

## RESSALVA

Atendendo solicitação do(a) autor(a), o texto completo desta dissertação será disponibilizado somente a partir de 23/03/2025.

*Rayara Nogueira de Freitas*

**Avaliação dos parâmetros bioquímicos, funcionais,  
histomorfométricos e estado redox das glândulas salivares de ratos  
Wistar tratados com o anticonvulsivante valproato de sódio**

*Rayara Nogueira de Freitas*

**Avaliação dos parâmetros bioquímicos, funcionais,  
histomorfométricos e estado redox das glândulas salivares de ratos  
Wistar tratados com o anticonvulsivante valproato de sódio**

Dissertação apresentada à Faculdade de Odontologia de Araçatuba da Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho" – UNESP, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Ciências, área de concentração Saúde Bucal da Criança.

**Orientador:** Prof. Ass. Dr. Antonio Hernandes Chaves Neto

**Araçatuba - SP**

**2023**

Catálogo-na-Publicação (CIP)

Diretoria Técnica de Biblioteca e Documentação – FOA / UNESP

F866a	<p>Freitas, Rayara Nogueira de. Avaliação dos parâmetros bioquímicos, funcionais, histomorfométricos e estado redox das glândulas salivares de ratos Wistar tratados com o anticonvulsivante valproato de sódio / Rayara Nogueira de Freitas. - Araçatuba, 2023 37 f. : il. ; tab.</p> <p>Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Odontologia de Araçatuba Orientador: Prof. Antonio Hernandes Chaves Neto</p> <p>1. Anticonvulsivantes 2. Ácido valproico 3. Saliva 4. Glândula parótida 5. Glândula submandibular 6. Estresse oxidativo I. T.</p> <p>Black D27 CDD 617.645</p>
-------	--

Claudio Hideo Matsumoto – CRB-8/5550

## AGRADECIMENTOS

A **Deus** pela saúde e oportunidade que me deu de conhecer as pessoas que fizeram com que esta caminhada fosse especial.

À minha família, em especial minha mãe **Rejane de Nogueira de Souza**, que sempre esteve e estará ao meu lado, amparando, amando e cuidando, e que sempre torceu pelo meu sucesso. Muito obrigada por sempre me incentivar e acreditar que eu seria capaz de superar os obstáculos que a vida me apresentou.

Ao meu namorado, **Gladiston William Lobo Rodrigues** por sempre me incentivar, motivar, e vibrar a cada conquista minha, e sempre me encorajando há nunca desistir dos meus sonhos, e que sempre esteve presente nos momentos mais difíceis. Sou eternamente grata a você.

Ao meu orientador, Prof. Dr. **Antonio Hernandes Chaves Neto**, que confiou em mim, me concedendo a oportunidade de desenvolver este estudo. Muito obrigada, pelos ensinamentos, conselhos, mas principalmente, pela paciência com a qual guiaram o meu aprendizado, e por desempenhar tal função com dedicação e amizade. Foi uma honra ter tido a oportunidade de trabalhar com um educador tão comprometido, capaz e habilidoso quanto o senhor.

Aos meus amigos, **Gabriela Alice Fiais, Lucas Guilherme Leite da Silva, Douglas Sadrac de Biagi Ferreira e Marcelo Kawaguchi**, por compartilharem tantos momentos de descobertas e por todo o companheirismo ao longo deste percurso. Foi um prazer imenso poder conhecê-los. Sempre me lembrarei de vocês com muito carinho. Não há palavras que possam exprimir a minha gratidão a vocês.

À **Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”**, na pessoa do diretor da Faculdade de Odontologia de Araçatuba Prof. **Glauco Issamu Miyahara** e do vice-diretor Prof. **Alberto Carlos Botazzo Delbem**.

À **Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES)**, pelo apoio financeiro (CAPES Código de financiamento 001).

