

Hipotireoidismo altera secreção e composição salivar em ratos sépticos

Hypothyroidism alters salivary secretion and composition in septic rats

Resumo

Objetivo: Este estudo investigou os efeitos do hipotireoidismo na secreção salivar total, nas concentrações de proteína e de eletrólitos (Na^+ , K^+ e Ca^{+2}) da saliva estimulada de ratos sépticos.

Metodologia: Foram utilizados ratos Wistar (200-280g) separados em dois grupos: tireoidectomizados (TX) e controle (N). Os ratos receberam injeção intraperitoneal de lipopolissacarídeo (LPS), 250 μg /100g de peso corporal (p.c.), ou salina (SL), 90 min antes da estimulação salivar com pilocarpina (5mg/kg de p.c.) para coleta de fluxo salivar total por 15 min ($\mu\text{L}/\text{min}/100\text{g}$ de p.c.). A concentração de proteínas totais foi analisada pelo método de *Lorwy* e as concentrações de eletrólitos através de reagente padrão (*Doles*) para fotômetro de chama (Na^+ , K^+) e teste colorimétrico (Ca^{+2}).

Resultados: O hipotireoidismo e a endotoxemia induzida pelo LPS diminuíram o fluxo salivar (Teste de Mann-Whitney, $P < 0,05$). A seps reduziu significativamente a concentração de proteínas totais salivar de ratos TX e a concentração de íon sódio na saliva de ratos N. Não houve alteração nas concentrações de íon potássio em nenhum dos grupos, mas o hipotireoidismo provocou aumento da concentração de íon cálcio na saliva.

Conclusão: A secreção salivar e a composição da saliva são alteradas pelo hipotireoidismo em ratos sépticos.

Palavras-chave: Saliva; hipotireoidismo; seps

Abstract

Purpose: We investigated the effects of hypothyroidism on salivary flow rate, total protein and electrolytes concentrations (Na^+ , K^+ and Ca^{+2}) in septic rats.

Methods: Male Wistar rats (200-280g) were thyroidectomized (TX) or sham operated (N) and treated with lypopolysaccharide (LPS) (250 μg /100g b.w.; i.p.) or saline (SL), 90 min before salivary stimulation with pilocarpine (5mg/kg; i.p.). Saliva was collected over 15 min ($\mu\text{L}/\text{min}/100\text{g}$ of b.w.). Total proteins were analyzed by *Lorwy* method and electrolytes concentrations were determined by flame fotometry (Na^+ , K^+) and colorimetric test (Ca^{+2}).

Results: Hypothyroidism and sepsis by LPS injection caused a decrease in salivary flow rates (Mann-Whitney Test, $P < 0.05$). LPS injection decreased salivary total protein concentration in TX rats and sodium concentration in N rats. Sepsis and thyroid hormones do not participate in the molecular mechanism of potassium transport, but hypothyroidism increased calcium concentration in saliva.

Conclusion: Salivary flow rate and composition are modified by hypothyroidism in rats with sepsis.

Key words: Saliva; hypothyroidism; sepsis

Flávia Oliveira de Lima^a
Maria José Pedreira Ramalho^{b,c}
Maria do Carmo Oliveira Rummler^d
Tania Tavares Rodriguez^d

^aCurso de Pós-Graduação em Farmacologia, USP/Ribeirão Preto, Ribeirão Preto, SP, Brasil

^bDepartamento de Fisiologia, Universidade Federal da Bahia, Salvador, BA, Brasil

^cCentro de Ensino e Treinamento em Anestesiologia do Hospital São Rafael, Salvador, BA, Brasil

^dCurso de Odontologia, Escola Bahiana de Medicina e Saúde Pública, Fundação Bahiana para o Desenvolvimento das Ciências, Salvador, BA, Brasil

Correspondência:

Tania Tavares Rodriguez
Rua Engenheiro Adhemar Fontes, 293/602
Salvador, BA – Brasil
41810-710
E-mail: ttr@ufba.br

Recebido: 04 de julho, 2007
Aceito: 05 de novembro, 2007

Introdução

A saliva é um dos mais complexos e importantes fluidos do corpo, sendo essencial na preservação da saúde oral. Desempenha funções na digestão inicial dos alimentos, na lubrificação da cavidade oral, facilitando a deglutição, e na defesa local e sistêmica da cavidade oral, da região de orofaringe e do trato gastrointestinal superior (1,2). Alterações funcionais da glândula salivar contribuem para os sintomas orais desagradáveis da xerostomia, além de aumentar a predisposição a diversas doenças da mucosa oral (3).

A quantidade e a qualidade de saliva secretada dependem de processos locais e sistêmicos, com a participação do sistema nervoso autônomo, de hormônios e de neuropeptídeos (4). O estresse físico, por exemplo, causado por procedimentos cirúrgicos aumenta a concentração protéica e reduz o fluxo salivar (5).

