

CARACTERIZAÇÃO HISTOLÓGICA DA MUCOSA ORAL NORMAL DE RATOS WISTAR: ESTUDO COMPARATIVO COM MUCOSA ORAL DE HUMANOS

HISTOLOGICAL CHARACTERIZATION OF THE NORMAL ORAL MUCOSA OF RATS

WISTAR: COMPARATIVE STUDY WITH HUMAN ORAL MUCOSA

Hortência Resende dos Santos Della Cella¹, Tila Fortuna², Juliana Borges de Lima Dantas³, Rejane Conceição Santana⁴, Bruna Portela Neri⁵, Gabriela Botelho Martins⁶

¹Doutoranda do Programa de Pós-graduação em Processos Interativos dos Órgãos e Sistemas. Instituto de Ciências da Saúde da Universidade Federal da Bahia (ICS, UFBA).

²Doutora do Programa de Pós-graduação em Processos Interativos dos Órgãos e Sistemas. Instituto de Ciências da Saúde da Universidade Federal da Bahia (ICS, UFBA). Professora da Escola Bahiana de Medicina e Saúde Pública

³Doutora do Programa de Pós-graduação em Processos Interativos dos Órgãos e Sistemas. Instituto de Ciências da Saúde da Universidade Federal da Bahia (ICS, UFBA). Professora da Escola Bahiana de Medicina e Saúde Pública e da Faculdade Adventista da Bahia.

⁴Doutora em Patologia Humana pela Universidade Federal da Bahia/Fiocruz. Professora Associado da Universidade Federal da Bahia (UFBA).

⁵Graduada em Fisioterapia. Universidade Federal da Bahia (ICS, UFBA).

⁶Doutora em Estomatologia Clínica pela PUCRS. Professora Associado do Instituto de Ciências da Saúde da Universidade Federal da Bahia (ICS, UFBA).

RESUMO

Objetivo: Descrever os aspectos microscópicos de normalidade da mucosa jugal e língua de ratos Wistar e comparar com as características descritas na literatura destas regiões em humanos. **Materiais e métodos:** Estudo observacional descritivo, que utilizou amostras da mucosa jugal e da língua de vinte ratos. Com secções coradas em HE e Sirius red, realizou-se análise morfológica dos tecidos epitelial e conjuntivo, e análise descritiva do padrão de deposição colagênico, respectivamente. **Resultados:** Na mucosa jugal, identificou-se tecido epitelial de revestimento pavimentoso estratificado ortoqueratinizado, de espessura delgada. Presença das camadas basal, espinhosa, granulosa e córnea. Houve presença de cristas epiteliais na interface epitélio-conjuntivo. No tecido conjuntivo, observou-se expressiva concentração de fibras colagênicas e contingente significativo de fibroblastos, além de vasos sanguíneos de pequeno calibre e discreto infiltrado inflamatório residente. A mucosa lingual apresentou epitélio pavimentoso estratificado ortoqueratinizado, de espessura delgada, com as características das camadas celulares equivalentes à mucosa jugal.

A face ventral, todavia, exibiu-se com ausência de papilas, e a mucosa da face dorsal e ápice lingual de forma irregular, com papilas. Apresentou delgada camada de lâmina própria, com tecido conjuntivo frouxo na camada papilar e denso não modelado na camada reticular, quantitativo moderado de células, e expressiva concentração de fibras colagênicas, seguido de uma camada muscular bem desenvolvida. A comparação com a literatura mostrou forte semelhança entre os espécimes, com diferença mais marcante na presença de camada córnea no revestimento epitelial da mucosa jugal dos animais. **Conclusão:** A mucosa jugal e língua de ratos apresentaram semelhança à mucosa oral humana.

Palavras-Chave: Mucosa Bucal; Língua; Histologia; Ratos Wistar.

ABSTRACT

Objective: To describe the microscopic aspects of normality of the jugal mucosa and tongue of Wistar rats and compare with the characteristics described in the literature of these regions in humans. **Materials and methods:** Descriptive observational study, which used

samples of the buccal mucosa and the tongue of twenty rats. With sections stained in HE and Sirius red, a morphological analysis of the epithelial and connective tissues was carried out, and a descriptive analysis of the collagen deposition pattern, respectively. **Results:** In the buccal mucosa, thin-thick orthokeratinized stratified squamous epithelial lining tissue was identified. Presence of basal, spinosum, granulosa and corneal layers. Epithelial ridges were present at the epithelial-connective interface. In the connective tissue, there was a significant concentration of collagen fibers and a significant contingent of fibroblasts, in addition to small blood vessels and a discreet resident inflammatory infiltrate. The lingual mucosa presented orthokeratinized stratified squamous epithelium, of thin thickness, with the characteristics of cell layers equivalent to

the buccal mucosa. The ventral surface, however, showed no papillae, and the mucosa on the dorsal surface and lingual apex was irregularly shaped, with papillae. It showed a thin layer of lamina propria, with loose connective tissue in the papillary layer and dense non-modeled tissue in the reticular layer, a moderate number of cells, and a significant concentration of collagen fibers, followed by a well-developed muscle layer. Comparison with the literature showed a strong similarity between the specimens, with a more marked difference in the presence of a horny layer in the epithelial lining of the animals' buccal mucosa. **Conclusion:** The buccal mucosa and tongue of rats were similar to the human oral mucosa.

Keywords: Oral Mucosa; Language; Histology; Wistar Rats.

