta_1$ , caseínas	Andrews et al. (1985)
Separação das proteínas de soro de vacas e ícides	Coluna de troca aniônica Pharmacia Mono Q, gradiente de força iônica de água e acetato sódico 0,7M a pH 6,3	$\beta$ -lg A e B, $\alpha$ -la e BSA	Manji et al. (1985)
Determinação de variantes genéticas da $\beta$ -caseína	Coluna de troca catiônica Pharmacia Mono S HR 5/5, gradiente não linear de NaCl em tampão ureia 6M acetato 0,05M a pH 5	$\beta$ -caseína A <sup>1</sup> , A <sup>2</sup> e B	Hofas et al. (1991)
Separação da caseína bovina, caprina e ovina	Coluna de permuta aniônica P.L. SAX	$\alpha$ <sub>1</sub> -caseína bovina, $\alpha$ <sub>2</sub> -caseína caprina, $\alpha$ <sub>1</sub> -caseína ovina	Kannunde e Arcfantakis (1993)
Inclusão do glicomacro-peptídeo do soro do queijo	Coluna de troca aniônica Pharmacia Mono Q HR 5/5, gradiente de NaCl 0-0,25M	Glicomacropéptido	Outinen et al. (1995)
Quantificação de leite bovino, caprino e ovino em queijos de misturas	Coluna Shodex IEC CM-825, gradiente de NaCl 0-0,5M em tampão de ácido malônico/ureia 10mM a pH 6	Para-caseína bovina, caseína caprina e caseína ovina	Mayer et al. (1997)



## 1.2 – Cromatografia Líquida de Alta Pressão em Fase Reversa

A cromatografia líquida de alta pressão baseia-se na eluição de uma fase móvel submetida a alta pressão, tornando a separação dos solutos muito mais rápida e eficiente. Na cromatografia líquida de alta pressão em fase reversa, a fase estacionária é apolar, sólida ou líquida, enquanto que a fase móvel é polar e líquida. A cromatografia em fase reversa permite separar as caseínas, as proteínas do soro e peptídeos derivados. Os solutos, portanto, vão sendo separados por ordem de polaridade: os mais polares (contendo maior número de cargas elétricas) são eluídos de modo mais rápido, enquanto que os menos polares vão sendo retidos na coluna. Os estudos de separação das proteínas do leite por cromatografia líquida de alta pressão por fase reversa encontram-se sucintamente descritos na tabela abaixo.

**Tabela 2** – Cromatografia líquida de alta pressão por fase reversa aplicada à análise das proteínas do leite.

Aplicação	Condições de Análise	Compostos Separados	Referência
Separação das caseínas em leite, leite em pó desnatado e caseínatos	Coluna HPLC de fase reversa $C_{18}$ , gradiente isocrático de ácido trifluoroacético em água 0,1% e ácido trifluoroacético em acetonitrilo 0,1%. Amostra preparada em uréia 4,5M e 0,1% de mercaptoetanol.	$\alpha_1$ , $\beta$ , $\alpha_2$ e $\kappa$ -caseínas, e fragmentos de $\gamma$ e de $\mu$ -caseínas.	Strange et al. (1991)
Identificação de nova variante genética da $\beta$ -caseína	Coluna HiPore RP-318 (Bio-Rad Labs) e pré coluna $C_{18}$ , gradiente de mistura de acetonitrilo, água e ácido trifluoroacético (100:900:1) acetonitrilo, água e ácido trifluoroacético (900:100:0,7).	$\beta$ -caseína e $A^1$ , $A^2$ e $A^3$	Visser et al. (1995)
Separação e quantificação das proteínas do leite	Coluna de fase reversa $C_{18}$ , gradiente de mistura de acetonitrilo, água e trifluoroacético nas proporções: 100:900:1 (solvente A) e 900:100:1 (solvente B).	$\kappa$ , $\alpha_2$ , $\alpha_1$ , $\beta$ -caseína, $\alpha$ -la e $\beta$ -lg	Bobbe et al. (1998)

## 1.3 - Cromatografia por Exclusão Molecular

Este método cromatográfico baseia-se no processo mecânico de exclusão molecular para separar os solutos da amostra. A coluna cromatográfica deste sistema é formada por partículas sólidas uniformes, contendo poros de diâmetros também uniformes. A fase móvel é líquida e elui por entre os poros da fase estacionária, arrastando consigo os solutos da amostra. Os solutos de pequeno diâmetro ficam retidos nos poros da fase estacionária enquanto que os de diâmetro maior são eliminados dos poros, saindo da coluna por exclusão. Uma das maiores dificuldades da cromatografia por exclusão molecular é a detecção

e avaliação do tamanho das micelas de caseína, em virtude da proximidade de seus pesos moleculares. Por outro lado, é utilizada com sucesso no isolamento de proteínas menores, presentes no soro do leite (STRANGE et al., 1992). Contudo, as semelhanças de peso molecular das proteínas do soro das várias espécies impedem a utilização desta técnica na identificação de vários tipos de leite.

## 2 – Métodos Eletroforéticos

A eletroforese consiste numa técnica físico-química empregada na separação de solutos e estruturas coloidais, baseada na migração de partículas eletricamente carregadas em solução, quando submetidas a um campo elétrico. Qualquer partícula ou molécula carregada pode se mover nessas condições, e conseqüentemente, podem ser separadas, desde que possuam diferentes cargas elétricas. A separação eletroforética das partículas pode ser realizada em meio líquido ou num suporte inerte, que não interfira na migração destas partículas. A diferença de potencial elétrico aplicada ao sistema eletroforético é produzida por dois eletrodos de cargas opostas, que são introduzidos na solução contendo as partículas carregadas. As partículas com carga elétrica positiva migram em direção ao eletrodo de carga negativa (cátodo), enquanto que as partículas com carga elétrica negativa migram em direção ao eletrodo de carga positiva (ânodo). A eletroforese desempenhou e continua a desempenhar um papel muito importante no estudo das proteínas do leite, tendo sido utilizada na investigação de suas variantes genéticas. A principal vantagem do método de eletroforese é a de permitir a separação, a quantificação e a identificação simultâneas das diferentes proteínas de uma mistura. Após a separação, as diferentes bandas resultantes podem ser identificadas com corantes, como azul de Coomassie ou nitrato de prata. Estes permitem, não só uma identificação qualitativa dos grupos de proteínas, mas também uma quantificação aproximada através de um densitômetro, ajustado ao comprimento de ondas correspondente à





absorção do corante.

## 2.1 - Eletroforese em Gel

Um dos métodos eletroforéticos utilizados na separação das proteínas é a eletroforese em gel de poliácridamida. O tamanho dos poros do gel de poliácridamida mais utilizado para macromoléculas permite separar proteínas de 15 000 a 250 000 Daltons. Este tipo de suporte separa tanto pelo tamanho do poro como por carga elétrica. Os trabalhos que usaram os métodos eletroforéticos em gel aplicados à análise das proteínas do leite, podem ser vistos na tabela abaixo.

**Tabela 3** - Métodos eletroforéticos em gel aplicados à análise das proteínas do leite.

Aplicação	Condições de Análise	Compostos Separados	Referência
Deteção de leite de vaca adicionado a queijos de leite de ovelha.	Gel de poliácridamida com tampão Tris-glicina a pH 8,3	Proteínas do Soro	Amigo et al., (1991)
Deteção de caseínas bovinas em leite e derivados.	Gel de poliácridamida com tampão superior de ácido N-(2-acetamido)-2-aminoetano sulfônico (ACES) 40mM e pH 6,8 e um tampão inferior de piridina 200mM e pH 5,2.	$\beta$ -caseína	Mayer e Hörner (1992)
Determinação das proteínas do soro em leite de cabra e ovelha	Gel de poliácridamida com solução de fixação: metanol e ácido tricloroacético	Proteínas do Soro	Casper et al. (1998)

## 2.2 - Eletroforese Capilar

A eletroforese capilar é uma técnica analítica versátil e sensível que apareceu no final dos anos 80. Sua aplicação caracteriza-se por reduzidos tempos de análise, pequenas quantidades de amostra e baixos custos. A eletroforese capilar tem provado ser uma técnica eficiente na análise das proteínas do leite. Existem diversos trabalhos que descrevem sua utilização na análise de polimorfismos das proteínas do leite, na avaliação da extensão dos tratamentos térmicos dos laticínios, na detecção de adulterações e de peptídeos derivados das proteínas durante a proteólise no leite e em seus derivados. Na tabela abaixo, encontram-se resumidamente descritos os trabalhos que empre-

gam a eletroforese capilar na análise das proteínas do leite.

**Tabela 4** - Métodos de eletroforese capilar aplicada à análise das proteínas do leite

Aplicação	Condições de Análise	Compostos Separados	Referência
Separação das proteínas do leite de diferentes espécies e deteção de leite bovino em leite caprino e ovino	Coluna capilar de sílica fundida, solvente tampão citrato de sódio 20mM com metilhidropropilcelulose (MHPC) 0,1% e uréia 6M.	$\alpha$ e $\beta$ -caseínas e proteínas do soro	Cattaneo et al., (1996)
Identificação das proteínas séricas do leite bovino e caprino e determinação do leite bovino em leite e queijo caprino	Coluna capilar de metil-silanzada, solvente tampão borato 50mM, pH9,27 ou tampão borato 120mM e pH 9,2.	$\alpha$ -la e $\beta$ -lg A e B	Cartoni et al. (1999)

## 3- Métodos Imunológicos

Os ensaios imunológicos são técnicas analíticas freqüentemente utilizadas na indústria alimentícia para separação, identificação e quantificação dos componentes alimentares e de agentes contaminantes presentes nos alimentos. Esses métodos foram aplicados inicialmente na identificação e quantificação de proteínas específicas em concentrações muito baixas. A aplicação destes métodos na separação das proteínas do leite deve-se a antigenicidade destes compostos, o que lhes permite a conjugação com anticorpos específicos. As proteínas do soro do leite são extremamente antigênicas, o que possibilita sua determinação por técnicas imunológicas usuais, como a imunodifusão, o método ELISA e os ensaios radioimunológicos. A determinação das caseínas, apesar de bastante viável, é mais difícil, já que estas proteínas são pouco antigênicas e encontram-se na forma de agregados (GRAPPIN e RIBADEAU-DUMAS, 1992). A principal finalidade da detecção das proteínas do leite por meio de ensaios imunológicos é verificar possíveis adulterações no leite e em seus derivados. Os primeiros ensaios imunológicos baseavam-se em ensaios radioimunológicos que utilizavam marcadores radioativos conjugados a anticorpos ou antígenos. Contudo, em virtude da elevada capacidade destrutiva dos marcadores radioativos no organismo humano, estes compostos foram substituí-



dos por enzimas, desencadeando o desenvolvimento dos ensaios imunoenzimáticos, que se tornaram mais aceitáveis em análises de alimentos. Os ensaios imunoenzimáticos são mais simples, baratos e mais sensíveis, devido à especificidade das reações antígeno – anticorpo. Dois tipos de anticorpos são utilizados nos ensaios imunológicos: anticorpos mono e policlonais. Os anticorpos policlonais correspondem a uma mistura de anticorpos, cada um produzido contra um epítipo diferente do antígeno. Cada um dos anticorpos presentes nesta mistura tem afinidade e especificidade pelo epítipo responsável por sua produção. Anticorpos policlonais são preparados através da imunização de animais com um antígeno, seguida pela retirada do sangue e purificação do soro para remoção dos anticorpos inespecíficos. Os anticorpos monoclonais são aqueles secretados por hibridomas (células híbridas resultantes da fusão de células tumorais com células secretoras de anticorpos). Para a sua obtenção efetua-se a imunização de um animal e posterior retirada do baço (órgão onde se concentram as células imunocompetentes, estimuladas durante a imunização). As células do baço são misturadas às células de mielomas (tumores) e fundidas para formação dos hibridomas. Em seguida é necessário fazer a seleção do hibridoma, que produz o anticorpo desejado, procedendo-se com sua clonagem. Os clones assim obtidos são, portanto, uma linhagem celular capaz de produzir anticorpos em grande quantidade e de alta especificidade.

### 3.1 – Método ELISA

Trata-se de um método imunoenzimático, que utiliza como marcadores enzimas cromogênicas (responsáveis por catalisar reações que resultam no desenvolvimento de cor) conjugadas a anticorpos ou antígenos. Nos testes imunoenzimáticos um dos reagentes está adsorvido à superfície de uma matriz sólida, como esferas de poliestireno. A reação é baseada na ligação não covalente e reversível do antígeno com o anticorpo específico, no qual um deles é marcado com uma enzima

cromogênica. As enzimas mais utilizadas para esta finalidade são a *fosfatase alcalina* e a *peroxidase*. Para o desenvolvimento de cor são adicionados substratos específicos às enzimas marcadoras. Durante a reação entre a enzima e seu substrato ocorre o desenvolvimento de cor, cuja intensidade pode ser observada visualmente ou medida com espectrofotômetros especiais. Entre os vários tipos de testes imunoenzimáticos, dois são mais comumente empregados: o tipo competitivo e o tipo não competitivo (em sanduíche). No método competitivo, o antígeno da amostra compete com o antígeno marcado com a enzima, adicionado a mistura reagente, pelos sítios de ligação com o anticorpo fixo na matriz sólida. A presença de antígeno na amostra diminui a quantidade de sítios de ligação dos anticorpos da matriz disponíveis aos antígenos marcados que serão posteriormente adicionados. Desta forma a concentração do antígeno marcado torna-se baixa, o que reduz a ocorrência de reações cromogênicas. Conseqüentemente, tem-se que a concentração do antígeno amostral é inversamente proporcional à intensidade da cor desenvolvida. No método em sanduíche, o antígeno deve ter pelo menos dois sítios de ligação com o anticorpo. Inicialmente faz-se a adsorção do anticorpo à matriz sólida, seguida pela adição da amostra e de um conjugado constituído de um anticorpo marcado com uma enzima. Completa-se a reação com a adição do substrato para esta enzima. Neste tipo de reação a concentração do antígeno amostral é diretamente proporcional à intensidade da cor desenvolvida.