À **Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP – Processo: 2021/10656-7)**, pelo apoio financeiro, concedida ao aluno de iniciação científica **Lucas Guilherme Leite da Silva**.

*“Não existem sonhos impossíveis para aqueles que realmente acreditam que o poder realizador reside no interior de cada ser humano. Sempre que alguém descobre esse poder, algo antes considerado impossível, se torna realidade.”*

*Albert Einstein*

FREITAS, RN. **Avaliação dos parâmetros bioquímicos, funcionais, histomorfométricos e estado redox das glândulas salivares de ratos Wistar tratados com o anticonvulsivante valproato de sódio.** 2023. 37 f. Dissertação (Mestrado em Ciências, área de concentração Saúde Bucal da Criança) - Faculdade de Odontologia, Universidade Estadual Paulista, Araçatuba, 2023.

## RESUMO

O presente estudo investigou os efeitos do anticonvulsivante valproato de sódio (VPA) nas glândulas salivares por meio de parâmetros bioquímicos, funcionais, histomorfométricos e estado redox. Para tanto, vinte e quatro ratos Wistar (5 semanas de idade) foram divididos aleatoriamente em três grupos (n=08/grupo): grupo (Controle) tratados com solução salina 0,9% (m/v); grupo (VPA100) tratados com 100 mg/kg de VPA; grupo (VPA400) tratados com 400 mg/kg de VPA na forma de xarope (Depakene®, Abbott Laboratórios do Brasil, Ltda.). Após 21 dias consecutivos de tratamento por gavagem intragástrica, a saliva total induzida pela pilocarpina foi coletada para determinação do fluxo salivar, pH, capacidade tamponante, proteína total, amilase, fosfato, cálcio, potássio, sódio e cloreto. Nas glândulas salivares foram realizadas análises histomorfométricas, capacidade oxidante total, peroxidação lipídica, proteína carbonilada, capacidade antioxidante total, ácido úrico, glutathiona reduzida (GSH), superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT) e glutathiona peroxidase (GPx). Os resultados foram submetidos análise de variância (One-Way ANOVA) seguido do teste *post hoc* de Tukey ( $p < 0,05$ ). O fluxo salivar, pH, capacidade tamponante, proteína total, potássio, sódio e cloreto foram semelhantes entre os grupos. Contudo, fosfato e cálcio reduziram no VPA400, enquanto a amilase foi maior nos grupos VPA100 e VPA400. Não detectamos nas glândulas salivares diferenças significantes nas áreas de ácinos, ductos e tecido conjuntivo entre os grupos. Não houve mudanças significativas no estado redox das glândulas submandibulares. Por sua vez, nas glândulas parótidas detectamos redução da capacidade oxidante total e peroxidação lipídica nos grupos VPA100 e VPA400, aumento da SOD no VPA400, além da maior concentração de ácido úrico nos grupos VPA100 e VPA400. Conclui-se que o tratamento crônico com VPA modificou a composição bioquímica da saliva total e causou distúrbios do estado redox da glândula parótida em ratos.

**Palavras-chave:** Anticonvulsivantes. Ácido valproico. Saliva. Glândula parótida. Glândula submandibular. Estresse oxidativo.

FREITAS, RN. **Evaluation of biochemical, functional, histomorphometric parameters and redox status of the salivary glands of male Wistar rats treated with the anticonvulsant sodium valproate.** 2023. 37 f. Dissertação (Mestrado em Ciências, área de concentração Saúde Bucal da Criança) - Faculdade de Odontologia, Universidade Estadual Paulista, Araçatuba, 2023.