Contato: hortencia_resende@hotmail.com

ENVIADO: 10/02/2023
ACEITO: 09/10/2023
REVISADO: 14/12/2023

INTRODUÇÃO

Devido à similaridade genética e por possuírem processos patológicos semelhantes aos dos seres humanos, os ratos se tornaram modelos animais bastante empregados na realização de estudos experimentais para fins científicos. Isso ocorre dada a impossibilidade de realização de alguns tipos de avaliações em humanos, viabilizando resultados potenciais nas pesquisas, em especial nas áreas biológicas, que devem ser fundamentadas em conceitos éticos, utilizando-se de todos os meios possíveis para minimizar a dor e sofrimento do animal^{1,2}.

Ratos da linhagem Wistar (*Rattus norvegicus*), são frequentemente escolhidos por serem de pequeno porte, baixo custo de criação, possuírem prole numerosa e ciclo biológico curto, além de serem considerados animais dóceis e colaborativos à manipulação^{3,4}. Nota-se uma predileção pelo uso dos ratos machos nos experimentos científicos, uma vez que há uma menor variação fisiológica inerente aos níveis hormonais das ratas fêmeas³.

Todavia, apesar da mucosa jugal e língua dos ratos Wistar serem frequentemente objeto

de estudo^{5,6}, há uma dificuldade em encontrar na literatura artigos que descrevam os aspectos histológicos característicos da mucosa oral normal de ratos. Por este motivo, justifica-se a realização de um estudo experimental descritivo da mucosa oral, em especial mucosa jugal e lingual desses animais, com o objetivo de se obter maiores informações sobre os aspectos microscópicos, e assim permitir a melhor comparação histológica com outros grupos de mamíferos, mais particularmente os seres humanos.

MATERIAIS E MÉTODOS

Tratou-se de estudo observacional descritivo. Os animais selecionados para o estudo pertenciam ao grupo controle (sem intervenção) de um outro estudo experimental realizado entre os anos de 2018 e 2020, onde os procedimentos foram conduzidos no Biotério de Ratos e Camundongos e no Laboratório de Bioquímica Oral, ambos no Instituto de Ciências da Saúde (ICS) da Universidade Federal da Bahia (UFBA). O mesmo foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) do ICS/ UFBA (CEUA nº 3562050618).

2.1 Obtenção da amostra

Para a obtenção das amostras teciduais, utilizou-se vinte (20) ratos machos da linhagem Wistar, *Rattus norvegicus albinus*, com peso médio de 230g, que ficaram alojados em gaiolas plásticas específicas, em grupos de cinco, com condições de iluminação e temperatura ($\pm 24^{\circ}\text{C}$) controlados e submetidos a uma dieta comercial Nuvilab® (Quimtia – Paraná - Brasil) e água ad libitum durante todo o período do experimento supracitado. Ao final, para avaliação, utilizou-se 20 amostras da mucosa jugal e 15 amostras de língua dos mesmos animais.

2.2 Eutanásia

Os animais foram eutanasiados por administração de anestésico injetável de 75mg/kg de Ketamina® (Farex do Brasil Ltda. Porto Alegre - Brasil) associado a 10mg/kg de Xilazina® (J.A. Saúde Animal, São Paulo - Brasil), na mesma seringa, administrado por via intraperitoneal, de forma que a dose, baseada no peso do animal, fosse suficiente para produzir a ausência do reflexo corneal e confirmação da morte.

Após a morte dos animais, foi realizada a remoção tecidual da mucosa jugal direita e língua dos ratos a serem analisadas, e as carcaças foram acondicionadas em sacos de PVC em freezer à -20°C com posterior incineração após coleta por empresa especializada.

2.3 Processamento histológico

Ao final do experimento, os espécimes removidos de mucosa jugal e língua obtidos foram fixados em formalina tamponada a 4%, com pH 7,4, por 48 a 72h e foram enviados para o processamento histológico de rotina no laboratório de Patologia Oral da Universidade Estadual de Feira de Santana (UEFS) para obtenção de secções coradas por Hematoxilina-Eosina (HE). As secções referentes ao material de língua foram processadas no Laboratório de Histologia e Embriologia da Faculdade Adventista da Bahia (FADBA).

Posteriormente, todas as amostras (mucosa jugal e língua) já incluídas em parafina foram encaminhadas para o Laboratório de Histologia e Embriologia da FADBA para

confeção de lâminas coradas por Sirius red, específico para análise do colágeno total.

2.4 Análise histológica

Com as secções coradas em HE, foi realizada uma análise histológica descritiva, por dois avaliadores devidamente calibrados, sendo a avaliação de cada caso feita através de três áreas distintas da mesma lâmina histológica, para avaliar o padrão dos tecidos epitelial e conjuntivo em objetiva de 10x.

Após treinamento para uso Software Motic Images Plus 2.0 (Motic Ásia, Hong Kong, China) e microscópio Quimis BA410 (Quimis, São Paulo, Brasil) no Laboratório de Bioquímica Oral (LBO) do Instituto de Ciências da Saúde (ICS) da UFBA, iniciaram-se as capturas de imagens das secções histológicas obtidas no microscópio, utilizando-se a objetiva de 10x e de 40x para captura de imagens de áreas significativas. Três áreas de cada secção de mucosa jugal e língua foram analisadas.

Com as secções coradas com Sirius red, a análise descritiva das fibras colágenas e do padrão de deposição colagênico também foi realizada com o auxílio do software Motic Images Plus 2.0 disponível no Laboratório de Bioquímica Oral do ICS-UFBA, na objetiva de 10x.

2.5 Análise descritiva dos dados

A partir da avaliação dos cortes histológicos previamente obtidos, foi preenchida uma ficha de coleta de dados, elaborada pelas autoras da pesquisa, a fim de padronizar os elementos que foram descritos pelos dois avaliadores, que contemplou características que poderiam ser observadas no tecido epitelial (presença de projeções epiteliais/cristas; camadas do epitélio estratificado – camada basal, camada espinhosa, camada granulosa, camada lúcida, camada córnea), bem como características do tecido conjuntivo ou lâmina própria (a exemplo da classificação em denso ou frouxo, presença significativa de fibroblastos, infiltrado inflamatório residente mono ou polimorfonuclear, presença de vasos sanguíneos).