Diversos tipos de ELISA têm sido aplicados no dosamento das proteínas do soro do leite e das caseínas, principalmente com o objetivo de se detectar adulterações dos produtos lácteos. Dois métodos ELISA (competitivo e em sanduíche) foram desenvolvidos por Garcia et al. (1991) para detectar pequenas adulterações de leite de vaca no leite de ovelha. Em ambos foram utilizados, anticorpos policlonais contra as proteínas do soro do leite da vaca, conjugados com a biotina. Uma vez que a biotina é uma pequena molécula, a sua





ligação aos anticorpos não prejudica a associação antígeno-anticorpo, mantendo a especificidade do anticorpo para o antígeno, o que poderia não acontecer quando uma enzima se fixa diretamente ao anticorpo. Além disso, a conjugação da biotina com anticorpos é um procedimento muito mais simples, originando produtos mais estáveis do que os complexos enzima-anticorpo. A biotina é um co-fator de várias enzimas, que só se tornam ativas em presença da vitamina. Portanto, após a adição do anticorpo ou do antígeno conjugado à biotina, se adiciona enzimas cromogênicas que utilizam a vitamina B<sub>12</sub> como co-fator. Em seguida, adiciona-se o substrato da enzima, para o desenvolvimento de cor. Os estudos que empregam o método ELISA na análise de proteínas do leite podem ser vistos resumidamente na tabela abaixo.

**Tabela 5** – Método ELISA aplicado na análise das proteínas do leite.

Aplicação	Antígeno	Referência
Deteção de proteínas do leite de vacas nativas e desnatadas em queijos de ovelha e cabra	$\beta$ -lactoglobulina nativa e desnaturada	Beer et al., (1996)
Deteção de leite de cabra em leite de ovelha	$\alpha_2$ -caseína de leite de cabra	Hara et al., (1996)
Deteção de leite de vaca e caseínatos em queijo de cabra e ovelha	$\gamma$ -caseína bovina	Richter et al., (1997)

## Conclusão

A cromatografia, a eletroforese e os ensaios imunológicos são as técnicas mais adequadas para a separação das diferentes proteínas do leite e de produtos lácteos. Os métodos cromatográficos apresentam uma elevada reprodutibilidade dos resultados e permitem recolher facilmente os compostos separados para análises posteriores. Assim, são os mais utilizados para a separação das proteínas. A principal vantagem das técnicas eletroforéticas é a de permitir simultaneamente separação, identificação e quantificação das proteínas do leite. A combinação de baixos custos, tempo de análise reduzido e pequeno volume da amostra fazem da eletroforese capilar um instrumento importante na análise das proteínas do leite. Os métodos ELISA são cada vez mais utiliza-

dos na análise de produtos alimentares devido à sua sensibilidade e ao seu reduzido tempo de análise, podendo vir a desempenhar um importante papel no controle de autenticidade dos produtos lácteos. Os ensaios imunológicos serão certamente mais utilizados na análise do leite quando estiverem disponíveis comercialmente, anticorpos mais baratos e específicos.

## Referências

- AMIGO, L.; RAMOS, M.; MARTINS-ALVAREZ, P. J. Effect of technological parameters on electrophoretic detection of cow's milk in ewe's milk cheeses. *J. Dairy Sci.*, 74:1482-1490, 1991.
- ANDREWS, A. T., Taylor, M. D. e Owen, A. J. Rapid analysis of bovine milk proteins by fast protein liquid chromatography. *J. Chromatogr.*, 348:177-185, 1985.
- BEER, M.; KRAUSE, L.; STAP, M.; SCHWARZER, C.; KLOSTERMEYER, H. Indirect competitive enzyme-linked immunosorbent assay for the detection of native and heat-denatured bovine  $\beta$ -lactoglobulin in ewes 'and goats' milk cheese. *Z Lebensm Unters Forsch.* 203:21-26, 1996.
- BOBE, G., BEITZ, D. C., FREEMAN, A. E. e LINDBERG, G. L. Separation and quantification of bovine milk proteins by Reversed-Phase High-Performance Liquid Chromatography. *J. Agric. Food Chem.*, 46:458-463, 1998.
- CARTONI, G.; COCCIOLI, F.; JASIONOWSKA, R.; MASCI, M. Determination of cow's milk in goats' milk and cheese by capillary electrophoresis of the whey protein fractions. *Journal Chromatography American*, v.846, p. 135-141, 1999.
- CATTANEO, T.M.P.; NIGRO, F.; GREPPI, G. F. Analysis of cow, goat and ewe milk mixtures by



- capillary zone electrophoresis (CZE): preliminary approach. *Milchwissenschaft*, 51:616-619, 1996.
- CASPER, J.L.; WENDORFF, W.L.; THOMAS, D.L. Seasonal changes in protein composition of whey from commercial manufacture of caprine and ovine speciality cheeses. *J. Dairy Sci.*, 81:3117-3122, 1998.
- GARCÍA, T.; MARTÍN, R.; RODRÍGUEZ, E.; ACZONA, J. I.; SANZ, B.; HERNÁNDEZ, P. E. Detection of bovine milk in ovine milk by a sandwich enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). *J. Food Prot.*, 54:366-369, 1991.
- GRAPPIN, R.; RIBADEAU-DUMAS, B. Analytical methods for milk proteins. In P. F. Fox (editor). *Advanced dairy chemistry - Proteins*. 2. ed. London: Blackie Academic & Professional, p.1-62, 1992.
- HAZA, A. I.; MORALES, P.; MARTÍN, R.; GARCÍA, T.; ANGUITA, G.; GONZÁLEZ, I.; RODRÍGUEZ, E.; SANZ, B.; HERNÁNDEZ, P. E. Development of monoclonal antibodies against caprine  $\alpha_2$ -casein and their potential for detecting the substitution of ovine milk by caprine milk by an indirect ELISA. *J. Agric. Food Chem.*, 44:1756-1761.
- HOLLAR, C. M.; LAW, A. J. R.; DALGLEISH, D. G.; MEDRANO, J. F.; BROWN, R. J. Separation of b-casein A<sup>1</sup>, A<sup>2</sup>, and B using cation-exchange fast protein liquid chromatography. *J. Dairy Sci.*, 74:3308-3313, 1991.
- KAMINARIDES, S. E.; ANIFANTAKIS, E. M. Comparative study of the separation of casein from bovine, ovine and caprine milks using HPLC. *J. Dairy Res.*, 60:495-504, 1993.
- MANJI, B.; HILL, A.; KAKUDA, Y.; IRVINE, D. M. Rapid separation of milk whey proteins by anion exchange chromatography. *J. Dairy Sci.*, 68:3176-3179, 1985.
- MAYER, W.; HÖRTNER, H. Discontinuous electrophoresis of b-caseins for the determination of bovine caseins in milk e dairy products. *Electrophoresis*, 13:803-804, 1992.
- MAYER, H. K.; HEIDLER, D.; ROCKENBAUER, C. Determination of the percentages of cows', ewes' and goats' milk in cheese by isoelectric focusing and cation-exchange HPLC of g- and para-k-caseins. *Int. Dairy J.*, 7:619-628, 1997.
- OUTINEN, M.; TOSSAVAINEN, O.; SYVÄOJA, E.-L.; KORHONEN, H. Chromatographic isolation of k-casein macropeptide from cheese whey with a strong basic anion exchange resin. *Milchwissenschaft*, 50:570-574, 1995.
- RITCHTER, W.; KRAUSE, I.; Graf, C.; SPERRER, I.; SCHWARZER, C.; KLOSTERMEYER, H. An indirect competitive ELISA for the detection of cows' milk and caseinate in goats' and ewes' milk and cheese using polyclonal antibodies against bovine g-caseins. *Z. Lebensm. Unters. Forsch. A*, 204:21-26, 1997.
- STRANGE, E. D.; VAN HEKKEN, D.; THOMPSON, M. P. Qualitative and quantitative determination of caseins with reverse-phase and anion-exchange HPLC. *J. Food Sci.*, 56:1415-1420, 1991.
- STRANGE, E. D.; MALIN, E. L.; VAN HEKKEN, D. L.; BASCH, J. J. Chromatographic and electrophoretic methods used for analysis of milk proteins. *J. Chromatogr.*, 624:81-102, 1992.
- VISSER, S.; SLANGEN, C. J.; LAGERWERF, F. M.; DONGEN, W. D. V.; HAVERKAMP, J. Identification of a new genetic variant of b-casein using reversed-phase high-performance liquid chromatography and mass spectrometric analysis. *J. Chromatogr. A*, 711:141-150, 1995.





## Novo enfoque sobre a fisiopatologia das glândulas salivares.

*New focus on physiopathology on the salivary glands.*

Gildo Matheus

Professor Titular em Patologia - UNESP e Professor na FAL

Maria Tereza Giroto Matheus

Professora Titular de Histologia e Embriologia - UNESP e Professor na FAL

### Resumo

A partir da constatação de que as glândulas salivares ainda são encaradas como meras produtoras de saliva, cujas funções básicas seriam lubrificar a cavidade bucal e iniciar a digestão, os autores enfocam, em ordem cronológica crescente, as diversas pesquisas que culminaram com a "teoria endócrina" das glândulas salivares e, conseqüentemente, com sua inclusão no mecanismo endócrino do organismo. Com base em exaustiva revisão da literatura e em diversas pesquisas anteriormente desenvolvidas pelos autores, fica demonstrada a relação das glândulas salivares com as demais glândulas endócrinas assim como sua capacidade de síntese hormonal (Parotín) e/ou fatores de crescimento nervoso (NGF) e crescimento epidérmico (EGF). Tais fatos colocam as glândulas salivares sob novo enfoque já que podem interagir com fenômenos biológicos os mais diversos e extratos dessas glândulas, Parotín e fatores de crescimento por elas sintetizados, vêm sendo utilizados em pesquisas básicas e clínicas, relacionadas com AIDS, diabete mellitus, hepatite C, síndrome de Kashin-Back, bulímia e neoplasias malignas, entre outras.

### Palavras-chave

glândulas salivares – hormônio salivar – Parotín – fator de crescimento epidérmico (EGF) – fator de crescimento nervoso (NGF).

### Abstract

Starting from the verification that the glands salivate are faced still as mere producing of saliva, whose basic functions would be to lubricate the oral cavity and to begin the digestion, the authors focus, in growing chronological order, the several researches that you/they culminated with the "endocrine theory" of the glands you salivate and, consequently, with his/her inclusion in the endocrine mechanism of the organism. Baseaded in exhausting revision of the literature and in works previously developed by the authors the relationship of the salivary glands is demonstrated with the other endocrine glands as well as his/her capacity of hormonal synthesis (Parotín) and/or factors of nervous growth (NGF) and growth epidérmico (EGF). Such facts put the salivary glands under new focus since they can interact with biological phenomena the most several and extracts of those glands, Parotín and growth factors for them synthesized, they have been used in basic and clinical researches, related with AIDS, diabetes mellitus, hepatitis C, syndrome of Kashin-Back, bulímia and malign neoplasm, among others.

### Key-words

salivary glands – salivary hormones - Parotín – EGF – NGF.

### Introdução

Do ponto de vista filogenético as glândulas saliva-



res estão ausentes nos peixes e cetáceos, já aparecendo nos anfíbios, répteis e vertebrados superiores. Estas glândulas são muito desenvolvidas nos mamíferos, especialmente a parótida, cuja atividade secretora é superior às demais glândulas sendo que as glândulas salivares principais são pares e estão representadas pelas parótidas, submandibulares e sublinguais.

No homem, as glândulas salivares principais produzem, aproximadamente, de 700 a 1000 mililitros de saliva por dia enquanto que nos ruminantes, a produção diária de saliva pode alcançar de 50 a 70 litros.

A saliva desempenha as funções de lubrificação e limpeza da cavidade bucal; atividade antibacteriana; participa do fenômeno da gustação; do início da digestão de carboidratos e lipídios (amilase e lipase); da formação do bolo alimentar e de sua deglutição; participa do processo de coagulação e de cicatrização de feridas devido à presença, na saliva, de fatores de coagulação e fator de crescimento epidermal (GARTNER & HIATT, 1999; YARAT et al., 2004) e fator de crescimento nervoso (HUMPEL; LINDQVIST E OLSON, 1993). A saliva produzida pelas células acinares, a chamada saliva primária, é modificada pelas células dos ductos estriados que retiram íons sódio e cloro substituindo-os por íons potássio e bicarbonato. Esta secreção modificada recebe a denominação de saliva secundária.

A função germicida protetora da saliva é devida a produção de imunoglobulina IgA nas células acinares e ductais, da lactoferrina que se liga ao ferro, um elemento essencial para o metabolismo bacteriano e da lisozima que produz a lise da membrana das bactérias, permitindo a entrada de íons tiocianato, um potente agente bactericida.

Contudo, a evolução da ciência vem demonstrando exaustivamente, especialmente a escola japonesa e a escola americana, que o papel das glândulas salivares vai muito além da simples função

de produzir saliva. Constitui-se, na atualidade, num excelente e promissor campo de pesquisas seja pela produção de fatores biológicos diversos como querem os americanos; seja pela produção de uma substância protéica, biologicamente ativa, denominada Parotin e considerada como um hormônio salivar como querem os japoneses.

### **Função endócrina das glândulas salivares**

Os primeiros estudos que levaram à hipótese de que as glândulas salivares fazem parte do sistema endócrino ou que são estimuladas pelas glândulas de secreção interna foram realizados por Harkin (1986), o qual observou que a dor provocada pela tumefação bilateral das parótidas de uma paciente diminuía todas as vezes que esta se encontrava em período de gestação. No mesmo ano, o referido autor menciona a provável existência de uma relação entre a parotidite e os órgãos sexuais masculinos, sugerindo que a orquite, não raro, constitui-se em complicação da parotidite epidêmica.

Neste mesmo ano, Paget (1886) comenta os trabalhos de Godree (1881) no qual, este autor, faz referências ao aparecimento de parotidite, em mulheres submetidas à histerectomia; relata também, o fato de que as glândulas salivares das camelas estão aumentadas de volume durante a época de procriação.

Posteriormente, Farroni (1911) relata a existência, na parótida de bovinos, de um fator que além de ter ação hipoglicemiante em coelhos, previne a glicosúria induzida por diversas drogas; igualmente Utimura (1927) e Seelig (1928) sugeriram a ação hipoglicemiante das glândulas parótidas em cães.

No entanto, muito embora já tivessem surgido na literatura alguns trabalhos mencionando uma possível função endócrina das glândulas salivares, somente após a formulação de uma "teoria endócrina das glândulas salivares", por Ogata (1934) é que os estudos destas glândulas, como





órgão de secreção interna, liveram grande impulso.