## ABSTRACT

The present study investigated the effects of the anticonvulsant sodium valproate (VPA) on the salivary glands through biochemical, functional, histomorphometric parameters and redox status. For this, twenty-four Wistar rats (5 weeks old) were randomly divided into three groups (n=08/group): group (Control) treated with 0.9% saline solution (w/v); group (VPA100) treated with 100 mg/kg of VPA; group (VPA400) treated with 400 mg/kg of VPA in the form of syrup (Depakene®, Abbott Laboratórios do Brasil, Ltda.). After 21 consecutive days of treatment via intragastric gavage, total saliva induced by pilocarpine was collected to determine salivary flow, pH, buffering capacity, total protein, amylase, phosphate, calcium, potassium, sodium, and chloride. In the salivary glands, histomorphometric analysis, total oxidant capacity, lipid peroxidation, carbonyl protein, total antioxidant capacity, uric acid, reduced glutathione (GSH), superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT) and glutathione peroxidase (GPx) were performed. The results were subjected to analysis of variance (One-Way ANOVA) followed by Tukey's *post hoc* test ( $p < 0.05$ ). Salivary flow, pH, buffering capacity, total protein, potassium, sodium and chloride were similar between groups. However, phosphate and calcium were reduced in VPA400, while amylase was higher in VPA100 and VPA400 groups. We did not detect significant differences in the areas of acini, ducts and connective tissue in the salivary glands between the groups. There were no significant changes in the redox state of the submandibular glands. In turn, in the parotid glands, we detected a reduction in the total oxidant capacity and lipid peroxidation in the VPA100 and VPA400 groups, an increase in SOD in the VPA400, in addition to a higher concentration of uric acid in the VPA100 and VPA400 groups. It is concluded that chronic treatment with VPA modified the biochemical composition of whole saliva and caused disturbances in the redox state of the parotid gland in rats.

**Keywords:** Anticonvulsants. Valproic acid. Saliva. Parotid gland. Submandibular gland. Oxidative stress.

## LISTA DE FIGURAS

**Figure 1-** Effects of VPA on histomorphometric parameters in rat salivary glands. Staining: hematoxylin and eosin. 400x magnification. Photomicrographs of the parotid gland (A, B, and C) and submandibular gland (G, H, and I) and graphical representation of the percentage of the acinar area (D and J), duct area (E and K), and connective tissue (F and L). Abbreviations and symbols: (white asterisks) acinar secretory units; (black asterisks) striated ducts; (arrows) intercalated ducts; (GCT) granular convoluted tubules; (ct) connective tissue. Results were obtained by analysis of variance (One-Way ANOVA) followed by Tukey's post hoc test. For all analyses,  $p < 0.05$  probability levels were considered statistically significant.....30

**Figure 2-** Effects of VPA on salivary flow rate (A), salivary pH (B), salivary buffering capacity (C), salivary total protein (D), amylase (E), phosphate (F), calcium (G), potassium (H), sodium (I) and chloride (J) from Wistar rats. Data are expressed as mean  $\pm$  standard deviation. Results were obtained by analysis of variance (One-Way ANOVA) followed by Tukey's *post hoc* test ( $*p < 0.05$ ;  $**p < 0.01$ ). For all analyses,  $p < 0.05$  probability levels were considered statistically significant.....31

**Figure 3-** Effects of VPA on total oxidant capacity (A), lipid oxidative damage - TBARs (B), and carbonyl protein (C) in parotid and submandibular glands of Wistar rats. Data are expressed as mean  $\pm$  standard deviation. The results were obtained by analysis of variance (One-Way ANOVA) followed by Tukey's *post hoc* test ( $**p < 0.01$ ;  $****p < 0.0001$ ). For all analyses,  $p < 0.05$  probability levels were considered statistically significant.....32

**Figure 4 –** Effects of VPA on total antioxidant capacity (A), uric acid (B), and GSH (C) of parotid and submandibular glands in Wistar rats. Data are expressed as mean  $\pm$  standard deviation. Results were obtained by analysis of variance (One-Way ANOVA) followed by Tukey's *post hoc* test. ( $*p < 0.05$ ). For all analyses,  $p < 0.05$  probability levels were considered statistically significant.....33