Os cortes histológicos referentes à mucosa de língua, incluíram, além dos itens já citados, a avaliação da presença das papilas linguais, identificando os tipos encontrados.

As secções histológicas coradas por Sirius Red foram descritas de forma subjetiva, considerando áreas mais superficiais e áreas mais profundas do tecido conjuntivo, a fim de identificar padrão de organização, densidade dos feixes presentes, orientação e organização das fibras colágenas.

Para avaliar a concordância entre os examinadores foi utilizada a porcentagem de concordância, a estatística kappa e o intervalo de 95% de confiança. A interpretação da estatística kappa foi realizada de acordo com Landis e Koch (1977)⁷. Todas as análises foram realizadas no programa R, com nível de significância de 5%.

A partir dos resultados obtidos, realizou-se a comparação dos dados com a literatura específica: Ten Cate, 2013⁸; Katchburian e Arana, 2017⁹; e Junqueira e Carneiro 2018¹⁰, que descreveram os mesmos tecidos em humanos, visando enfatizar as semelhanças e diferenças entre as áreas anatômicas escolhidas, do ponto de vista do tecido epitelial e do tecido conjuntivo.

RESULTADOS

A histologia dos tecidos epitelial e conjuntivo da mucosa jugal dos animais, embora apresentasse discreta variação em suas características morfológicas, no geral, se mostrou padronizada para todos os espécimes analisados em cada região estudada.

Para as análises de concordância inter examinador, escolheu-se, de forma aleatória, três variáveis analisadas para os tecidos da mucosa jugal. Os resultados de reprodutibilidade para as projeções papilares exibiram concordância de 95,0%, considerada substancial por Landis e Koch, 1977 (kappa=0,77; IC95%: 0,35-1,00). Para células do TC, a concordância foi de 60,0% e pelo Kappa considerada como uma concordância muito leve (kappa=0,12; IC95%: -0,10-0,34). Já para anexos cutâneos a concordância foi de 100,0%.

MUCOSA JUGAL

Tecido Epitelial

O tecido epitelial de revestimento observado foi do tipo pavimentoso estratificado

ortoqueratinizado, de espessura delgada na maioria da amostra. O perfil das células foi variado, com a presença de quatro camadas, a saber: camada basal, espinhosa, granulosa e córnea. A camada basal encontrava-se bem delimitada, formada por células cubóides, de citoplasma basófilo e núcleos ovais hipercromáticos, ordenadas em paliçada.

Na amostra, a camada espinhosa formada por células poliédricas justapostas e com núcleo central, apresentou espessura variada a depender da presença ou não de cristas epiteliais para o tecido conjuntivo, o que resultou na oscilação do número de camadas, variando de 2 a 6 camadas. Em algumas secções histológicas, ainda na camada espinhosa, notou-se uma predominante presença de células aumentadas de volume, com alteração na proporção entre citoplasma e núcleo, em que o citoplasma se apresentou mais claro, com aspecto rendilhado e núcleo deslocado para a periferia, sugestivo de degeneração hidrópica.

A camada granulosa se constituiu por células pavimentosas e a camada córnea, correspondente ao estrato mais superficial, essencialmente eosinofílica, onde as células são preenchidas por queratina e desprovidas de núcleos, com espessura uniforme, variando entre intermediária e delgada entre os cortes teciduais. Não foi observada camada lúcida no epitélio (Figura 1.B).

Observou-se ainda no tecido epitelial a presença de cristas epiteliais na proximidade da zona de transição da mucosa com o tecido cutâneo, na maioria das secções analisadas (Figura 2).

Tecido Conjuntivo

O tecido subjacente ao epitélio caracteriza a lâmina própria, correspondente à camada mais delgada, imediatamente abaixo do epitélio, conhecida como camada papilar, com predominância de tecido conjuntivo frouxo. A camada reticular, por sua vez, mais espessa e profunda, se constituiu de tecido conjuntivo do tipo denso não modelado (Figura 1.A).

Em toda a extensão do tecido conjuntivo observou-se expressiva concentração de fibras colagênicas e predominância de fibroblastos, caracterizadas por serem células alongadas, de núcleo eucromático e nucléolo

proeminente. Notou-se também presença de células endoteliais que delimitavam vasos sanguíneos de pequenos calibres e discreto infiltrado inflamatório residente de células monomorfonucleares dispersas em toda extensão do tecido conjuntivo.

Não foi identificada a presença de anexos cutâneos, vasos linfáticos e pigmentação em toda extensão da mucosa jugal dos animais avaliados. No entanto, em áreas específicas de algumas secções histológicas da amostra, observou-se a presença de anexos cutâneos (glândulas sebáceas), que sugere ser uma área de transição com tecido epitelial da pele (região de comissura labial) (Figura 2).

A coloração das secções histológicas com o corante sirius red possibilitou a análise descritiva das fibras colágenas e do padrão de deposição colagênico (colágeno total), onde foi observado um padrão de fibras espessas presentes sob feixes densos, dispostas em todos os sentidos (Figura 1.D).