Ao explicar a sua teoria endócrina Ogata et al. (1934), sugerem que as glândulas salivares não seriam constituídas especificamente de um tecido endócrino altamente especializado à semelhança de outros órgãos de secreção interna, mas que sua função seria realizada pela reabsorção de saliva nos ductos estriados do sistema eferente da glândula, fato confirmado por Melvin (1999). Assim, os ductos estriados funcionariam como um reservatório onde a saliva seria temporariamente retida antes de ser excretada para a cavidade bucal e graças ao fato da camada epitelial dos túbulos estriados não estar fixada na membrana basal, mas sim, disposta livremente, circundada pelo espaço linfático, esta camada epitelial poderia manter-se internamente em contacto com a saliva e externamente em contacto com a linfa. É também fato conhecido que o citoplasma das células epiteliais dos ductos estriados é provido de um sistema de grânulos relacionados com a secreção e de um sistema canalicular, que possui função de reabsorção. Este sistema passa por marcadas alterações durante o processo de secreção, tendo a capacidade de reabsorção dos ductos estriados ficado, indubitavelmente, demonstrada por Yuasa (1940), que injetando no ducto eferente da glândula salivar de cães, uma solução de albumina e corante, verificou através da titulação de antígeno, que dez minutos após, a referida solução já podia ser encontrada na corrente circulatória. Acredita-se que a saliva reabsorvida pelas células epiteliais que revestem os ductos estriados é primeiramente atraída para os espaços linfáticos que circundam tais ductos sendo, subsequentemente, impelida para a corrente circulatória.

Segundo Ishii (1943) o princípio ativo contido na saliva seria inteiramente inativado no trato digestivo; contudo, após sua reabsorção ao nível de ductos estriados, quando presente no sangue, esse princípio ativo exerceria a sua verdadeira função hormonal, sendo indispensável para o desenvolvimento do sistema esquelético particularmente

para o tecido cartilaginoso, ósseo e dental.

A Ogata et al. (1944) coube o mérito de isolar e a Ito e Mizutani (1952) o de cristalizar, a partir da parótida de bovinos, uma substância de natureza protéica, biologicamente ativa, denominada Parotin e considerada como um hormônio. O Parotin é uma proteína constituída por uma cadeia de 17 aminoácidos: glicina, alanina, valina, leucina, fenilalanina, tirosina, ácido aspártico, ácido glutâmico, lisina, arginina, histidina, cistina, metionina, serina, trionina, triptofano e prolina. Entra ainda, na composição do Parotin: 50,84% de carbono; 7,31% de hidrogênio; 14,53% de nitrogênio; 0,06% de fósforo e 0,77% de enxofre. Sua constante de sedimentação é  $3,81 \times 10^{-11}$  (cn./ccc.); sua constante de fusão  $2,84 \times 10^7$  cm<sup>2</sup>/sec.; sua viscosidade específica 0,428; seu peso molecular 132.000 sendo seu ponto isoelétrico de pH 5,7 e, segundo Takizawa (1954), Ogata (1955) e Ito (1960) seria sintetizado, principalmente, pelas parótidas coadjuvadas pelas submandibulares, sendo que as sublinguais não participariam desta função.

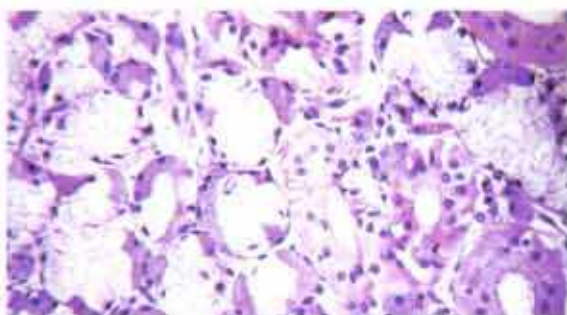


Fig. 1. Glândula parótida de bovino, da qual foi isolado e cristalizado o Parotin. Observar ácinos e ductos. H.E. 400X

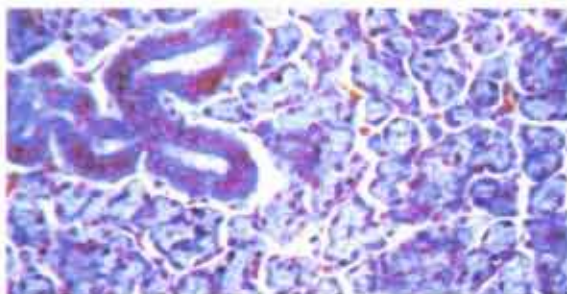


Fig. 2. Glândula parótida humana. Observar ácinos e ductos. Tricrômico de Masson. 100X.



Em 1980, Tieche, Leonora e Steinman isolaram, purificaram e seqüenciaram parcialmente um hormônio a partir da parótida de suínos enquanto Zhang et al. (2005), recorrendo aos métodos da hibridização e imunohistoquímicos demonstraram que o hormônio parotídeo localiza-se nas células acinares dessas glândulas. Estes autores demonstraram a existência de trinta diferentes aminoácidos que compõem o hormônio parotídeo isolado de suínos.

Após o isolamento do Parotín a partir da parótida de bovinos avolumaram-se, sobremaneira, os trabalhos que procuram relacionar as glândulas salivares com o mecanismo endócrino geral.

Assim, no que diz respeito à relação entre glândulas salivares e adrenais, Bixler et al. (1955; 1956) observaram que a salivariadenectomia, em ratos, produz hipertrofia do córtex das supra-renais, acompanhada do aumento da atividade adrenocortical, particularmente, da zona fasciculada.

Por sua vez, Takizawa (1954) e Ogata (1955) constataram, em ratos, que a extirpação das parótidas e submandibulares ocasionava, na hipófise, um aumento evidente do número de células eosinofílicas, ricas em granulações. Ainda Baker e Abrams (1954) demonstraram que a hipofisectomia promove diminuição no peso das glândulas salivares enquanto que Urban e Suddick (1964) observaram que a salivariadenectomia produz decréscimo acentuado no tamanho das células gonadotróficas da hipófise. Igualmente Lucas, Peakman e Smith (1970) notaram atrofia das parótidas e submandibulares em ratos hipofisectomizados; observaram ainda, a reversão do quadro de atrofia pelo tratamento combinado de somatotrofina, cortisona e tiroxina.

No que se refere à interrelação glândulas salivares e pâncreas, Hiki et al. (1930) e Ogata (1934) sugeriram uma provável relação entre a secreção interna das glândulas salivares e o metabolismo

dos carboidratos tendo observado, em animais sialoadenectomizados, forte tendência à hipoglicemia com aumento da tolerância à glicose. Opostamente, nos casos de hiperfunção das glândulas salivares, verificaram hiperglicemia e diminuição da tolerância à glicose.

Ainda, Dobreff (1936) e Ferreti (1936) afirmam que a hipertrofia das parótidas, tão frequentemente observada em pacientes diabéticos, poderia ser um mecanismo compensatório, isto é, as parótidas assumiriam funções semelhantes as do pâncreas na elaboração da insulina. Birnkrant (1941) e Birnkrant e Shapiro (1942), ao estudarem a influência do extrato de parótida sobre a estrutura pancreática bem como sobre a glicemia, observaram que a administração repetida desta substância ocasionava hiperglicemia acompanhada de alterações degenerativas das ilhotas de Langerhans, tendo concluído que as parótidas podem elaborar uma substância com ação antagonista à da insulina.

Posteriormente, Takizawa (1954) e Ogata (1955) observaram que a extirpação das parótidas e submandibulares leva à hiperplasia das células beta do pâncreas; Halmos e Samogyi (1962) admitem a existência de um sinergismo entre pâncreas e glândulas salivares, evidenciando a existência de hipertrofia compensadora das parótidas quando da hipofunção das ilhotas de Langerhans e Godlowski (1968), ao estudar a função das glândulas salivares na homeostase da insulina, em cães, verificou que a administração endovenosa de extrato de glândulas submandibulares causou inibição da ação insulínica.

Favorecendo a corrente de autores que preconizam a existência de interrelação entre metabolismo dos carboidratos e glândulas salivares, Davidson, Leibel e Berris (1969) reconhecem que a hiperplasia e a hipertrofia das parótidas precedem, em muitos casos, o diabete mellitus; sugerindo, inclusive, que o teste de tolerância à glicose deva ser realizado rotineiramente em pacientes





portadores de aumento volumétrico assintomático das glândulas parótidas. Pesquisas recentes demonstram existirem receptores de membrana para insulina nas glândulas salivares de ratos (ROCHA et al., 2000); de que pacientes geriátricos portadores de diabetes mal controlada apresentam disfunção das glândulas salivares (HOCKERS; LAMY, 1999) e de que portadores de diabetes tipo I podem, frequentemente, apresentar alterações degenerativas das parótidas e submandibulares (TÜZÜN; HATEMI e MEMISOGLES, 2000; LIN et al., 2002).

Quanto à interrelação glândulas salivares-tireóide, as evidências tornam-se praticamente irrefutáveis, sendo interessante ressaltar que do ponto de vista filogenético, a glândula tireóide, nos protocordados, deriva de uma glândula salivar primitiva que tem capacidade de concentrar iodo (GORBMAN, 1958), enquanto que nos animais superiores, já se constitui numa glândula interna que guarda semelhança com as glândulas salivares, principalmente quanto à capacidade que estas possuem de também metabolizarem iodo (MYANT, 1960).

Esta interrelação glândulas salivares e tireóide, em ratos, tem sido amplamente demonstrada. Assim, Hammett (1923) verificou que o crescimento das submandibulares mostrava-se nitidamente retardado na deficiência tireoideana. Grad e Leblond (1949) notaram que a tireoidectomia ocasiona atrofia e diminuição do peso das glândulas salivares e Raynaud (1950) constatou que a administração de tiroxina acarreta o aumento do tamanho das glândulas salivares. Wen et al. (2000) referem que a ativação da tiroxina-quinase atua na regulação da proliferação e maturação das células das glândulas salivares. Shafer e Muhler (1956) observaram que a extirpação das glândulas salivares leva a modificações funcionais da tireóide, que mostra intensas alterações morfológicas, admitindo inclusive, a possibilidade de que modificações estruturais da glândula tireóide possam também refletir-se em alterações na secreção salivar.

No que concerne à remoção de glândulas salivares e seus reflexos sobre a tireóide, Takizawa (1954) e Ogata (1955) notaram que a remoção das parótidas e submandibulares, leva ao aumento do número de células foliculares, acompanhado de modificações na coloração dos colóides, bem como do aumento do diâmetro dos folículos tireoideanos; o que foi interpretado por Ogata (1955) como sendo um quadro de hiperfunção tireoideana. Ainda segundo Takizawa (1954) tais alterações, embora menos intensas, foram confirmadas mesmo quando se procedia apenas à extirpação das parótidas.

A resultados semelhantes chegaram Moraes e Matheus (1980a) que ao estudarem o processo de reparo de feridas cutâneas de ratos tratados com 6-propil-2-tiouracil e de ratos parotidectomizados verificaram, ao nível de tireóide, que enquanto a referida droga leva a um quadro histológico de hipotireoidismo, a parotidectomia ocasiona um quadro histológico compatível com hipertireoidismo, o qual é caracterizado pelo aumento do número e do tamanho dos folículos tireoideanos. Ainda Moraes e Matheus (1980b) observaram que quando a parotidectomia é realizada previamente à administração de 6-propil-2-tiouracil, o quadro histológico da tireóide aproxima-se daquele observado nos animais controle, sugerindo que a parotidectomia previne a instalação completa do hipotireoidismo experimental, na metodologia empregada.

Ainda, para Fawcett e Kirkwood (1954) as glândulas salivares teriam, entre outras, a função de promover a desiodação da tiroxina, sendo o iodo novamente reaproveitado via salivar e gastrintestinal. Para Wase e Feng (1956) as glândulas salivares exercem importante papel na regulação da atividade tireoideana, provavelmente, controlando a produção e/ou a utilização do hormônio tireotrófico enquanto que Shafer e Muhler (1960) admitem que tais glândulas teriam a função de controlar o nível sanguíneo de tiroxina.

Igualmente a interrelação glândulas salivares e



glândulas sexuais tem sido demonstrada ficando comprovado que as glândulas salivares são profundamente influenciadas por hormônios androgênicos (GRAD & LEBLOND, 1949).

Assim é que Lacassagne e Chamarro (1940) observaram que camundongos castrados apresentam atrofia das glândulas submandibulares, atrofia esta que se acentua com a hipofisectomia e que sofre involução após a administração de andrógenos. Istrate (1955) constatou que o pleno desenvolvimento da glândula submandibular depende dos hormônios sexuais. Ainda segundo Bixler, Muhler e Shafer (1955), a remoção das glândulas salivares resulta em nítida diminuição do peso dos testículos. Para Burger (1958), embora a remoção unilateral das parótidas não determine alterações testiculares, a extirpação completa destas glândulas acarreta total inibição da espermatogênese.

De acordo com Burgen e Seeman (1957), em ratos, as parótidas possuem duas porções distintas, uma "lenticular" e outra "serosa", sendo que nas fêmeas, a porção "lenticular" apresenta aspecto acinar. Parmon et al (1957) observaram que a castração faz desaparecer os caracteres masculinos em sua porção "lenticular"; contudo, a administração de propionato de testosterona, aos animais castrados, devolve às parótidas os caracteres masculinos enquanto que nas fêmeas, a castração confere características masculinas à porção "lenticular" da parótida, o que sugere que o hormônio testicular interfere na diferenciação estrutural da parótida.

Por outro lado, a presença de um eixo submandibular-gonadal tem sido sugerida, e encontra apoio principalmente no fato de que a gonadectomia influencia as glândulas submandibulares (RAYNAUD, 1950; 1960) e estas tem influência sobre as gônadas (NARASIMHAN & GANHA, 1968; LEONORA; TIECHE e CELESTIN, 1987; LEONORA; TIECHE e STEIMAN, 1993).

Especificamente no que diz respeito a interrelação glândulas salivares e aparelho reprodutor feminino são vários os trabalhos encontrados na literatura. Assim é que Higashijo (1940) observou hipertrofia uterina após a remoção das glândulas submandibulares e amaria dos ductos parotídeos, em ratas jovens enquanto que Unna (1940); Gin e Volker (1941) verificaram que a remoção das glândulas salivares de ratas provoca distúrbios relacionados ao complexo vitamínico B e aos hormônios sexuais. É sabido ainda, que o fator de crescimento nervoso (NGF) provoca aumento do volume das glândulas salivares de camundongas ovariectomizadas injetadas com progesterona ou com uma associação de progesterona e estrógeno (BJORLING et al. 2002).