Os hormônios tireóideos são essenciais para garantir energia corporal através do aumento da termogênese e da produção de ATP nas principais vias metabólicas. Neste contexto, são indispensáveis na maturação de mucosas e no crescimento e na diferenciação epiteliais. Modulam também a sensibilidade das glândulas salivares à estimulação autonômica, o que influencia o fluxo salivar, além de regular a atividade de enzimas como $\text{Na}^+\text{K}^+\text{-ATPase}$ (6,7). Estudos anteriores mostraram que a tireoidectomia altera a função da parótida em ratos, resultando em decréscimo do fluxo salivar (8).

A sepse (disfunção de múltiplos órgãos e hipoperfusão tecidual decorrente de hipotensão refratária) provoca alterações sistêmicas com elevada taxa de mortalidade, decorrente de resposta inflamatória exacerbada à presença de agente infeccioso ou de lipopolissacarídeo (LPS) – endotoxina de bactéria gram-negativa (9). A alteração da função tireóidea associada a uma endotoxemia provocada pelo LPS pode alterar tanto a composição da saliva como o fluxo salivar, culminando em sérias conseqüências na mastigação e na deglutição, como também em susceptibilidade a infecções bucais, doença cárie e doença periodontal.

O objetivo deste estudo foi avaliar os efeitos do hipotireoidismo na secreção salivar total e nas concentrações de proteínas e de eletrólitos (Na^+ , K^+ e Ca^{+2}) na saliva estimulada de ratos sépticos.

Metodologia

Foram utilizados 47 ratos Wistar (200 a 280 g), provenientes da Escola de Medicina Veterinária da Universidade Federal da Bahia. Os animais foram mantidos em ambiente com temperatura controlada ($22 \pm 2^\circ\text{C}$), com 12 horas de luz artificial diária (6:00h às 18:00h). Foram agrupados em 4 a 5 ratos por gaiola, separados de acordo com o procedimento cirúrgico: grupos normais (N) e grupos tireoidectomizados (TX). Os animais tireoidectomizados receberam água de torneira com lactato de cálcio a 1% como forma de prevenir alterações no metabolismo de cálcio. O hipotireoidismo foi induzido através da retirada total da glândula tireóide, 15 a

20 dias antes do experimento, sob anestesia com tribromoetanol (TBE, Aldrich Chemical Co., St. Louis, MO, EUA) a 2,5%, 1mL/100g peso corporal (p.c.), intraperitoneal (i.p.). Os animais-controle (N) foram submetidos à anestesia e aos procedimentos cirúrgicos iniciais exatamente idênticos ao grupo TX.

Os grupos de animais N e TX foram tratados com injeções i.p. de LPS, 250µg/100g de p.c., *Escherichia coli* sorotipo 055:B5 (Sigma Chemical Co., St. Louis, MO, EUA), dose única, diluída em solução salina a 0,9% (SL) para a indução de sepse no dia do experimento. Os animais-controle receberam um volume similar de SL a 0,9% i.p. Após 90 minutos da injeção de LPS, os animais foram anestesiados com TBE a 2,5%, traqueostomizados e estimulados com pilocarpina i.p. (5mg/kg de p.c.). Coletou-se a saliva total durante 15 minutos a partir da primeira gota de saliva.

Os animais foram sacrificados após cada procedimento experimental através do aprofundamento da anestesia, seguindo os princípios éticos e científicos do uso de animais em pesquisa e ensino, segundo o COBEA.

Foram avaliados o fluxo salivar (µL/min/100g de p.c.), a concentração de proteínas totais pelo método de *Lorwy* e a concentração de eletrólitos (Na^+ e K^+) através de reagente padrão (Doles, Goiânia, GO, Brasil) para fotômetro de chama. O íon cálcio salivar foi avaliado através de teste colorimétrico, de acordo com a intensidade da cor produzida pelos compostos como a cresolfaleína-complexona. A determinação da concentração plasmática de T_3 e T_4 foi realizada pela técnica de fluorimetria, utilizando-se de kits comerciais (EG & G do Brasil Ltda – Wallac Division, São Paulo, SP, Brasil). Os níveis de TSH plasmático foram dosados em duplicata pela técnica de radioimunoensaio, utilizando-se materiais fornecidos pelo National Institute of Diabetes and Digestive and Kidney Diseases (NIDDK, Baltimore, EUA).

A análise estatística foi realizada por método não-paramétrico de Mann-Whitney, para comparação das médias entre os grupos de ratos N e TX, tratados ou não com LPS. O nível de significância adotado foi de 5%.