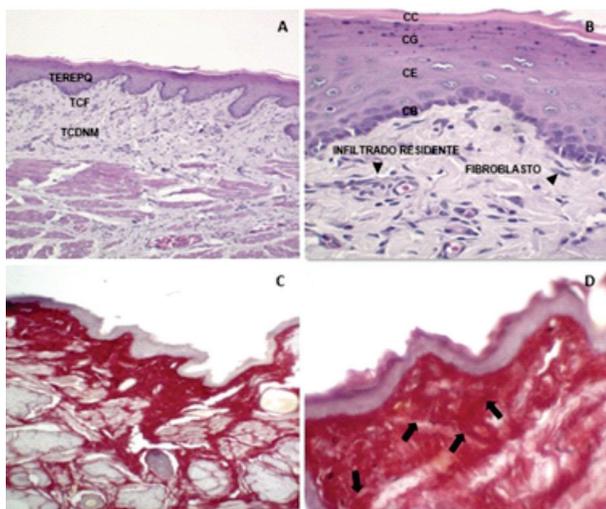


Figura 1- Fotomicrografias representativas das secções histológicas da mucosa jugal coradas em HE e Sirius Red. A) Ilustração da morfologia do tecido epitelial de revestimento estratificado pavimentoso queratinizado (TEREPQ), tecido conjuntivo frouxo (TCF) e tecido conjuntivo denso não modelado (TCDNM) (100x); B) Destaque da camada basal (CB), camada espinhosa (CE), camada granulosa (CG) e camada córnea (CC), lâmina própria, subjacente ao epitélio, com concentração expressiva de fibroblastos (400x); C) Ilustração de secção histológicas da mucosa jugal, (100x); e D) Padrão de deposição do colágeno total, com presença de fibras espessas sob feixes densos, dispostas em todos os sentidos (400x). Fonte: Laboratório de Bioquímica Oral ICS/UFBA, 2021.

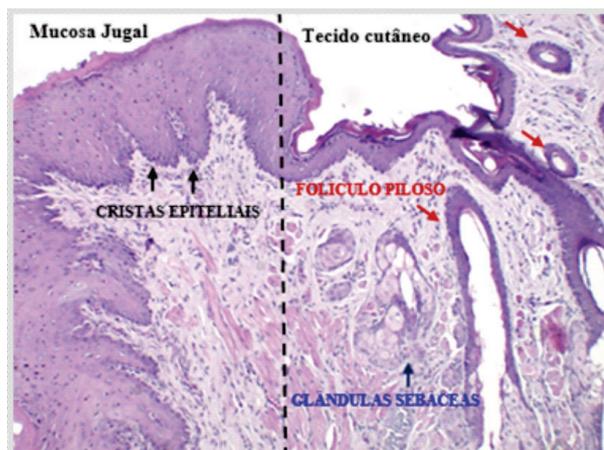


Figura 2- Secção histológica da mucosa jugal corada em HE ilustrando a presença de cristas epiteliais próxima à zona de transição com o tecido cutâneo e glândulas sebáceas adjacente ao folículo piloso (100x). Fonte: Laboratório de Bioquímica Oral ICS/UFBA, 2021.

LÍNGUA

A mucosa da língua também é formada por tecido epitelial e tecido conjuntivo (Figura 3).

Considerando os resultados da análise inter examinador para as três variáveis do dorso da língua, sendo as papilas filiformes, papilas fungiformes e lâmina própria, a reprodutibilidade do kappa foi considerada quase perfeita, com concordância de 100%, segundo Landis e Koch, 19777 (kappa=1,00; IC95%: 1,00-1,00). Para as variáveis do ventre da língua, projeções papilares e lâmina própria, a concordância inter examinadores também foi 100,0%, sendo possível calcular o Kappa para lâmina própria, que nesse caso também apresentou concordância quase perfeita (Kappa=1,00; IC95%: 1,00-1,00).

Tecido Epitelial

Assim como no tecido epitelial da mucosa jugal, a mucosa lingual apresenta epitélio pavimentoso, estratificado e ortoqueratinizado, de espessura delgada, com as características das camadas basais (células cuboides), espinhosa de espessura variada (células poliédricas), granulosa (células losangulares) e córnea (células desprovidas de núcleos), equivalentes ao observado na mucosa jugal, porém com alterações na mucosa de revestimento na face inferior ou ventral, sem papilas, e

mucosa especializada na face superior ou dorsal e ápice, irregular, com papilas, que se apresentam como elevações da mucosa (Figura 3.A).

O tecido epitelial do dorso lingual é formado pelas camadas camada basal, espinhosa, granulosa e córnea, presença de numerosas papilas do tipo filiformes, caracterizadas por serem pontiagudas, inclinadas, queratinizadas e inexistência de botões gustativos (Figura 3.C). Observou-se presença de pequenas papilas dérmicas na maioria das secções analisadas. Não foi possível realizar a análise do terço posterior dorsal e da borda lateral, devido ao tipo de corte realizado previamente nas secções histológicas, que acabou por não selecionar estas áreas.

Na mucosa do ápice da língua observou-se epitélio também formado por camada basal, espinhosa, granulosa e córnea, presença de papilas filiformes e de papilas fungiformes (Figura 3.B), que possuem forma de fungo ou cogumelo, sendo a base estreita e a superfície superior é dilatada (Figura 3.D) e nela constam corpúsculos gustativos. Observou-se presença de pequenas papilas dérmicas na maioria das secções analisadas.

O epitélio da mucosa ventral da língua se mostrou ainda mais delgado que a mucosa do dorso e do ápice, com presença de camada basal, granulosa, espinhosa pouco desenvolvida e pequena faixa de camada córnea (Figura 3.A). Não apresentou formação de papilas no estrato córneo. Assim como no dorso e no ápice, observou-se também no ventre a presença de pequenas papilas dérmicas.