A extirpação das glândulas salivares de ratas, em período de crescimento, produz atraso no desenvolvimento dos órgãos reprodutores femininos, caracterizado pela atrofia de seus folículos ovarianos e da retenção do hormônio folículo estimulante (FSH) e luteinizante (LH) na hipófise (BIXLER; MULHER; SHAFER, 1957). Receptores para estrógeno (LEIMOLA-VIRTANEN et al., 2000) e progesterona foram identificados em glândulas salivares normais bem como em neoplasias que se originam destas glândulas (OZONO et al., 1992), sugerindo a influência desses hormônios na gênese dessas lesões e a possível resposta destas, a uma terapia hormonal (COLOMBO et al., 2003).

Trabalho sobre o efeito da sialodectomia na reprodução, realizado por Afonsky (1958) demonstra que a extirpação das glândulas salivares principais ocasionou marcada diminuição na capacidade de fecundação. Suddick (1960) verificou que as glândulas salivares de ratos, contêm uma substância que interfere na atividade normal dos órgãos sexuais, na reprodução e Lourides et al (1970) ao estudar o efeito da sialodectomia sobre o útero e ovário de ratas, constataram que o útero destes animais se mostrou atrófico enquanto que os ovários se apresentaram





imprevisivelmente menores e com atraso de maturação.

Também Matheus, Martinelli e Melhado (1976) ao estudarem morfológica e histoquimicamente a membrana pelúcida do óvulo de ratas parotidectomizadas, entre outras modificações, observaram que ocorria aumento de ácido hialurônico e ácido siálico a esse nível, aventando a hipótese de que tais achados poderiam explicar a razão pela qual, ratas submetidas à extirpação bilateral das glândulas salivares mostram esterilidade progressiva.

Ainda, Arcieri, Matheus e Matheus (2005) verificaram que a extirpação das glândulas principais em ratas, não só determina alterações na sua procriação que se apresenta diminuída em alguns animais e nula em outros, como também demonstraram que as maiores alterações ocorreram no grupo parotidectomizado que apresentou mais baixa capacidade de reprodução do que os animais do grupo sialoadenectomizado e submandibulectomizado.

Vários são também os trabalhos que, mesmo de forma indireta, evidenciam que a remoção das glândulas salivares principais gera diversas transformações e que nestes casos, as respostas biológicas frente a determinados experimentos, fogem aos padrões de normalidade. Assim, ao estudar histológica e histoquimicamente o tecido de granulação cicatricial de ratos submetidos à extirpação das parótidas e submandibulares Rulli (1969) constatou que comparativamente, a reparação cicatricial ocorria mais rapidamente nos animais experimentais do que nos controles correspondentes. Ao analisar histoquimicamente, as glândulas salivares de ratos tratados com glicocorticóides Melhado (1972) observou que nas glândulas salivares tais animais ocorria aumento de glicogênio, de ácido ribonucleico, de grupamentos amina, de grupamentos sulfidril, bem como aumento de ácido siálico.

O estudo da distribuição de glicogênio nos

ameloblastos, odontoblastos e epitélio bucal de filhotes de ratas salivariadenoprivas foi realizado por Arcieri (1973) que relatou diminuição da quantidade de glicogênio nas estruturas consideradas.

O tecido de granulação de ratos salivariadenoprivos submetidos a transplantes homólogos de pele foi estudado morfológicamente por Menezes (1973), tendo sido constatado que, nestes animais, tal tecido embora mais exuberante do que aquele observado nos controles correspondentes, exibiu menor grau de maturação.

Ao estudar morfológica e histoquimicamente o processo de reparo de fratura óssea em ratos parotidectomizados, Matheus (1973) verificou a ocorrência de antecipação na gênese e maturação tanto do tecido de granulação quanto do tecido ósseo neoformado; verificou ainda, que do ponto de vista histoquímico, houve nestes tecidos, aumento de glicogênio e de glicoproteínas bem como de ácido hialurônico e glicosaminoglicanas carboxiladas e sulfatadas.

Posteriormente, Matheus (1982) ao estudar morfológica e morfometricamente a evolução das glândulas parótidas e submandibulares de filhotes de ratas prenhes injetadas com diferentes doses de Parotin, verificou antecipação no desenvolvimento e diferenciação das parótidas e submandibulares; aumento da volumetria relativa do parênquima glandular; aumento do índice mitótico; aumento dos pesos corporal, glandular absoluto e glandular relativo da submandibular; hipertrofia e hiperplasia tanto da porção acinosa quanto da porção epitelial do parênquima da parótida e submandibular e aumento da atividade protéica na submandibular.

Ao estudarem o processo de reparo de feridas cutâneas de ratos hipotireoideos e parotidectomizados Moraes e Matheus (1980a) constataram que no hipotireoidismo experimental verifica-se retardo da cicatrização e que a parotidectomia promove aceleração na gênese e maturação do



tecido de granulação.

O transplante dental homólogo, em ratos parotidectomizados, foi objeto de estudo morfológico realizado por Menezes, Matheus e Melhado (1980) os quais verificaram que o tecido cicatricial que se forma ao redor do germe dental transplantado tem sua gênese e maturação retardada e que o germe transplantado atinge maior grau de desenvolvimento do que aquele observado nos controles correspondentes. Ainda Moraes e Matheus (1980b) constataram histologicamente, que a parotidectomia realizada previamente à indução do hipotireoidismo experimental, corrige parcialmente o retardo da gênese e maturação do tecido de granulação de feridas cutâneas, em ratos, que se mostra semelhante ao observado nos animais controles. Ao estudarem o efeito do Parotin sobre o processo de reparo em feridas de extração dental, em ratos, Carvalho, Matheus e Matheus (1988) confirmaram antecipação na cronologia do processo de reparo alveolar assim como modificações morfológicas das trabéculas ósseas que se mostraram escleróticas. Existe ainda a comprovação de que na hipofunção das glândulas salivares ocorre retardo na cronologia do processo de reparo alveolar em feridas de extração dental (DAYAN; BODNER; HOROWITZ, 1992).

Com relação às interferências metabólicas, além de já ter sido demonstrado que as glândulas salivares participam, especificamente, do metabolismo de carboidratos (ZIMMERMAN, 1932; BIRNKRANT, 1941; GODLOWSKI & CALANDRA, 1960; GODLOWSKI, 1962) e proteínas (YAMAGUCHI, 1954) sabe-se que elas também podem interferir no metabolismo geral do organismo. É sabido ainda que o crescimento e a integridade da dentina dependem do hormônio produzido na parótida (ZHANG et al., 2005).

Está comprovado ainda, que a sialoadenectomia, em ratos, ocasiona diminuição do crescimento e do peso corporal (HALDI & WINN, 1963;

NARASHIMHAN & GANHA, 1968; LIMA, 1978), o que para Pinheiro e Arruda (1978) pode caracterizar uma alteração endócrina e/ou metabólica, visto que nestes animais não são observadas alterações na ingestão, digestão e absorção da dieta administrada. Por outro lado, Plaza, Menendez-Patterson e Marin (1979) ao estudarem o efeito da extirpação das glândulas submandibulares de ratos sobre o metabolismo do sistema nervoso central, adrenais, tireóides e testículos, verificaram aumento da atividade metabólica nesses locais.

Deve-se ter ainda em conta que muito embora as submandibulares apenas auxiliem discretamente as parótidas na produção de parotin (TAKIZAWA, 1954; OGATA, 1955; ITO, 1960) sua função biológica ativa sobre o organismo fica caracterizada pela presença de estruturas especializadas, ou seja, dos ductos granulados, a partir dos quais tem sido isoladas diversas substâncias ativas, denominadas fatores. Dentre tais fatores citam-se: fator de crescimento nervoso (COHEN, 1960; HUMPEL; LINDQVIST e OLSON, 1993), fator de crescimento epidermal (COHEN, 1962; KAGAMI et al., 2000; YOUNG et al., 2004), fator de crescimento das células cardíacas (BAST & MILLS, 1963), fator de crescimento das células do tubo neural (ADLER & NARBAITZ, 1965), fator de crescimento das células mesenquimais (ATTARDI; SCHLESINGER e SCHLESINGER, 1967), fator depressor do sistema linfático (TAKEDA et al., 1967), fator letal das submandibulares relacionado ao sexo e influenciado por andrógenos (HOSHINO & LIN, 1968; 1969), fator de crescimento dos linfócitos tímicos (NAUGHTON et al., 1969), fator hemorrágico (LIN & HOSHINO, 1969), fator de crescimento das células epiteliais (JONES & SMITH, 1970), proteína supressora da mitose (BARKA, 1973), fator anticomplemento (WALLACE; PARTLOW e ELLIS, 1976), fator hiperglicemiante (LAWRENCE et al. 1977) assim como um polipeptídeo com atividade tóxica renal (PINHEIRO & ARRUDA, 1978; ARRUDA VEIGA, 1979).



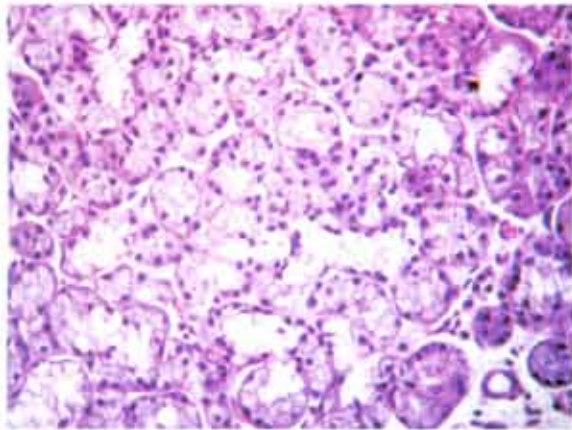


Fig. 3. Glândula Submandibular humana. Responsável pela síntese de NGF e EGF. H.E. 400X.

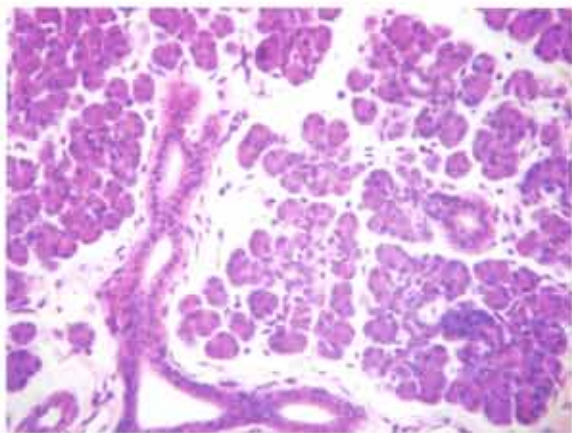


Fig. 4. Glândula Parótida cão. Observar ácinos e ductos. H.E. 100X.

A descoberta do fator de crescimento nervoso (NGF) e do fator de crescimento epidérmico (EGF) nas glândulas salivares abriu novas perspectivas de pesquisas básicas. Atualmente sabe-se que a estrutura química do fator de crescimento nervoso está constituída por uma cadeia de 118 aminoácidos e que está presente nos mamíferos, nos pássaros, nos répteis, nos anfíbios e nos peixes. A moderna tecnologia genética possibilitou a caracterização do NGF, no homem, inclusive mapeando os tecidos que o sintetizam. Estes achados associados ao NGF recombinante descoberto pela engenharia genética, abrem grande possibilidade para sua aplicação futura na clínica médica. Hodiernamente pesquisas de alto nível, associadas com aplicação prática, têm permitido a utili-

zação do NGF humano obtido através da biotecnologia, em programas de saúde mental, especialmente na tentativa de elucidar a patogênese de algumas malformações, erros de desenvolvimento, distrofias musculares, atraso no processo de cicatrização e aparecimento de alguns tipos de tumores. É importante ressaltar que o NGF parece exercer papel fundamental na prevenção de enfermidades do sistema nervoso central, dentre os quais se destaca a demência senil.

Nos mamíferos é o hormônio do crescimento (STH) liberado pela hipófise que regula o crescimento, após o nascimento. No entanto, o hormônio produzido pela hipófise (STH) não tem nenhuma atuação nas células em desenvolvimento na vida intra-uterina sendo que o crescimento, antes do nascimento, independe do STH. Assim, os mecanismos que regulam o crescimento pré-natal permaneceram desconhecidos por muito tempo. Contudo, Cohen (1962) ao pesquisar os efeitos do fator de crescimento nervoso (NGF) observou que injeções de extrato de glândulas salivares promovem a aceleração do crescimento e desenvolvimento de ratos recém-nascidos, concluindo pela existência de um outro fator nas glândulas salivares, além do NGF. Este novo fator recebeu a denominação de EGF tendo sido isolado, purificado e seqüenciado bioquimicamente. Teve ainda isolados e caracterizados seus receptores de membrana que também foram identificados em humanos. O EGF e o EGF recombinante tem sido largamente empregados em pesquisa básica e clínica, especialmente quando há necessidade de corrigir defeitos de cicatrização e estimular o crescimento e diferenciação de derivados ectodérmicos. Tais achados possibilitaram demonstrar o efeito estimulante de EGF sobre a proliferação e crescimento do câncer gástrico em camundongos, crescimento este que pode ser inibido pela sialadenectomia (OKUDA et al, 1994). Permitiram ainda relacionar o declínio da capacidade de procriação, com a diminuição da síntese de EGF em camundongos, assim como associar o fenômeno de apoptose com o fator de cresci-



mento epidermal, cuja redução leva a diminuição deste fenômeno na mucosa gástrica (MA et al., 1999).

Neste ano (2005) comemoram-se trinta e cinco anos da descoberta do fator de crescimento nervoso (NGF) por Rita Levi-Montalcini e do fator de crescimento epidermal (EGF) por Stanley Cohen, os quais foram indicados e receberam o Prêmio Nobel de Fisiologia e Medicina em 1986, pelo seu trabalho em glândulas salivares. Antes deste evento, milhares de trabalhos científicos haviam sido publicados e depois deste evento, centenas de milhares de pesquisas sobre glândulas salivares têm sido registrados na literatura mundial. Outras tantas estão em desenvolvimento, com tecnologia cada vez mais avançada.

Assim, a não ser por total desinformação, a ninguém mais que milite na área da saúde é dado o direito de desconhecer a importância das glândulas salivares nos diversos campos da ciência. Nenhum profissional da área de saúde pode continuar pensando que as glândulas salivares têm tão somente a exclusiva função biológica de produzir saliva para promover a lubrificação e limpeza da cavidade bucal, sem incorrer em grave erro de informação e interpretação.

### Estado atual da questão

De conformidade com a literatura, em 1919 ocorreu uma enfermidade endêmica, caracterizada por alterações ósseas e articulares, ou seja, uma artrose deformante endêmica acompanhada de atrofia afunção das glândulas salivares principais. Tal fato ocorreu inicialmente em um distrito no norte da Coreia. Mais tarde, em 1930, essa mesma enfermidade manifestou-se de forma endêmica, também em um distrito oriental da China e, pelas suas características foi denominada como sendo a Síndrome de Kashin-Beck (KBD).