**Figure 5-** Effects of VPA on SOD (A), CAT (B), and GPx (C) activities in the parotid and submandibular glands of Wistar rats. Data are expressed as mean  $\pm$  standard deviation. Results were obtained by analysis of variance (One-Way ANOVA) followed by Tukey's *post hoc* test. ( $*p < 0.05$ ). For all analyses,  $p < 0.05$  probability levels were considered statistically significant.....34

## LISTA DE TABELA

**Table 1-** Effects of VPA on ALT and AST activities, body mass, feed consumption and water intake, salivary gland mass and index, and salivary glands total protein in rats. Data are expressed as mean  $\pm$  standard deviation. Results were obtained by analysis of variance (One-Way ANOVA) followed by Tukey's *post hoc* test. For all analyses,  $p < 0.05$  probability levels were considered statistically significant. .... 35

## SUMÁRIO

<b>Abstract .....</b>	<b>12</b>
<b>Introduction .....</b>	<b>13</b>
<b>Materials and methods.....</b>	<b>14</b>
<b>Results.....</b>	<b>18</b>
<b>Discussion .....</b>	<b>19</b>
<b>Conclusion.....</b>	<b>23</b>
<b>References .....</b>	<b>24</b>
<b>Figures .....</b>	<b>31</b>
<b>Tables.....</b>	<b>36</b>
<b>ANEXO: Aprovação da comissão de ética no uso de animais .....</b>	<b>37</b>

**Evaluation of biochemical, functional, and histomorphometric parameters and redox status of the salivary glands of male Wistar rats treated with the anticonvulsant sodium valproate**

Rayara Nogueira de Freitas<sup>1</sup>, Lucas Guilherme Leite da Silva<sup>2</sup>, Gabriela Alice Fiais<sup>1,4</sup>, Douglas Sandrac de Biagi Ferreira<sup>2</sup>, Allice Santos Cruz Veras<sup>3,4</sup>, Giovana Rampazzo Teixeira<sup>3,4</sup>, Sandra Helena Penha Oliveira<sup>2,4</sup>, Rita Cássia Menegati Dornelles<sup>2,4</sup>, Ana Cláudia de Melo Stevanato Nakamune<sup>2</sup>, Walid D. Fakhouri<sup>5</sup>, Antonio Hernandes Chaves-Neto<sup>1,2,4\*</sup>.

<sup>1</sup>Programa de Pós-Graduação em Ciências - Saúde Bucal da Criança, Universidade Estadual Paulista (Unesp), Faculdade de Odontologia, Araçatuba, São Paulo, Brazil.

<sup>2</sup>Departamento de Ciências Básicas, Universidade Estadual Paulista (Unesp), Faculdade de Odontologia, Araçatuba, São Paulo, Brazil.

<sup>3</sup>Departamento de Educação Física, Universidade Estadual Paulista (Unesp), Faculdade de Ciências e Tecnologia, Presidente Prudente, SP, Brazil.

<sup>4</sup>Programa de Pós-Graduação Multicêntrico em Ciências Fisiológicas - SBFis, Universidade Estadual Paulista (Unesp), Faculdade de Odontologia, Araçatuba, São Paulo, Brazil.

<sup>5</sup>Center for Craniofacial Research, Department of Diagnostic and Biomedical Sciences, School of Dentistry, University of Texas Health Science Center at Houston, Houston, TX, USA.

***Correspondence to:***

Professor Antonio Hernandes Chaves-Neto

Address: Department of Basic Sciences, São Paulo State University (Unesp), School of Dentistry, Araçatuba, Rodovia Marechal Rondon, km 527/528, CEP 16018-805, Araçatuba, SP, Brazil.

Phone: +55 18 3636 2869

E-mail: antonio.hernandes@unesp.br

\*Artigo redigido conforme as diretrizes de submissão da revista *Clinical Oral Investigation*:  
<https://www.springer.com/journal/784/submission-guidelines>