Tecido Conjuntivo

O tecido subjacente à mucosa dorsal apresenta delgada camada de lâmina própria, com tecido conjuntivo frouxo na camada papilar e denso não modelado na camada reticular. Na dimensão do tecido conjuntivo observou-se quantitativo moderado de células, correspondente à normalidade, com presença de infiltrado monomorfonuclear, onde ocorreu a predominância de fibroblastos, e expressiva concentração de fibras colagênicas. É seguido de uma camada muscular, formada por feixes de músculo

estriado esquelético dispostos em várias direções que se entrecruzam. Identificou-se presença de vasos sanguíneos de pequeno calibre em diversas secções analisadas. Não foi notada a presença de anexos cutâneos.

Quanto ao tecido conjuntivo relativo à região do ápice, seguiu o mesmo padrão da região de dorso em relação à lâmina própria, camada papilar e reticular, e quantitativo celular, notando-se, mais uma vez, a presença de pequenos vasos sanguíneos circundados por células endoteliais.

O tecido conjuntivo correspondente ao ventre lingual apresenta as mesmas características do subjacente à mucosa do dorso e ápice, no entanto, é seguido de uma camada muscular bem desenvolvida, formada por feixes de músculo estriado esquelético disposto em várias direções que se entrecruzam. Constatou-se presença de células endoteliais que delimitavam a pequena presença vasos sanguíneos, que variavam de pequeno a médios calibres.

No que quis respeito à coloração das secções histológicas pelo corante sirius red, nas três regiões analisadas observou-se um padrão de organização tecidual, com fibras espessas presentes sob feixes densos, com padrão de alongamentos das fibras não fragmentado e profundidade da lâmina própria considerada normal (Figura 4).

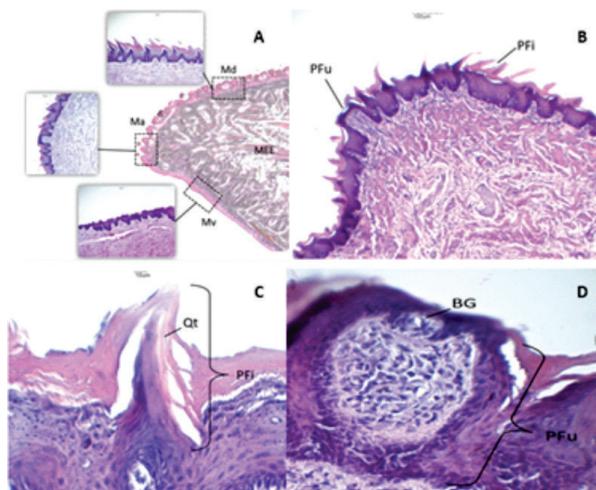


Figura 3- Secção histológica da língua corada em HE. A) Ilustração de mucosa do ventre (Mv), mucosa do ápice (Ma), mucosa do dorso (Md), músculo estriado esquelético (MEE) (100x); B) Corte histológico de ápice lingual. Ilustração de papila fungiforme (PFu) e papila filiforme (PFI) (100x); C) Epitélio do dorso, ilustrando a queratina (Qt) em papila filiforme (PFI) (400x); e D) Secção histológica demonstrando presença de botão gustativo (BG) no epitélio de uma papila fungiforme (PFu) (400x). Fonte: Laboratório de Bioquímica Oral ICS/UFBA, 2021.

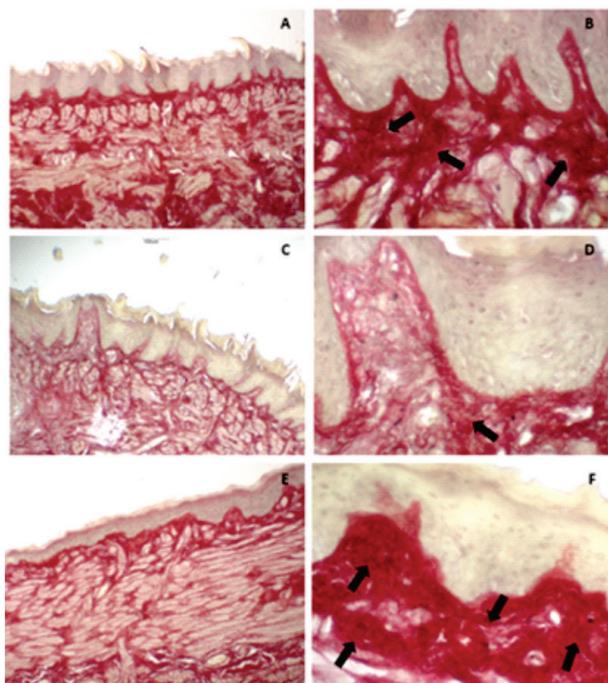


Figura 4 - Fotomicrografias representativas das seções histológicas da língua coradas em Sirius Red para ilustrar a expressão de colágeno no dorso, ápice e ventre na objetiva de 10 x (A, C e E) e 40 x (B, D e F), respectivamente. Ilustração da região de papila fungiforme (D). Fonte: Laboratório de Bioquímica Oral ICS/UFBA, 2021.

Os quadros 01 e 02 comparam as características histológicas das encontradas neste estudo com as da literatura especializada, da mucosa jugal e da língua, respectivamente.

Quadro 01 – Comparação das características histológica da mucosa jugal entre este estudo descritivo e a literatura especializada.