Na década subsequente (1940), uma equipe de

cientistas japoneses pertencentes à Universidade de Tóquio, chefiada pelo professor Ogata que havia formulado a "teoria endócrina das glândulas salivares" (OGATA et al., 1934), utilizando a mesma água usada pelas populações ribeirinhas, onde graçava a enfermidade (KBD), conseguiu reproduzir referida síndrome em ratos de laboratório. A análise detalhada dos resultados obtidos permitiu-lhes concluir que a KBD resultava da deficiência de Parotin.

Detectada a etiologia da Síndrome de Kashin-Beck, Takizawa e Ogata (1950), recomendaram e instituíram como terapia para esta síndrome, a administração de Parotin. Os resultados foram totalmente favoráveis, tendo sido esta a primeira menção, na literatura, da utilização do hormônio salivar no tratamento de uma enfermidade (YAMAMURO, 2001).

Dados recentes da literatura demonstram, de maneira inequívoca, que as glândulas salivares vêm sendo vistas sob novo enfoque no qual fica evidente seu importante papel na fisiologia, histofisiologia, homeostasia, fisiopatologia e até na neurofisiologia animal e humana. Para restringir o assunto serão abordadas algumas facetas desta problemática relacionadas ao campo da fisiopatologia onde trabalhos diversos, mostram a relação das glândulas salivares com múltiplas situações, quer envolvendo aspectos etiopatogênicos, quer envolvendo aspectos terapêuticos curativos e até preventivos de algumas enfermidades.

Neste sentido chama sobremaneira a atenção que, talvez pelo fato de ser a imunodeficiência adquirida (AIDS) o flagelo universal do milênio, muitos pesquisadores têm direcionado seus estudos visando estabelecer a real importância do papel imunológico das glândulas salivares de modo geral, e no que se refere à AIDS, de modo particular.

Assim, O'Sullivan, Skandera e Montgomery (1993) e Nagler e Nagler (1999) apontam a exis-





tência de uma relação entre linfócitos e glândulas salivares admitindo, portanto, um comportamento imunológico destas glândulas.

Ao utilizar em suas pesquisas uma subunidade (PS) do Parotin, que é uma glicoproteína especial, Ishizaka, Kimitu e Tsujii (1994), conseguiram induzir a produção de anticorpos, cuja ação foi comprovada em linfócitos de camundongos e de humanos.

É também fato comprovado, a existência da associação da xerostomia e da hipofunção das glândulas salivares com a infecção pelo HIV tanto no homem quanto na mulher. Sabe-se, inclusive, que a prevalência da xerostomia e da hipofunção das glândulas salivares é mais elevada em pacientes soropositivos do sexo feminino, sendo que a depressão imunológica plasmática medida pela contagem de células CD4, confirma estes dados (NAVAZESH et al., 2000).

O papel imunológico das glândulas salivares é confirmado por Shugars et al. (1999) ao confirmar que a imunodeficiência adquirida, quando produzida pelo vírus tipo I (HIV I) raramente é transmitida por secreção salivar devido à presença de um inibidor viral contido na saliva. Estas características de proteção foram confirmadas, segundo os mencionados autores, em cultura de células intensamente infectadas pelo HIV. Pesquisa de Vargas (2003) confirma o envolvimento das glândulas parótidas em pacientes portadores de AIDS, especialmente nas fases mais avançadas da doença.

Ao estudarem o fluxo salivar da parótida de pessoas portadoras e não portadoras do vírus HIV, LIN et al. (2004), constataram a existência de um inibidor de protease de leucócito secretório (SLPI) encontrada na saliva de portadores da imunodeficiência adquirida, cuja função é a elevada atividade anti-HIV.

Ainda no campo da imunologia, estudo realizado

por Shirai et al (2000) sugere que a imunidade gástrica a *Helicobacter pylori*, assim como a indução e a manutenção da imunidade do estômago, dependem das glândulas salivares.

Segundo Mathison, Befus e Davison (1997), as submandibulares sintetizam peptídeos e proteínas que exercem ação moduladora sobre a inflamação, favorecendo a reparação cicatricial e, ao que tudo indica, participam da homeostasia através da produção de um fator regulador cardiovascular; exercendo ainda ação protetora no caso do choque anafilático.

No campo da oncologia também existem pesquisas mostrando aspectos relacionados com as glândulas salivares, especialmente enfocando os fatores de crescimento nervoso (NGF) e crescimento epidermal (EGF). Este último exercendo importante papel no fenômeno de apoptose e, portanto na destruição ou não de possíveis clones neoplásicos. Neste aspecto, Okuda et al (1994) relatam o efeito estimulante do EGF no crescimento do câncer gástrico humano transplantado para camundongos e o efeito inibidor desse crescimento neoplásico, quando se realiza a sialadenectomia. Ainda segundo Miksicek et al. (2002) a presença elevada de uma sialoglicoproteína específica no sangue pode, potencialmente, ser utilizada como parâmetro para o diagnóstico de metástases do câncer de pele.

No que se refere às doenças sistêmicas como a hepatite C, Arrieta et al. (2001), através das técnicas da hibridização "in vitro" e da imunohistoquímica, analisaram biópsias de pacientes portadores de hepatite C, tendo constatado que o vírus da hepatite não só está presente nas glândulas salivares como sua replicação ocorre no seu parênquima glandular.

Também é conhecido o envolvimento das glândulas salivares em pacientes com bulimia nervosa que de acordo com Metzger et al (1999) e Robertson e Millar (1999) sofrem hipertrofia das



glândulas salivares, acompanhada do aumento da amilase salivar.

Finalmente, a título de informação é importante ressaltar que muito embora o hormônio da parótida esteja sendo usado em vários países, como coadjuvante do tratamento de enfermidades diversas, é no Japão que acontece sua maior utilização. No Brasil, o Parotin teve seu uso bastante restrito, direcionado a pesquisas básicas desenvolvidas, principalmente, na década de 80, visando fornecer a contraprova de trabalhos onde a extirpação das glândulas salivares trouxe profundos reflexos sobre fenômenos biológicos diversos.

## Referências

- ADLER, R.; NARBAITZ, R. Action of rat submandibullary extract on neural tube growth in organ culture. **J. Embryol. Exp. Morph.**, 14:281-6, 1965.
- AFONSKY, D. Effects of desalivation in reproduction. **J. dent. Res.**, 37:956, 1958.
- ARCIERI, R.M. *Distribuição do glicogênio nos ameloblastos, odontoblastos e epitélio bucal de ratos nascidos de mães salivariadenoprivas. Estudo histoquímico.* Araçatuba: FOAç/UNESP, 1973. 89p. Originalmente apresentado como tese de Doutorado, Faculdade de Odontologia Campus de Araçatuba da Universidade Estadual Paulista.
- ARCIERI, R.M.; MATHEUS, G.; MATHEUS, M.T.G. Influência da parotidectomia e da administração de Parotin sobre o número de filhotes procriados em ratos. **Omnia**, 7, 2005.
- ARRIETA, J.J.; RODRIGUEZ-IÑIGO, E.; ORTIZ-MOVILLA, N.; BARTOLOMÉ, J.; PARDO, M.; MANZARBEITIA, F.; OLIVA, H.; MACÍAS, B.M.; CARREÑO, V. In situ detection of hepatitis C vírus RNA in salivary gland. **Am. J. Pathol.**, 158:259-64, 2001.
- ARRUDA VEIGA, M.C.F. *Purificação e caracterização de um peptídeo de glândulas submandibulares de camundongos machos com atividade tóxica renal.* Campinas: UNICAMP, 1979. 85p. Originalmente apresentado como tese de Mestrado, Instituto de Biologia/UNICAMP. Instituto de Biologia da Universidade de Campinas.
- ATTARDI, D.C.; SCHLESINGER, M.J.; SCHLESINGER, S. Submaxillary gland of mouse: Properties of a purified protein affecting muscle tissue in vitro. **Science**, 156: 1253-55, 1967.
- BAKER, B.L.; ABRAMS, G.D. Growth hormone (somatotropin) and the glands of the digestive system. In: SMITH Jr, R.W.; GAEBLER, H.O.; LONG, C.N.H. **The hypophyseal growth hormone, nature and secretions.** New York, McGraw Hill, 1954, p.107-22.
- BARKA, T. Partial purification of a mitotic suppressor from the salivary gland. **Exp. Molec. Pathol.**, 18:225-33, 1973.
- BAST, E.M.; MILLIS, K.S. Mouse submaxillary gland extract as a growth stimulator and orientor of chick cardiac cells in vitro. **Growth**, 72: 295-301, 1963.
- BIRNKRANT, W.B. The influence of the parotid gland on blood sugar. **J. Lab. clin. Med.**, 26:1009-11, 1941.
- BIRNKRANT, W.B.; SHAPIRO, R. The influence of a parotid extract on the blood sugar and structure of the pancreas of the rat. **J. Lab. clin. Med.**, 27:510-18, 1942.
- BIXLER, D.; MUHLER, J.C.; SHAFER, W.G. Effect of desalivation on adrenals, uterus and testes in the rat. **J. dent. Res.**, 34:909-14, 1955.
- BIXLER, D.; WEBSTER, R.C.; MUHLER, J.C.





- The histochemistry of the adrenal cortex following removal of the major salivary glands. **J. dent. Res.**, 35:547-54, 1956.
- BIXLER, D.; MUHLER, J.C.; SHAFER, W.G. The effects of salivariadenectomy on the reproductive organs of the female rats. **J. dent. Res.**, 36:559-65, 1957.
- BJORLING, D.E.; BECKMAN, M.; CLAYTON, M.K.; WANG, Z.Y. Modulation of nerve growth factor in peripheral organs by estrogen and progesterone. **Neuroscience**, 110:155-67, 2002.
- BURGER, A.S.V. Apud DECHAUME, M. Endocrinologie des glandes salivaires. **Revue Stomat.**, 59:339-49, 1958.
- BURGEN, A.S.V.; SEEMAN, P. The secretion of iodine in saliva. **Can. Biochem. Physiol.**, 35:481-9, 1957.
- COHEN, S. Purification of a nerve growth promoting protein from the mouse salivary gland and its neurocytotoxic antiserum. **Proc. nat. Acad. Sci.**, 46:306-11, 1960.
- COHEN, S. Isolation of a mouse submaxillary gland protein accelerating incisor eruption and eyelid opening in newborn animal. **J. biol. chem.**, 237:1555-62, 1962.
- COLOMBO, C.E.D.; FERREIRA, S.C.X.; JUNQUEIRA, J. C.; BALDUCCI, I.; CARVALHO, Y.R. Influência da ovariectomia na atrofia e na regeneração da glândula parótida : estudo histológico em ratas. **Cienc. Odontol Bras**, 6:70-8, 2003.
- DAVIDSON, D.; LEIBEL, B.S.; BERRIS, B. A sympatomatic parotid gland enlargement in diabetes mellitus. **Ann. Intern. Med.**, 70:31-8, 1969.
- DAYAN, D.; BODNER, L.; HOROWITZ, I. Effect of salivary gland hypofunction on the healing of extraction wounds: a histomorphometric study in rats. **J. Oral Maxillofac. Surg.** 40:354-8, 1992.
- DEMETRIOU, N.; THEODOSSIOU, A.; BAZOPOULOU-KARKANIDOU, E.; SOTIRIOU, B. Some histological observations on the pancreas, liver spleen of salivariadenectomized albino rats. **Odontoiatricka**, 70:261-2, 1970.
- DOBREFF, M. Compensatory hypertrophy of the parotid gland in presence of hypofunction of pancreatic islands. **Dt. Méd. Wschr.** 62:67-70, 1936.
- FARRONI, B. Funzione endócrina delle ghiandole salivare ed eliminazione degli zuccheri. **Riv. Crit. Clin. Méd.**, 12:577-93, 1911.
- FAWCETT, D.M.; KIRKWOOD, S. Role of the salivary glands in extrathyroidal iodine metabolism. **Science**, 120:547-8, 1954.
- FERRETI, G. Su due casi di ipertrofia delle parotidi in diabetici. **G. Clin. Méd.**, 17: 1149, 1936.
- GARTNER, L.P.; HIATT, J.L. **Tratado de Histologia em Cores**. 1. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, p.319, 1999.
- GINN, J.T.; VOLKER, J.F. Rustings in desalivated albino rats. **Endocrinology**, 31: 282-3, 1941.
- GODLOWSKI, Z.Z. Endocrine function of submaxillary glands. **Archs. Otolar**, 75: 346-363, 1962.
- GODLOWSKI, Z.Z. The role of submaxillary glands in homeostasis of insulin. **Diabetes**, 17:325-6, 1968.
- GODLOWSKI, Z.Z.; CALANDRA, J.C. Salivary glands as endocrine organs. **J. appl.**



- Physiol., 15:100-5, 1960.
- GODREE, 1881. Apud PAGET, S. The relation of the parotid to the generative organs. *Lancet*, 1:86, 1886.
- GORBMAN, A. Gen. Com. Endocr., 18: 266, 1958. Apud MASON, D.K.; HARDEN, R. McG; ALEXANDER, W.D. The salivary and thyroid glands. A comparative study in man. *Brit. Dent. J.*, 122:484-9, 1967.
- GRAD, B; LEBLOND, C.P. The necessity of testis and thyroid hormone for the maintenance of the serous tubules of the submandibular gland in the male rat. *Endocrinology*, 45:250-66, 1949.
- GUIMARÃES, A.; TEIXEIRA, D.; VIZIOLI, M.R.; VIEIRA, S. Efeitos da parotidectomia sobre o nível glicêmico e o teor de glicogênio hepático. *Rev. bras. Pesq. Méd. Biol*, 12:53-61, 1979.
- HALDI, J; WYNN, N. Effects of sialoadenectomy on weight gain and body composition of albino rats. *J. dent. Res.* 42:11-15, 1963.
- HALMOS, T; SAMOGYI, B. Investigations on the correlation between human saliva and carbohydrate metabolism. *Nagy Belor. Arch*, 15:220-5, 1962.
- HAMMETT, F.S.: Studies of the thyroid apparatus. XV. The growth of the heart, lungs, liver, kidneys, spleen, submaxillary glands and eyeballs in male and female albino rats thyro-parathyroidectomized and parathyroidectomized when 100 days of age. *Am. J. Anat*, 32:75-94, 1923.
- HARKIN, A. Connection between the parotid glands and the generative organs. *Lancet*, 1:374, 1886.
- HIGASHIJO, T. Soc. Path. Jap. Tr., 30:252, 1940. Apud GINN, J.T.; VOLKER, J.F. Rustings in desalivated albino rats. *Endocrinology*, 31:282-3, 1941.
- HIKI, Y.; BAN, T.; AKAZAKI, K.; TAKIZAWA, N.; MIYAZAKI, Y. Experimental studies on the salivary gland. *Trans. Jap. Path. Soc.* 20: 130-3, 1930.
- HOCKERS, T; LAMY, M. Oral dryness in geriatric patients. *Rev. Belg. Med. Dent.*, 54:41-50, 1999.
- HOSHINO, K.; DECKER, R.F.; MOLNAR, F.; KIM, Y.T. Hypoglycemic effects of salivary duct ligation upon diabetes mellitus, in mice. *Arch. Oral Biol.*, 21:105-11, 1976.
- HOSHINO, K; LIN, C.D. 1968 Transplantability of salivary glands of mice and its lethal effects on the host. *Anat. Rec.*, 46:329-34, 1968
- HOSHINO, K.; LIN, C.D. Lethal factor released from submandibular grafts in mice. *Can. J. Physiol. Pharmac.*, 46:329-34, 1969.
- HUMPEL, C.; LINDQVIST, E.; OLSON, L. Detection of nerve growth factor mRNA in rodents salivary glands with digoxigenin- and <sup>33</sup>P-labeled oligonucleotides: effects of castration and sympathectomy. *J Histochem Cytochem*, 41:703-8, 1993.
- ISHII, Z. Changes in the dental and peridental tissues in albino rats injected with parotid and submaxillary saliva of dog. *Trans. Jap. Path. Soc.*, 33:303-5, 1943.
- ISHIZAKA, S.; KIMITO, M.; TSUJII, T. Parotin subunit as a potent polyclonal B cell activator binds to newly found glycosylphosphatidylinositol (GPI)-anchored proteins on human B cells surfaces. *Cell Immunol.*, 154:430-9, 1994.