Resultados

Após 15 a 20 dias da remoção da glândula tireóide, os níveis de TSH plasmático foram maiores que 25ng/mL e os níveis de T_3 e T_4 plasmáticos foram abaixo de 0,7ng/mL e 1,3µg/dL em ratos hipotireóideos, respectivamente. Nos ratos normais (N) os níveis de TSH plasmático foram abaixo de 1,5ng/mL e os níveis de T_3 e T_4 plasmáticos foram acima de 1,1ng/mL e 4,5µg/dL, respectivamente ($P<0,05$).

O grupo TX tratado com salina apresentou redução significativa do fluxo salivar em relação ao grupo N (N-SL: $17,41 \pm 4,94 \mu\text{L}/\text{min}/100\text{g p.c.}$; TX-SL: $7,95 \pm 2,74 \mu\text{L}/\text{min}/100\text{g p.c.}$; $P<0,01$). Ambos os grupos, N e TX, após injeção de LPS, apresentaram fluxo salivar significativamente menor do que seus controles, tratados com salina (N-LPS: $10,29 \pm 3,77 \mu\text{L}/\text{min}/100\text{g p.c.}$; TX-LPS: $5,14 \pm 3,44 \mu\text{L}/\text{min}/100\text{g p.c.}$; $P<0,01$) (Figura 1). A concentração de proteínas

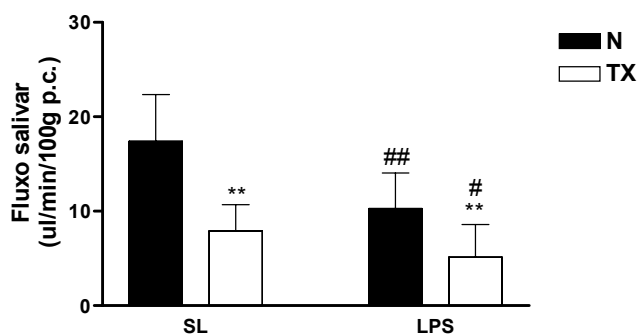


Fig. 1. Efeitos do hipotireoidismo e da sepse no fluxo salivar. Os resultados estão expressos como média \pm desvio padrão (DP), com 10-13 animais/grupo. A análise estatística foi realizada pelo método não-paramétrico de Mann-Whitney. ** $P < 0,01$ para comparações entre grupos normais (N) e tireoidectomizados (TX) tratados com salina (SL), e N e TX tratados com lipopolissacarídeo (LPS). ## $P < 0,01$ para comparações entre grupos N-SL e N-LPS, e # $P < 0,05$ para comparações entre grupos TX-SL e TX-LPS.

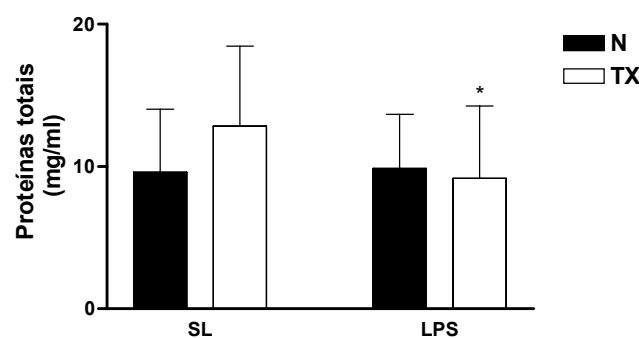


Fig. 2. Efeitos do hipotireoidismo e da sepse na concentração de proteínas totais na saliva. Os resultados estão expressos como média \pm desvio padrão (DP), com 10-13 animais/grupo. A análise estatística foi realizada pelo método não paramétrico de Mann-Whitney. * $P < 0,05$ para comparações entre grupos tireoidectomizados (TX) tratados com salina (SL), e TX tratados com lipopolissacarídeo (LPS).

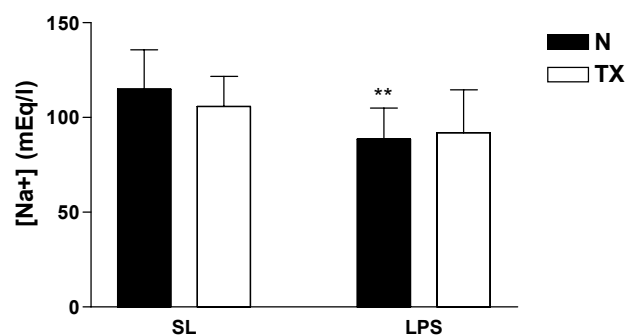


Fig. 3. Efeitos do hipotireoidismo e da sepse na concentração de sódio salivar. Os resultados estão expressos como média \pm desvio padrão (DP), com 10-13 animais/grupo. A análise estatística foi realizada pelo método não paramétrico de Mann-Whitney. ** $P < 0,01$ para comparações entre grupos normais (N) tratados com (SL) e N tratados com lipopolissacarídeo (LPS).