CARACTERÍSTICAS	ESTUDO DESCRITIVO	LITERATURA ESPECIALIZADA (Ten Cate, 2013 ⁸ ; Katchburian e Arana, 2017 ⁹ ; e Junqueira e Carneiro 2018 ¹⁰)
CAMADAS EPITELIAIS	<ul style="list-style-type: none"> • Delgada • Tipo do tecido: pavimentoso estratificado ortoqueratinizado. • Presença das camadas : basal, espinhosa, granulosa e córnea. • Presença de cristas epiteliais. 	<ul style="list-style-type: none"> • Espessa • Tipo do epitélio pavimentoso estratificado não ceratinizado. • Presença das camadas: basal, espinhosa e granulosa. • Ausência da camada córnea.
LÂMINA PRÓPRIA	<ul style="list-style-type: none"> • Camada papilar: tecido conjuntivo frouxo. • Camada reticular: tecido conjuntivo do tipo denso não modelado. • Anexos cutâneos ausentes. 	<ul style="list-style-type: none"> • Tecido conjuntivo frouxo na camada papilar e do tipo denso na reticular, com predominância dos tipos I e III de colágeno^{8,9}. • Anexos cutâneos ausentes.
VASCULARIZAÇÃO E CELULARIDADE DO TECIDO CONJUNTIVO	<ul style="list-style-type: none"> • Vasos sanguíneos de pequenos calibres. • Expressiva concentração de fibras colagênicas e de fibroblastos. • Discreto infiltrado inflamatório residente de células monomorfonucleares. 	<ul style="list-style-type: none"> • Além da abundância de fibroblastos, há também macrófagos, mastócitos e linfócitos T. • Na camada papilar há muitas alças capilares⁸.

Quadro 02 – Comparação das características histológica da língua deste estudo descritivo e a literatura especializada.

CARACTERÍSTICAS	ESTUDO DESCRITIVO	LITERATURA ESPECIALIZADA (Ten Cate, 2013 ⁸ ; Katchburian e Arana, 2017 ⁹ ; e Junqueira e Carneiro 2018 ¹⁰)
CAMADAS EPITELIAIS (Dorso, ápice e ventre)	<ul style="list-style-type: none"> • Delgado • Epitélio estratificado pavimentoso queratinizado. • Presença das camadas : basal, espinhosa, granulosa e córnea. No ventre a camada espinhosa e córnea pouco desenvolvida. • Pequenas papilas dérmicas 	<ul style="list-style-type: none"> • Espesso • Autores descrevem o tipo do epitélio pavimentoso estratificado queratinizado. • Presença das camadas: basal, espinhosa, granulosa e córnea. No ventre, a camada espinhosa e córnea é mais delgada.
PAPILAS E BOTÕES GUSTATIVOS	<ul style="list-style-type: none"> • Dorso: numerosas papilas filiformes. Inexistência de botões gustativos. • Ápice: papilas filiformes e papilas fungiformes. Presença de botões gustativos nas papilas fungiformes. • Ventre: ausência de papilas e botões gustativos. 	<ul style="list-style-type: none"> • Dorso: ocupado por papilas filiformes, que é rica em fibras nervosas mielínicas. Inexistência de botões gustativos. • Ápice: presença de papilas filiformes e papilas fungiformes. Alguns botões gustativos nas papilas fungiformes. • Ventre: ausência de papilas e botões gustativos.
LÂMINA PRÓPRIA (Dorso, ápice e ventre)	<ul style="list-style-type: none"> • Delgada • Camada papilar: tecido conjuntivo frouxo. Camada reticular: tecido conjuntivo do tipo denso não modelado. • Anexos cutâneos ausentes. 	<ul style="list-style-type: none"> • Constituída de tecido conjuntivo frouxo na porção papilar e denso na porção reticular⁹. • Anexos cutâneos ausentes.
VASCULARIZAÇÃO E CELULARIDADE DO TECIDO CONJUNTIVO (Dorso, ápice e ventre)	<ul style="list-style-type: none"> • Vasos sanguíneos de pequenos calibres • Grande concentração de fibras colagênicas e de fibroblastos. • Infiltrado inflamatório residente moderado de células monomorfonucleares 	<ul style="list-style-type: none"> • Altamente vascularizado⁹.

DISCUSSÃO

O tecido epitelial de revestimento da boca é originado do ectoderma. Este epitélio é do tipo estratificado pavimentoso e, a depender da região anatômica, pode ser do tipo queratinizado ou não queratinizado. Está localizado acima do tecido conjuntivo, sendo caracterizado pela justaposição das suas células, escassa matriz extracelular e pela ausência de vasos sanguíneos, sendo a nutrição deste tecido oriunda dos capilares do tecido conjuntivo^{10,11,12}. Mais uma vez salienta-se que essa discussão foi baseada na comparação realizada a partir da literatura especializada.

As células epiteliais da mucosa oral de humanos possuem uma variedade de formas, denominadas de poliédricas, com citoplasma

abundante e citoesqueleto desenvolvido, o que confere revestimento e proteção à muitas estruturas, além da grande capacidade de regeneração, renovação e plasticidade^{8,10,11,12}. Na região subepitelial, há uma estrutura fina denominada lâmina basal, capaz de ser observada somente por eletromicrografia, que é constituída de colágeno do tipo IV, proteína laminina e proteoglicanos, capaz de promover a junção do epitélio ao tecido conjuntivo⁸.

No presente trabalho, pôde-se observar similaridade na estrutura epitelial de mucosa oral de ratos, quanto ao tipo do epitélio, às camadas constituintes, forma, arranjo e disposição das células, pequena quantidade de matriz extracelular e ausência de vasos sanguíneos. Porém, a espessura do epitélio da mucosa jugal dos ratos mostrou-se bem reduzida em relação à mucosa oral humana,

que possui maior número de células na camada espinhosa. Além disso, diferente da mucosa jugal de humanos, que não exhibe presença de ceratina^{8,9,10}, nos ratos, toda a cavidade oral é recoberta por epitélio escamoso estratificado ceratinizado¹³, o que justifica a presença da camada córnea encontrada na amostra deste estudo. Esta observação está em concordância com Salum et al., (2004)¹⁴ que, inclusive, trouxeram valores de 7 a 20 um correspondente à espessura desta camada em rato ao descreverem as características histológicas de animais empregados em pesquisas.