- ISTRATE, 1955. Apud NOVA CRUZ, J.L. Influência as sialoadenectomia sobre os testes de sensibilidade à insulina e de tolerância à glicose em cães. **Rev. Fac. Odont. Pelotas**, 5:43-70, 1964.
- ITO, Y. Parotin: a salivary gland hormone. **Ann.N.Y.Acad. Sci**, 85:228-310, 1960.
- ITO, Y; MIZUTANI, A. Studies on the salivary glands hormones. **J Pharm Soc Japan**. 72: 239-44, 1952.
- JONES, R.O.; ASHWOOD-SMITH, M.J. Some preliminary observations on the biochemical and biological properties of an epithelial growth factor. **Exp. Cell Res.**, 59: 161-3, 1970.
- KAGAMI, H.; HIRAMATSU, Y.; HISHIDA, S.; OKAZAKI, Y.; HORIE, K.; ODA, Y.; UEDA, M. Salivary growth factors in health and disease. **Adv. Dent. Res.**, 14:99-102, 2000.
- LACASSAGNE, A; CHAMORRO, A. Réaction a la testosterone de la glande sous-maxillaire, atrophiée consecutivement a l'hypophysectomie chez la souris. **C.R.Scanc. Soc. Biol. Fil**, 134:223-4, 1940.
- LAWRENCE, A.M. ; TAN, S. ; HOJVAT, S. ; KIRSTEIN, L. Salivary gland hyperglycemic factor : an extrapancreatic source of glucagon-like material. **Science**, 195:70-2, 1977.
- LEIMOLA-VIRTANEN, R.; SALO, T.; TOIKKANEN, S.; PULKKINEN, J.; SYRJÄNEN, S. Expression of estrogen receptor (ER) in oral mucosa and salivary glands. **Maturitas**, 36:131-7, 2000.
- LEONORA, J.; TIECHE, J.M.; CELESTIN, J. Physiological factors affecting secretion of parotid hormone. **Am J Physiol Endocrinol Metab**, 252:E477-E484, 1987.
- LEONORA, J.; TIECHE, J.M.; STEINMAN, R.R. Further evidence for a hypothalamus-parotid gland endocrine axis in the rat. **Arch Oral Biol**, 38:911-6, 1993.
- LEVI-MONTALCINI, R. The nerve growth factor; thirty-five years later. **Physiology or Medicine – Nobel lecture**, 349-369, 1986.
- LIMA, J.E.O. *Influência da remoção das glândulas salivares maiores sobre o ganho de peso corporal e o desenvolvimento ósseo do rato*. Bauru: FOB/USP, 1978. 96p. Originalmente apresentado como tese de Doutorado, Faculdade de Odontologia de Bauru da Universidade de São Paulo.
- LIN, A.L.; JOHNSON, D.A.; STEPHAN, K.T ; YEH, C.K. salivary secretory leukocyte protease inhibitor increases in HIV infection. **J Oral Pathol Med**, 33:410-6, 2004.
- LIN, C.D.; HOSHINO, K. Hemorrhagic phenomena caused in the host mice by submandibular gland isographs from males. **Proc. Can. Fed. Biol. Soc.**, 12:8-21, 1969.
- LIN, C.C.; SUN, S.S. KAO, A.; LEE, C.C. Impaired salivary function in patients with noninsulin-dependent diabetes mellitus with xerostomia. **J. Diabetes Complications**, 16:176-9; 2002.
- LOURIDES, O; THEODOSSIOU, A.; BAZOPOULOU, E; DEMETRIOU, N. Total sialoadenectomy effect on the uterus and ovaries of the albino rat. **Odontiatrike**, 5: 258-60, 1970.
- LUCAS, D.R.; PEAKMAN, E.M.; SMITH, C. The effect of insulin steroid and other hormones on the survival of the rat salivary gland in organ culture. **Exp. Cell. Res.** 60: 262-8, 1970.
- MA, L; WANG, W.P.; CHOW, J.Y.; YUEN, S.T.; CHO, C.H. Cigarette smoke increases apoptosis in the gastric mucosa: role of epidermal growth factor. **Digestion**, 60:461-8, 1999.



- MATHEUS, G. *Processo de reparo de fratura óssea em ratos parotidectomizados. Estudo morfológico e histoquímico*. Originalmente apresentado como tese de Doutorado, FOAç/UNESP, 1973. 103p. Faculdade de Odontologia Campus de Araçatuba da Universidade Estadual Paulista.
- MATHEUS, G. *Estudo morfológico e morfométrico das glândulas parótida e submandibular de animais nascidos de ratas injetadas com Parotin*. Originalmente apresentado como tese de Livre-Docência, FOAç/UNESP, 1982. 164p. Faculdade de Odontologia Campus de Araçatuba da Universidade Estadual Paulista.
- MATHEUS, G.; MARTINELLI, C.; MELHADO, R.M. Estudio morfológico e histoquímico de la membrana pelúcida del óvulo de ratas parotidectomizadas. **Rev. Cub. Med.**, 15:25-46, 1976.
- MATHISON, R.D.; BEFUS, A.D.; DAVISON, J.S. A novel submandibular gland peptide protects against endotoxic and anaphylactic shock. **Am. J. Physiol.**, 273:1017-23, 1997.
- MELHADO, R.M. *Estudo histoquímico das glândulas salivares (parótidas, submandibulares e sublinguais) de ratos tratados com dexametasona 21-fosfato*. Originalmente apresentado como tese de Doutorado, FOAç/UNESP, 1972. 72p. Faculdade de Odontologia Campus de Araçatuba da Universidade Estadual Paulista.
- MELVIN, J.E.; Chloride channels and salivary gland function. **Crit. Rev. Oral. Biol. Med.**, 10: 199-209, 1999.
- MENEZES, Ernaldo de Freitas. *Tecido de granulação cicatricial em ratas salivariadenoprivas submetidas a transplante homólogo de pele*. Originalmente apresentado como tese de Doutorado, FOAç/UNESP, 1973. 46p. Faculdade de Odontologia Campus de Araçatuba da Universidade Estadual Paulista.
- MENEZES, E.F.; MATHEUS, G.; MELHADO, R.M. Transplantes dentais homólogos em ratos salivariadenoprivos. Estudo histológico. **Ars. Cvr. Odont.**, 7:225-9, 1980.
- METZGER, E.D.; LEVINE, J.M.; McARDLE, C.R.; WOLFE, B.E.; JIMERSON, D.C. Salivary gland enlargement and elevated serum amylase in bulimia nervosa. **Biol Psychiatry**, 45:1520-2, 1999.
- MORAES, N.P.; MATHEUS, G. Estudo histológico do tecido de granulação de feridas cutâneas de ratos hipotireoideos e parotidectomizados (I). **Rev. bras. pesq. méd. Biol.**, 13:173-82, 1980a.
- MIKSICEK, R.J.; MYAL, Y.; WATSON, P.H.; WALKER, C.; MURPHY, L.C.; LEYGUE, E. Identification of a novel breast-and salivary gland-specific, mucin-like gene strongly expressed in normal and tumor human mammary epithelium. **Cancer Res.**, 62:2736-40, 2002.
- MORAES, N.P.; MATHEUS, G. Estudo histológico do tecido de granulação de feridas cutâneas de ratos hipotireoideos e parotidectomizados hipotireoideos (II). **Rev. ciênc. Bioméd.**, 1:63-71, 1980b.
- MYANT, N.D. Iodine metabolism of salivary glands. **Ann. N.Y. Acad. Sci.**, 85:208-14, 1960.
- NAGLER, R.M.; NAGLER, A. Major salivary gland involvement in graft-versus-host disease: considerations related to pathogenesis, the role of cytokines and therapy. **Cytokines Cell Mol Ther.**, 5: 2327-32, 1999.
- NARASHIMHAN, M.J.; GANHA, V.G. The regulatory influence of the submandibular salivary gland on growth. **Ann. Endocr.**, 29: 513-22, 1968.





- NAUGHTON, M.A.; KOCK, J.; HOFFMAN, H.; BENDER, V.; HAGOPIAN, H.; HAMILTON, E. Isolation and activity of a thymocyte transforming factor from the mouse submaxillary gland. **Exp. Cell. Res.**, 57:95-103, 1969.
- NAVAZESH, M.; MULLIGAN, R.; KOMAROFF, E.; REDFORD, M.; GREENSPAN, D.; PHELAN, J. The prevalence of xerostomia and salivary gland hypofunction in a cohort of HIV-positive and at-risk women. **J Dent Res**, 79:1502-7, 2000.
- OGATA, T. Ueber die innere Sekretion der mundspescheldrüsen. Trans. 9th Congress Far. Eastern. **Ass. Trop. Med.**, 2: 709-713. 1934. Apud OGATA T. The internal secretion of salivary gland. **Endocr. Jap**, 2:247-61, 1955.
- OGATA, A; ITO, Y.; NOZAKI, Y.; OKABE, T; ISHIT, Z. Chemical and pathological studies on the isolation of salivary hormone. **Igaku-to-Seibutsugaku**, 5:253-7, 1944.
- OGATA, T. The internal secretion of salivary gland. **Endocr. Jnp**, 2:247-61, 1955.
- OKUDA, T; ONDA, M.; TOKUNAGA, A.; SUGISAKI, Y. Stimulatory effect of EGF and inhibitory effect of sialoadenectomy on growth of an EGF receptor-hyperproducing human gastric cancer xenograft in nude mice. **Surg. Today**, 24:725-33, 1994.
- O'SULLIVAN, NL; SKANDERA, C.A.; MONTGOMERY, P.C. The specificity of adhesive interactions between rat lymphocytes and salivary gland epithelia. **Cell Immunol.**, 169:142-51, 1996.
- OZONO, S.; ONOZUKA, M.; SATO, K.; ITO, W. Immunohistochemical localization of stradiol, progesterone receptor in human salivary glands and salivary adenoid cystic carcinomas. **Cell Struct. Funct**, 17:169-75, 1992.
- PAGET, S. The relation of the parotid to the generative organs. **Lancet**, 1:86, 1886.
- PARMON, C.I.; BABES, A.E.; PETREA, I. Endocrinologie des glandes salivaires. Bibliothèque Médicale Editoria Academei Republicii populare Romine, 1957. Apud ARRANZ, I.L. Correlación endócrina glândulas salivales-testiculos. **Ann. Es. Odont. Estomatol**, 34:215-26, 1975.
- PINHEIRO, C. E.; ARRUDA, M.C. Purificação e caracterização de um peptídeo em glândulas submandibulares de camundongos com atividade tóxica renal. In: VII REUNIÃO DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE BIOQUÍMICA, 1978, Caxambu, **Anais da VII Reunião as Sociedade Brasileira de Bioquímica**. Caxambu: p.D1, 1978.
- PLAZA, A.V.; MENENDEZ-PATTERSON, A.; MARIN, B. Effects of the extirpation of submandibular salivary glands on the oxidative activity of nervous and glandular structures in the male rat. **Arch. Oral. Biol.**, 24:245-7, 1979.
- RAYNAUD, J. Action locale de la testosterone injectée dans la glande sous-maxillaire de la souris. **C. R. Acad. Sci.**, 230:2045-7, 1950.
- RAYNAUD, J. Controle hormonal de la glande sous maxillaire de la souris. **Bull. Biol. Fr. Belg.**, 94:399-523, 1960.
- ROCHA, E. M.; LIMA, M.H.; CARVALHO, C.R.; SAAD, M.J.; VELLOSO, L.A. Characterization of the insulin-signaling pathway in lacrimal and salivary glands of rats. **Curr. Eye Res**, 21:833-42, 2000.
- ROBERTSON, C.; MILLAR, H. Hyperamylasemia in bulimia nervosa and hyperemesis gravidarum. **Int J Eat Disord**, 26:223-7, 1999.
- RULLI, Mauro Ayrton. *Contribuição ao estudo*



*morfológico e histoquímico do tecido de granulação cicatricial em ratos após a extirpação das glândulas parótidas e submandibulares*. FOAç/UNESP, 1969. 65p. Originalmente apresentado como tese de Doutorado, Faculdade de Odontologia Campus de Araçatuba da Universidade Estadual Paulista.

SEELIG S. Ueber beziehungen zwischen parotis, pancreas, blutzucker und diabetes mellitus. **Klin. Wschr.**, 7:1228-32, 1928.

SHAFER, W.G; MUHLER, J.C. The effects of desiccated thyroid, propylthiouracil, testosterone and fluorine on the submaxillary glands of the rat. **J. dent. Res.**, 6:922-9, 1956.

SHAFER, W.G; MUHLER, J.C. Endocrine influence upon salivary glands. **Ann. N. Y. Acad. Sci.**, 85:215-7, 1960.

SHIRAI, Y; WAKATSUKI, Y; KUSUMOTO, T; NAKATA, M; YOSHIDA, M.; USUI, T; IIZUKA, T.; KITA, T. Induction and maintenance of immune effector cells in the gastric tissue of mice orally immunized to *Helicobacter pylori* requires salivary glands. **Gastroenterology**, 118:749-59, 2000.

SHUGARS, D.C.; ALEXANDER, A.L.; FU, K.; FREEL, S.A.. Endogenous salivary inhibitors of human immunodeficiency virus. **Arch Oral Biol**, 44:445-53, 1999.

SUDDICK, P.R. Effect of salivariadenectomy and administration of salivary gland hormone upon the reproductive organs of the female rats. **J. dent. Res.**, 30: 554-71, 1960.

TAKEDA, T; IAMASAKI, Y; YAMABE, H; SUZUKI, W; HAEBARA, H; IRINI, T; GROLIMAN, A. Atrophy of the lymphoid tissues of mice induced by extracts of the submaxillary gland. **Proc. Soc. Exp. Biol. Med.**, 126:212-7, 1967.

TAKIZAWA, N. A pathological research on the

internal secretion of salivary glands. **Acta path. Jap.**, 4:129-66, 1954.

TIECHE, J.M.; LEONORA, J.; STEINMAN, R.R. 1980. Apud ZHANG, Q; SZALAY, A.A.; TIECHE, J.-M.; KYEYUNE-NYOMBI, E.; SANDS, J.F.; OBERG, K.C.; LEONORA, J. Cloning and functional study of porcine parotid hormone, a novel proline3-rich protein. **J. Biol. Chem.**, 280:22233-44., 2005.

TIECHE, J.-M.; LEONORA, J. Biological and chemical for the existence of a porcine hypothalamic parotid hormone-releasing factor. **Biochem. Biophys. Res. Commun.** 159:899-906, 1989.

TIECHE, J.-M.; LEONORA, J; STEINMAN, R. R. 1980. Isolation and partial characterization of a porcine parotid hormone that stimulates dentinal fluid transport. **Endocrinol** 106:1994-2005

TÜZÜN, E; HATEMI, A.C.; MEMISOGLU, K. Possible role of gangliosides in salivary gland complication of diabetes. **Med. Hypotheses**, 54:910-2, 2000.

UNNA, K.J. Nutrition, 20: 565, 1940. Apud GINN, J.T; VOLKER, J.F. Rustings in desalivated albino rats. **Endocrinology**, 31:282-3, 1941.

URBAN, T.J.; SUDDICK, R.P. A change in gonadotropic cells of the pituitary gland of the rat alter salivariadenectomy. **J. dent. Res.**, 43:769-70, 1964.

UTIMURA, S. 1927. Apud. GLASMAN, F. Atividade endócrina de las glândulas salivares. **Semana Méd.**, 10:1287-90, 1964.

VARGAS, P.A.; MAUAD, T; BOHM, G.M. ET AL. Parotid gland involvement in advanced AIDS. **Oral Dis.**, 9:55-61, 2003.

WALLACE, L.J.; PARTLOW, L.M.; ELLIS, M.





Alfa adrenergic regulation of the secretion of an anticomplementary factor in mouse saliva. **Proc. Soc. Exp. Biol. Med.**, 152:99-102, 1976.

WASE, A.W.; FENG, Y.S.L. Effect of sialoadenectomy on thyroid activity. **Nature**, 177:624-5, 1956.

WEN, X.; LIN, H.H.; ANN, D.K. Salivary cellular signaling and gene regulation. **Adv. Dent. Res.**, 14:76-80, 2000.

YAMAGUSHI, T. On the relation of the endocrine functions and the protein metabolism. **Clin. Endocr.**, 2:1022-6, 1954.

YAMAMOTO, R. ; IISHI, H.; TATSUTA, M.; TSUJI, M.; TERADA, N. Inhibitory effects of sialoadenectomy on hepatocellular tumorigenesis in male mice induced by 3'-methyl-4-dimethylaminoazobenzene. **Virchows Arch.**, 425:79-82, 1994.

YAMAMURO, T. Kashin-Beck disease: a historical overview. **Int Orthop.**, 25:134-7, 2001.  
YARAT, A.; TUNALI, T.; PISRICILER, R.; AKYUZ, S.; IPBUKER, A.; EMECLI, N. Salivary thromboplastic activity in diabetes and healthy controls. **Clin. Oral Investig**, 8: 36-9, 2004.

YOUNG, W.G.; RAMIREZ-YÁÑEZ, G.O.; DALEY, T.J.; SMID, J.R.; COSHIGANO, K.T.; KOPCHICK, J.J.; WATERS, M.J. Growth hormone and epidermal growth factor in salivary glands of giant and dwarf transgenic mice. **Histochem. Soc.**, 52:1191-97, 2004.

YUASA, H. Experimental studies on the absorptive function of the striated tubules of the salivary gland. **Trans. Jap. Path. Soc.**, 30:244-56, 1940.

ZHANG, Q; SZALAY, A.A.; TIECHE, J-M.; KYEYUNE-NYOMBI, E.; SANDS, J.F.; OBERG, K.C.; LEONORA, J. Cloning and functional study of porcine parotid hormone, a novel proline3-rich protein. **J. Biol. Chem.**, 280:22233-44., 2005.

ZIMMERMAN, L.M. Effect of ligation on the parotid ducts on the carbohydrate tolerance of normal dogs. **Arc. Inter. Med**, 49:409-20, 1932.



## Prevalência e avaliação de mastigação unilateral em crianças com perda precoce de elementos dentários por cáries dentárias em Adamantina / SP / Brasil em 2004.

*Prevalence and valuation of unilateral chewing in children with precocious loss dental elements by dental caries in Adamantina/SP/Brazil in 2004.*

**Giancarlo Baggio Parisoto**

Mestre em Odontologia Preventiva e Social Araçatuba – UNESP e professor na FAL.

**Artenio José Ispere Garbin**

Doutor em Ortodontia - Unicamp e Prof. Assistente Doutor Araçatuba - UNESP.

### Resumo

A má oclusão (nas suas variadas classificações) é considerada um problema da saúde pública, como a cárie e a doença periodontal e podem ser provocadas pela ação de fatores intrínsecos (genéticos) e/ou extrínsecos (ambientais). O presente artigo tem como finalidade analisar a relação existente entre o tipo de mastigação e as alterações simétricas dentárias e/ou faciais em escolares (n=51) matriculados em instituição pública de ensino e residentes no município de Adamantina / SP / Brasil, na faixa etária de 6 a 12 anos, que apresentam quadro clínico de lesões cariosas ativas. Os resultados apontam 51% dos participantes classificados como portadores de lesões cariosas extensas. Com relação ao modo mastigatório, dos 25 pacientes com cáries ativas apenas 16% demonstraram mastigação bilateral; 48% mastigação unilateral direita e 36% com mastigação unilateral esquerda. Com relação aos possíveis desvios dentários potencialmente provocados pelo hábito da mastigação unilateral, dentre os pacientes sem esta condição (portanto com linha média dentária preservada) apenas 13,73% possuem o hábito de mastigação bilateral; 27,45% apresentaram mastigação unilateral esquerda e 41,18% mastigação unilateral direita. Para a situação de desvio médio facial, dentre os

pacientes não portadores desta condição (portanto com linha média facial preservada) apenas 5,88% apresentaram mastigação bilateral; 11,76% mastigação unilateral esquerda 19,61% mastigação unilateral direita. Podemos concluir que o hábito da mastigação unilateral pode ser provocado por diversas situações como a presença de lesões cariosas extensas que provoquem desconforto ou dor. A situação de desvio de linha média dentária pode se instalar se as lesões cariosas ativas implicarem na perda das dimensões coronárias originais dos elementos dentários envolvidos. A situação de desvio de linha média facial pode ser provocada quando o hábito da mastigação unilateral interferir no crescimento e desenvolvimento das bases ósseas faciais.

### Palavras-chave

má oclusão – mastigação unilateral

### Abstract

Hard obliteration (in its several classifications) is considered a public health problem, as caries and periodontal disease and may be provoked by the action of intrinsic (genetic) and/or extrinsic





(environmental). The main purpose of this subject is to analyze the comparison that exists between all sorts of chewing and its symmetrical dental and/or facial alterations in students (n=51) from public school who live in Adamantina /SP/ Brazil, whose age is from 5 to 12 years old, with a clinic result of active carious lesions. These results point us that 51% of these classified students have large carious lesions. With regard to chewing from 25 patients with active caries only 16% demonstrated bilateral chewing; 48% right unilateral chewing and 36% with left unilateral chewing. With regard to possible dental deviations potentially provoked by the custom of unilateral chewing among the patients without this condition (therefore with preserved dental medium line) only 13,73% have the custom of bilateral chewing; 27,45% presented left unilateral chewing and 41,18% right unilateral chewing. For the situation of facial medium deviation, among the patients who do not have this condition (therefore with preserved facial medium line) only 5,88% presented bilateral chewing; 11,76% left unilateral chewing; 19,61% right unilateral chewing. We must conclude that the custom of unilateral chewing may be provoked by several situations as the presence of large carious lesions which provoke discomfort or ache. The situation of the facial medium line deviation may be settled down if the active carious lesions cause loss of original coronary dimensions of the involved dental elements. The situation of facial medium line deviation may be provoked when the unilateral chewing custom interferes in the growth and development of the facial osseous basis.

### Key-word

Malocclusion – unilateral chewing

### Introdução

A classe odontológica tem revisito algumas de suas idéias sobre a Ortodontia. Angle (1907) classificava “a má oclusão como a perversão das rela-

ções normais dos elementos dentários”. Quanto a sua origem, a má oclusão pode possuir etiologia genética pertencente à carga genética do indivíduo ou possuir fundo epigenético ou ambiental, (King, 1980). Porém, grande parte dos odontopediatras, atualmente, acredita que muitos tratamentos relacionados à Ortodontia (consideradas como “demorados”) durante a adolescência, podem ser evitados através de medidas preventivas quando a criança possui 4, 5 ou 6 anos de idade. Oclusão normal é o posicionamento aceitável dos dentes em cada arcada e entre as duas arcadas ou “encontro ótimo entre os dentes superiores e inferiores durante a função com ausência de má oclusão”. Já a má oclusão seria “um desvio da oclusão normal nas relações intramaxilares e intermaxilares dos dentes” (AAO, 1993). Para Moyers (1993) a classificação das más oclusões pode ser feita segundo a área onde as respectivas causas atuam, ou seja, osso, dentes, sistema neuro-muscular e tecidos moles. Carlson et al. (1993) realizaram pesquisas experimentais e comprovaram que o masseter e os músculos pterigóideos laterais desempenham um papel importante no crescimento da cartilagem condilar da mandíbula. Joondeph (2000) preconiza que a causa das assimetrias faciais pode ser funcional, esquelética, dentária ou a combinação das três. Subtelny (2000) afirmou que o crescimento acelerado da mandíbula geralmente resulta em assimetrias faciais, precoces, sutis as vezes que não são percebidas, a não ser mais tarde quando as possibilidades de correção já passaram.

### Proposição

O presente artigo tem por objetivo verificar as alterações de mastigação, desvios de linha média dentária e facial, provocados por cáries dentárias e/ou perdas precoces dentárias em escolares matriculados em instituição pública de ensino.

### Material e Métodos

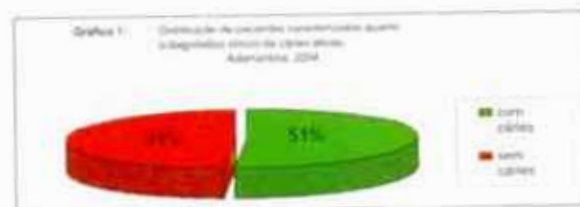
Para a realização deste estudo, foram dados os devidos esclarecimentos a respeito dos procedi-



mentos a serem realizados, como os exames intrabuciais (para detecção de cáries ativas e análise da linha média dentária) e extrabuciais (análise da linha média facial com aparato previamente preparado) aos pais de 51 escolares matriculados em instituição pública de ensino e residentes no município de Adamantina/SP - Brasil, na faixa etária de 6 a 12 anos, que apresentam quadro clínico de lesões cariosas ativas. Foram também esclarecidos os riscos e benefícios que a pesquisa traria, com posterior assinatura dos respectivos consentimentos, satisfazendo as exigências da resolução 196/96.

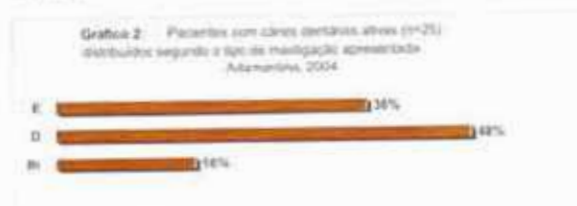
### Resultados e Discussão

A interpretação dos dados mostra a existência de possível interação fisiológica entre situações clínicas distintas como a presença de cáries ativas (extensas); desvios de linha média dentária; desvios médios faciais, todas elas culminando em uma má oclusão. O Gráfico 1 demonstra a distribuição de casos de lesões cariosas ativas nos examinados (n=51).



Nos examinados "portadores de cáries ativas" foram observadas situações clínicas distintas. O hábito rotineiro de "mastigar os alimentos" faz com que o indivíduo tenha a opção de mastigar bilateralmente. Porém, com a presença de cáries ativas e/ou perdas precoces (dentárias) este mesmo hábito pode levar o indivíduo a utilizar um único lado facial para tal finalidade (lado de trabalho) onde o desconforto e/ou dor provocados por tais situações pode, portanto, ser o determinante na instalação de um quadro clínico/fisiológico de mastigação unilateral – direita ou esquerda. O Gráfico 2 apresenta a distribuição percentual dos examinados (com cáries) segundo o tipo de mastigação apresentado. Neste, o hábito da

mastigação bilateral, na presença de cáries ativas, não é maioria nos casos, estando então em concordância com o estudo de Arrow (1997) que coloca a perda dentária de elementos dentários (como os primeiros molares) por cáries podendo ser a causa de alterações no padrão de mastigação habitual e ATM.



BI – mastig. bilateral E – mastig. do lado esquerdo  
D – mastig. do lado direito

É importante salientar que a escolha do lado de mastigação, pelo indivíduo, depende: do dente envolvido pelo processo carioso; do nível de desconforto provocado pela própria lesão e da textura dos alimentos (fibrosos ou não).