Na mucosa oral de humanos, o tecido conjuntivo é caracterizado pela abundância de matriz extracelular, que consiste em diferentes combinações de fibras colágenas e de substância fundamental, além da grande variedade celular, derivada das células mesenquimais, sendo elas: fibroblastos, que são as células mais abundantes, com intensa atividade de síntese de proteínas, colágeno e elastina; fibrócitos, células metabolicamente quiescentes; macrófagos, constituem o sistema fagocitário mononuclear; plasmócitos, presentes em áreas de inflamação crônica; mastócitos, se localizam próximo a vasos sanguíneos e colaboram com as reações imunes; e os neutrófilos, que estão presentes quando ocorre invasão local de microrganismos agressores. A partir disso, o tecido conjuntivo atua na conexão, sustentação, preenchimento e união entre os tecidos^{8,9,10,12}.

Neste estudo, a mucosa jugal de ratos apresentou semelhança em relação ao tecido conjuntivo que compõe a lâmina própria da mucosa oral de humanos^{8,9}, onde foi identificado que a lâmina própria dos animais é formada por tecido conjuntivo frouxo na camada papilar e tecido conjuntivo denso na camada reticular. Vale ressaltar também que, as demais características encontradas no tecido conjuntivo da mucosa jugal dos ratos são correspondentes às encontradas em humanos.

A análise do padrão de deposição do colágeno após dano tecidual vem sendo realizada por pesquisadores, a exemplo de estudos que tratam da fotobiomodulação a laser no tecido de reparo, como nos estudos de Reis et al., (2008)¹⁵, Wagner et al., (2013)¹⁶ e Fortuna et al., (2018)¹⁷. No entanto, diferente

desses estudos, o presente trabalho avaliou o padrão de colágeno em tecido que não passou por lesão prévia, constatando um perfil de fibras espessas sob feixes densos, dispostas em todos os sentidos, como uma condição de normalidade.

Por se tratar de coloração que avalia o colágeno total presente nos tecidos, não foi possível identificar os subtipos de colágeno presente nos cortes teciduais, que normalmente tem predominância do tipo I, seguido do tipo III e o VII, presente na zona de membrana basal do epitélio⁸.

Semelhante aos achados deste estudo, Salum et al., (2004)¹⁴, em seu estudo experimental, caracterizaram a mucosa jugal de diferentes modelos animais utilizados comumente em pesquisas. Ao avaliar a mucosa jugal de *Ratus norvegicus*, descreveram como epitélio pavimentoso estratificado ortoceratinizado, com espessura delgada, variando de 40 a 80 um, dos quais 7 a 20 um correspondiam à camada córnea (ceratina). Subjacente ao tecido epitelial, caracterizaram o tecido conjuntivo da lâmina própria como fibroso.

A língua é um órgão muscular recoberto por uma mucosa cujas características variam de acordo com sua região.

A região dorsal, que fica direcionada para o palato, é dividida em duas porções, o corpo, que compreende os dois terços anteriores e fica na cavidade oral (o que acaba por incluir o ápice da língua), e base da língua, que é a região de terço posterior, sendo recoberta por tecido linfático (tonsilas linguais) e glândulas mucosas^{8,10}. O dorso, e aqui inclui-se o ápice também, possui uma mucosa denominada especializada, de caráter sensorial, dada à presença de papilas linguais. É formado pelo epitélio estratificado pavimentoso queratinizado, que dá origem a diferentes tipos de projeções, as papilas linguais, apoiado sobre uma lâmina própria bastante vascularizada, constituída de tecido conjuntivo frouxo na porção papilar e denso na reticular^{9,18}. Este padrão estrutural foi o mesmo observado no epitélio dos ratos. No entanto, quanto ao tecido conjuntivo, a lâmina própria apresentou do tipo frouxo na camada papilar e, embora tenha apresentado vasos sanguíneos, não era de caráter tão abundante, como relatado na língua dos humanos.

As papilas presentes no dorso da língua são divididas em quatro tipos e possuem morfologia próprias.

As filiformes possuem forma cônica, pontiaguda e inclinada, que dão uma aparência de “peluda e de veludo”, com boa sensibilidade tátil. São as mais numerosas e formadas por epitélio ortoqueratinizado, com numerosos melanócitos e células de Langerhans, e ausência dos botões gustativos. O tecido conjuntivo forma um cone, que acompanha o epitélio^{8,9,10,18}. No ápice e nas bordas laterais da língua dos humanos estão presentes as papilas fungiformes, que são formadas pelo epitélio paraqueratinizado e apresentam formato arredondado, liso e avermelhado, devido ao tecido conjuntivo denso rico em capilares sanguíneos na região central. Apresentam poucos botões gustativos^{8,9,10,18}. Essas características das papilas filiformes e fúngicas são completamente similares às encontradas no dorso dos ratos.

Embora não tão numerosas em humanos, as papilas foliadas, se localizam nas dobras da borda lateral posterior da língua e possuem formato semelhante a folha, separadas por sulcos paralelos. Por fim, as papilas circunvaladas estão presentes na base da língua^{8,9,10,18}. São as menos numerosas, de tamanho grande, rodeadas por um sulco profundo circular, constituídas pelo epitélio ortoqueratinizado e porção central de tecido conjuntivo altamente vascularizado e innervado. Os botões gustativos encontram-se nas superfícies laterais do epitélio da papila^{8,9,10,18}. Vale ressaltar mais uma vez que a análise do terço posterior dorsal e da borda lateral foi impossibilitada neste estudo pelo tipo de corte realizado previamente nas secções histológicas.