BI – mastig. bilateral E – mastig. do lado esquerdo  
D – mastig. do lado direito

A simetria facial é a característica clínica mais prevalente nos examinados, de acordo com os exames. Entre as possíveis situações (de interesse nas análises) na caracterização do lado de desvio médio facial é possível apontar provável relação (de proporção) na distribuição dos casos de desvio de linha média facial sendo influenciada conforme o lado de mastigação "instituído". Segundo o Gráfico 4 nos pacientes classificados como portadores de linha média facial preservada: 5,88% apresentaram mastigação bilateral; 11,76% foram apontados como portadores de mastigação unilateral esquerda; 19,61% diagnosticados com mastigação unilateral direita, estando





estes dados de acordo com Elias (2001) que preconiza a má oclusão geralmente associada a desvio mandibular do lado da deformidade, provocando assim uma assimetria facial relacionada ao desvio provocado, porém, passada a fase de crescimento, essa deformidade poderá se tornar esquelética por estimulação de um lado e restrição do desenvolvimento do outro.



BI – mastig. bilateral LE – mastig. do lado esquerdo  
LD – mastig. do lado direito

Quando o ponto de partida é a posição clínica da linha média dentária (preservada ou desviada - para direita ou esquerda) apenas 13,73% dos examinados tinham mastigação bilateral e linha média dentária preservada, sendo possível portanto, à relação entre o lado de desvio médio dentário instituído sendo estabelecido pela influencia das forças musculares do lado habitual de mastigação (conforme o Gráfico 5) devido ao fato de que o crescimento e desenvolvimento ósseo local são regidos pela maior (e/ou menor) ação estimuladora muscular, de acordo com trabalhos de Urias (1994) "...onde hábitos bucais considerados nocivos podem prejudicar o crescimento e desenvolvimento do processo alveolar..." e Schmid et al. (1991) que afirmam que a imediata detecção de um deslocamento mandibular durante a fase de crescimento é muito importante, pois uma intervenção nesta fase pode prevenir a ocorrência de uma assimetria estrutural (de adaptação) sendo possivelmente evitado um tratamento complexo mais tarde.



BI – mastig. bilateral LE – mastig. do lado esquerdo  
LD – mastig. do lado direito

O Gráfico 6 apresenta a distribuição dos pacientes (n=51) segundo o diagnóstico clínico de perdas dentárias (provavelmente) provocadas por cáries extensas.



BI – perda bilateral LE – perda do lado esquerdo  
LD – perda do lado direito

## Conclusão

Conforme interpretação dos dados, é possível concluir que:

- O hábito da mastigação unilateral pode influenciar o crescimento e desenvolvimento das bases ósseas faciais, podendo ser provocado por diversas situações como a presença de lesões cáries extensas que provoquem desconforto ou dor.
- A situação de desvio de linha média dentária pode se instalar se as lesões cáries ativas implicarem na perda das dimensões coronárias originais dos elementos dentários envolvidos.
- A situação de desvio de linha média facial pode ser provocada quando a mastigação unilateral interferir no crescimento e desenvolvimento das bases ósseas faciais.

## Referências

AMERICAN ASSOCIATION OF ORTHODONTISTS – Glossary of Dentofacial orthopedic terms. St. Luis: 1993. 31p.

ALMEIDA, R. R. de; FÊO, P. S.; MARTINS, D. R. Influência da fluoretação na prevalência de má oclusões. *Estomat. Cult.*, 4:35-42, jan./jun., 1970.



- ARROW, P. Control of occlusal caries in the first permanent molars by oral hygiene. **Community Dent Epidemiol.**, 45:278-83, 1997.
- ANGLE, E. H. **Treatment of malocclusion of the teeth: Angle's System.** The S. S. Withe Dental Manufacturing Co., 7. ed., Philadelphia, 628p., 1907.
- DOCKRELL, R. Classifying etiology of malocclusion. **Dent Rec**, 72:25, 1952.
- ELIAS, A. A. L.; IMAMURA, F. M. A. Mordida Cruzada com Assimetria Facial Tratamento Combinado Ortodontia Fixa e Aparelhos Removíveis. **Jornal Brasileiro de Ortopedia Facial.** 31, 2001.
- JOONDEPH, D. R. Mysteries of asymmetries. **Am. J. Orthod. Dentofacial Orthop.**, 117: 577-579, 2000.
- KING, E. W. Discussion. **Angle Orthod.**, Appleton, 50: 86-7, 1980.
- MOYERS, R. E. **Ortodontia.** Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 4. ed., 483p., 1993.
- MOYERS, R. E.; CARLSON, D. S. Manutenção da musculatura orofacial. In: ENLOW, D. **Crescimento Facial.** 3. ed. Porto Alegre: Artes Médicas, p.260-271, 1993.
- RAKOSI, T. **apud** GRABER, T. M.; NEUMANN, B. **Aparelhos ortodônticos Removíveis.** São Paulo: Panamericana, p.69-100, 1987.
- SUBTENLY, J. D. **Early Orthodontic Treatment. On Half of a Class II malocclusion: subdivision – skeletal maxilla or mandible dentition.** Chicago: Quintessence, 2000.





## Normas para publicação

Revista Omnia-Saúde, das Faculdades Adamantinas Integradas – FAI, tem por objetivo publicar artigos nas seguintes formas: Trabalhos Originais, Revisão de Literatura, Relato de Casos, Resenhas, Notas e Informações. A Revista reserva-se o direito de submeter os originais à apreciação do Conselho Editorial que dispõe de plena autoridade para decidir sobre a conveniência de sua aceitação, podendo, inclusive reapresentá-los aos autores com sugestões para que sejam feitas as alterações necessárias e/ou para que sejam adaptados às normas editoriais da revista. Os artigos não selecionados poderão ser novamente apreciados por ocasião das edições seguintes ou serão devolvidos aos autores. Os artigos serão avaliados por pareceristas de comprovada competência, cujos nomes permanecerão em sigilo.

Os trabalhos poderão ser entregues em disquetes ou CD, acompanhados de uma cópia impressa em lauda padrão, fonte **Times New Roman 12**, em **espaçamento simples**. Alguns termos ou frases que o autor queira dar destaque, deverá fazê-lo em **negrito**. Poderão também ser enviados através do e-mail: [omniasaude@fai.com.br](mailto:omniasaude@fai.com.br) e somente serão oficialmente considerados entregues, quando do retorno do e-mail acusando seu recebimento.

Os trabalhos originais devem conter: Introdução, Material e Métodos, Resultado, Discussão, Conclusão e Referências. **Agradecimento**, quando existir, deverá situar-se precedendo as Referências.

A primeira página deve conter o **título** (em português e inglês, em caixa baixa); **nome do autor ou autores**; **título** e **instituição a que pertencam os autores**; **resumo**; **palavras-chave** (quatro palavras ou expressões); **abstract**; **key-words**. A **introdução** deverá iniciar no topo da página.

A separação entre parágrafos deve ser feita em **dois espaçamentos simples** e sem a utilização da tecla **Tab** para marcar o recuo do parágrafo.

As notas de rodapé devem ser evitadas e somente aceitas para informações adicionais ou esclarecimentos necessários.

As referências acompanham as normas 6023/02 e 10520/01 da ABNT e obedecem a ordem alfabética dos sobrenomes dos autores. As obras de responsabilidades de entidades (órgãos governamentais, empresas, associações, congressos, seminários) têm entrada, de modo geral, pelo seu próprio nome por extenso.

No texto, os autores referenciados serão indicados pelo

sobrenome em letras minúsculas e a data entre parênteses. Ex. Silva (2000). Quando forem citados dois autores, estes devem ser separados por ponto e vírgula. No caso de mais de três autores, indica-se apenas o primeiro acrescentando-se a expressão et al.

Acrescentar-se-á o número da página, em caso de citação textual. Ex: (SOERENSEN, 1999, p.45).

Tratando-se de citação textual até três linhas, siga este exemplo: Segundo Teixeira (1997, p.1), "(...) novas descobertas realizadas no campo da alimentação e da nutrição dos animais". Noutras palavras, ocorreram mudanças na alimentação e na nutrição dos animais.

### Exemplos de assentamento (Referências)

#### Periódicos

NOME DE TODOS OS AUTORES. Título do artigo. **Título abreviado do periódico**, volume (número): paginação inicial-final, ano de publicação. Exemplo: ABALOS, J.W. The ophophagus rabbits of Pseudo boa cloelia. **Toxicon**, 1: 90-92, 1963.

#### Livros

AUTORES. **Título da publicação**, nº da edição. Local: firma editora, ano de publicação, páginas consultadas. Exemplos: PEREIRA, A.R.; MACHADO, E.C. **Análise quantitativa do crescimento de comunidades vegetais**. Campinas: Instituto Agrônomo, 1987. (Boletim Técnico, 114). / TORTORA, G. **Corpo humano, fundamentos de anatomia e fisiologia**. 4. ed. São Paulo: Artes Médicas, 2001.

#### Capítulos de livros

SOBRENOME, PRÉNOME abreviado do autor do capítulo. Título: subtítulo (se houver) do capítulo. In: AUTOR DO LIVRO (tipo de participação do autor na obra. Org(s), Ed(s) etc. se houver). **Título do livro**: subtítulo do livro (se houver). Local de publicação: Editora, data de publicação, paginação referente ao capítulo. Exemplo: BANKS-LEITE, L. As questões linguísticas na obra de Piaget: apontamentos para uma reflexão crítica. In: \_\_\_\_\_ (Org.). **Percursos piagetianos**. São Paulo: Cortez, 1997, p. 207-223. / GRIZÉ, J. B. Psicologia genética e lógica. In: BANKS-LEITE, L. (Org.). **Percursos piagetianos**. São Paulo: Cortez, 1997, p. 63-76.



#### Colaboração em obras coletivas

As obras de responsabilidade de entidades coletivas (órgão governamentais, empresas, associações, congressos, seminários, etc.) têm entrada pelo seu próprio nome, por extenso, em caixa alta, considerando a subordinação hierárquica quando houver. Exemplo: ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. *NBR 6023: informação e documentação: referência – elaboração*. Rio de Janeiro, 2000.

#### Trabalhos em Anais de Congressos, Simpósios, etc.

Título: subtítulo (se houver) do evento, número. ano. Local de realização do evento. *Anais...* Local de publicação dos anais: Editora, ano. Total de página. Exemplo: REUNIÃO ANUAL DE PSICOLOGIA, 18., 1988. Ribeirão Preto. *Anais...* Ribeirão Preto: Sociedade de Psicologia de Ribeirão Preto, 1988. 765 p.

#### Teses, dissertações e Monografias

AUTOR. Título: subtítulo (se houver). Data de defesa. Total de folhas. Tese (Doutorado) ou Dissertação (Mestrado) - Instituição onde a Tese ou Dissertação foi defendida. Local e data de defesa. Descrição física do suporte. Exemplo: FANTUCCI, L. *Contribuição do alerta, da atenção, da intenção e da expectativa temporal para o desempenho de humanos em tarefas de tempo de reação*. 2001. 130 p. Tese (Doutorado em Psicologia) – Instituto de Psicologia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2001.

#### Documentos em meio eletrônico

Os elementos essenciais para referenciar os documentos em meio eletrônico são os mesmos recomendados para documentos impressos, acrescentando-se, em seguida, as informações relativas a descrição física do meio ou suporte (CD, disquete). Quando se tratar de obras consultadas **on line**, são essenciais as informações sobre o endereço eletrônico, apresentado entre os sinais < >, precedido da expressão Disponível em: e a data de acesso do documento, precedido da expressão Acesso em: ... Exemplo: SALES-LIOPIS, J.; NIETO NAVARRO, J.; BOTELLA ASUNCIÓN, A.C. *Hidrocefalia*. 2005. Disponível em: [www.neurocirurgia.com/hidrocefalia/hidrocefalia/htm](http://www.neurocirurgia.com/hidrocefalia/hidrocefalia/htm). Acesso em 03 setembro 2005.

#### Trabalho publicado em CD

SOBRENOME, PRENOME abreviado do autor do trabalho. Título: subtítulo (se houver) In: NOME DO EVENTO, número., ano. Local de realização do evento. *Anais...* Local de publicação dos Anais: Editora, ano. Descrição física do suporte. Exemplo: RIBEIRO, R. *Psicologia social e desenvolvimento do terceiro setor: participação da Universidade*. In: CONGRESSO NORTE NORDESTE DE PSICOLOGIA, 2., 2001, Salvador. *Anais...* Salvador: Universidade Federal da Bahia, 2001. 1 CD.

#### Artigo publicado em periódico eletrônico

SOBRENOME, PRENOME(s) abreviado. Título: subtítulo (se houver). *Nome do periódico*, local de publicação, volume, número ou fascículo, mês(s) abreviado, ano. <endereço da URL>. Data de acesso:

PAIVA, G. J. Dante Moreira Leite: um pioneiro da psicologia social no Brasil. *Psicologia USP*, São Paulo, v. 11, n. 2, jul./ago. 2000. Disponível em: <<http://www.scielo.br/>>. Acesso em: 12 mar. 2001.

#### Artigo de jornal

SOBRENOME, PRENOME abreviado. Título: subtítulo (se houver). *Nome do jornal*, Local de publicação, página, data de publicação do jornal com o mês abreviado. Exemplo: ADES, C. Os animais também pensam: e têm consciência. *Jornal da Tarde*, São Paulo, p. 4D, 15 abr. 2001.

As tabelas deverão ser numeradas com algarismos arábicos, sempre providas de um título explicativo e construídas de um modo a ser inteligíveis independentemente do texto. A tabela deve ser formatada no modelo simples 1, sendo preta a cor das linhas.

Gráficos, fotos e mapas devem aparecer indistintamente como figuras; devendo ser numerados consecutivamente, acompanhados das respectivas legendas, o mais próximo possível da citação no texto. Enviar o original e fotocópia.

As abreviaturas do nome de revistas devem ser feitas de acordo com as usadas pelos "abstracting journals", como dos Commonwealth Agricultural Bureau. Em caso de dúvida é preferível deixar a referência por extenso encarregando-se, nesses casos, o Editor da Revista *Omnia-Saúde* de abreviá-las.





Os dados, conceitos e opiniões emitidos nos trabalhos bem como a exatidão das referências bibliográficas são de responsabilidade exclusiva dos autores. Com relação à responsabilidade ideológica, os conceitos emitidos nos trabalhos publicados serão de responsabilidade exclusiva dos autores, não refletindo obrigatoriamente a opinião do Conselho Editorial.