A região ventral fica voltada para o assoalho bucal, e é recoberta por mucosa de revestimento, sendo a superfície é flexível e capaz de suportar distensão. O epitélio é muito fino e permeável, e apresenta estrato espinhoso pouco desenvolvido^{9,18}, padrão este também observado nos ratos, e ausência de queratina. Embora presente no epitélio da mucosa ventral dos ratos, a camada córnea apresentou-se bem fina, e sem presença de projeções papilares. Assim como nos ratos, a mucosa da superfície do ventre dos humanos é firmemente ligada ao músculo subjacente e

não apresenta submucosa.

A lâmina própria contém menos fibras colágenas, as quais seguem um curso mais irregular entre os pontos de ancoragem. Dessa forma, a mucosa pode ser distendida até uma certa extensão, antes que tais fibras se tornem esticadas e possam limitar distensões posteriores. A interface com o tecido conjuntivo é relativamente plana, embora as papilas do tecido conjuntivo delgado frequentemente penetrem no epitélio^{9,18}.

CONCLUSÃO

Por sua semelhança em vários aspectos, atesta-se que a mucosa jugal e língua de ratos Wistar apresenta semelhança à mucosa oral humana, o que pode ser bastante útil em uma variedade de experimentos científicos, uma vez que pode mimetizar estudos em humanos.

CONFLITO DE INTERESSES

Os autores alegam não haver conflito de interesses.

REFERÊNCIAS:

- 1- Neves, SMP. Manual de cuidados e procedimentos com animais de laboratório do Biotério de Produção e Experimentação da FCF-IQ/USP/ Silvana M. P. Neves [et al.]. São Paulo: FCF-IQ/USP, 2013. 216 p.
- 2- Lima CM, Lima AK, Melo MGD, Dória GAA, Leite BLS, Serafini MR et al. Valores de referência hematológicos e bioquímicos de ratos (*Rattus norvegicus* linhagem Wistar) provenientes do biotério da Universidade Tiradentes. *Scientia Plena*. 2014;10(3):1-9.
- 3- Mattaraia VGM; Moura ASAMT. Produtividade de ratos Wistar em diferentes sistemas de acasalamento. *Ciência Rural*. 2012;42(8):1490-1496.
- 4- Franck CL, Senegaglia AC, Leite LMB, Ribas-Filho JM. Padronização de queimaduras térmicas em ratos. *Rev Bras Queimaduras*. 2018;17(1):14-19.
- 5- Abreu MAMM, Weckx LLM, Hirata CHW. Aspectos histológicos e ultraestruturais

da língua em ratos desnutridos. *Rev Bras Otorrinolaringol* 2006;72(4):523-7.

6- De Masi ECDJ, Rocha SL, Mocellin M, Faria JLG. Cicatrização de feridas realizadas na mucosa jugal de ratos com bisturi com lâmina fria e com bisturi harmônico ultrassônico. *Braz J Otorhinolaryngol*. 2009;75(3):362-6.

7- Landis R, Koch GG. The measurement of observer agreement for categorical data. *International Biometric Society*. 1977;33(1):159-174.

8- Ten Cate AR. *Histologia Oral*. In: *Mucosa Oral*. 8 ed., Rio de Janeiro, Guanabara Koogan, 2013. p. 278-310.

9- Katchburian E. *Histologia e embriologia oral: texto, atlas, correlações clínicas / Eduardo Katchburian, Victor Arana; 4. ed. rev. atual*. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2017. p 92-134.

10- Junqueira LC, Carneiro J. *Histologia básica: texto e atlas*. 13. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2018, p. 244-415.

11- Ferraro CTL, Canedo NHS, Oliveira SP, Carvalho MGC, Dias EP. Infecção oral pelo HPV e lesões epiteliais proliferativas associadas. *J. Bras. Patol. Med. Lab*. 2011;47(4):451-459.

12- Montanari T. *Histologia: texto, atlas e roteiro de aulas práticas [recurso eletrônico] / Tatiana Montanari*. –3. ed. –Porto Alegre: Edição do Autor, 2016.

13- Barrington EP. *Dry residue density of cheek and palate mucosa of the rat*. University of Illinois, Chicago, 1968.

14- Salum FG, Cherubini K, Amenábar JM. Modelos animais empregados em pesquisas que testam o efeito da aplicação de agentes químicos na mucosa bucal. *RFO UPF*. 2004;9(2)7-12.

15- Reis SR, Medrado AP, Marchionni AM, Figueira C, Fracassi LD, Knop LA. Effect of 670-nm laser therapy and dexamethasone on tissue repair: a histological and ultrastructural

study. *Photomed Laser Surg*. 2008;26(4):307-13. doi: 10.1089/pho.2007.2151.

16- Wagner VP, Meurer L, Martins MAT, Danilevicz CK, Magnusson AS, Marques MM et al. Influence of different energy densities of laser phototherapy on oral wound healing. *J Biomed Opt*. 2013;18(12):128002. doi:10.1117/1.JBO.18.12.128002.

17- Fortuna T, Gonzalez AC, Sá MF, Andrade ZA, Reis SRA, Medrado ARAP. Effect of 670 nm laser photobiomodulation on vascular density and fibroplasia in late stages of tissue repair. *Int Wound J*. 2018;15:274–282. doi: 10.1111/iwj.12861

18- Azevedo JB, Faber J, Leal S, Lucci C. *Histologia da cavidade oral*. In: *Sistema digestório integração básico-clínica [livro eletrônico] / Reinaldo Barreto Oriá, Gerly Anne de Castro Brito (org.)*. – São Paulo: Blucher, 2016. 3 Mb; ePUB.