totais foi significativamente menor ($P < 0,05$) no grupo TX-LPS ($9,18 \pm 5,07 \text{ mg/mL}$) quando comparado ao seu grupo controle TX-SL ($12,84 \pm 5,62 \text{ mg/mL}$) (Figura 2). A concentração de sódio foi significativamente menor ($P < 0,01$) no grupo N-LPS ($88,54 \pm 16,52 \text{ mEq/L}$) em relação ao N-SL ($114,90 \pm 20,84 \text{ mEq/L}$) (Figura 3). Não houve diferença estatisticamente significativa nas concentrações de ion potássio entre os diversos grupos (Figura 4). A concentração de ion cálcio foi significativamente maior ($P < 0,01$) no grupo TX-SL ($5,43 \pm 1,68 \text{ mg/dL}$), quando comparada ao seu controle N-SL ($3,50 \pm 1,96 \text{ mg/dL}$) (Figura 5).

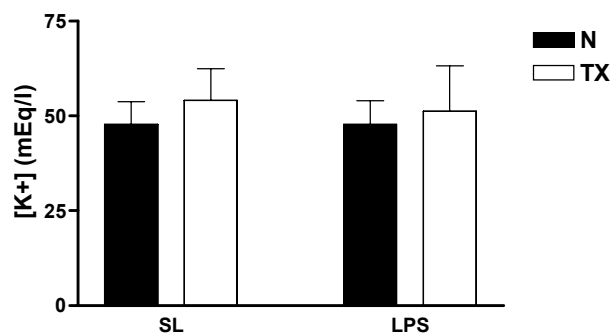


Fig. 4. Efeitos do hipotireoidismo e da sepse na concentração de potássio salivar. Os resultados estão expressos como média \pm desvio padrão (DP), com 10-13 animais/grupo. A análise estatística foi realizada pelo método não paramétrico de Mann-Whitney.

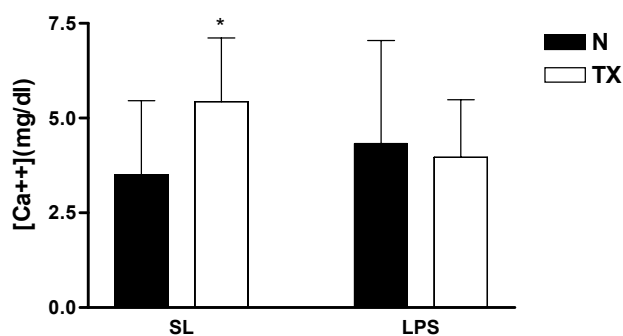


Fig. 5. Efeitos do hipotireoidismo e da sepse na concentração de cálcio salivar. Os resultados estão expressos como média \pm desvio padrão (DP), com 10-13 animais/grupo. A análise estatística foi realizada pelo método não paramétrico de Mann-Whitney. * $P < 0,05$ para comparações entre grupos normais (N) e tireoidectomizados (TX) tratados com salina (SL).

Discussão

Os hormônios tireóideos, essenciais para o fornecimento de energia corporal através de suas ações calorigênicas e estimulação da atividade enzimática, garantem as demandas metabólicas que interferem nos ajustes de fluxos e na qualidade das secreções digestivas, inclusive das glândulas salivares.

Como mostra a Figura 1, houve redução no fluxo salivar dos animais tireoidectomizados. A secreção salivar, dependente de alta taxa metabólica e de elevado fluxo sanguíneo local, ocorre contra gradiente osmótico e de pressão (10). A diminuição do consumo celular de oxigênio no hipotireoidismo resulta em ampla redução do fluxo sanguíneo para regiões com metabolismo elevado a exemplo do tecido muscular durante o exercício físico (11). O fluxo sanguíneo para uma glândula salivar ativa é dez vezes maior do que para uma massa similar de músculo esquelético em atividade (12).

A enzima Na^+K^+ -ATPase é essencial para a manutenção do gradiente iônico celular e garante o volume de fluxo salivar gerado pela dinâmica do transporte iônico transepitelial. Os hormônios tireóideos são de fundamental importância para a manutenção estrutural e funcional da glândula salivar (13,14). A glândula submandibular de ratos se atrofia após tireoidectomia, com subsequente decréscimo no fluxo salivar (10). Neste contexto, é possível que uma menor atividade da enzima Na^+K^+ -ATPase, provocada pelo decréscimo dos hormônios tireóideos, altere o transporte de água nos ácinos das glândulas salivares, causando, assim, uma significativa redução no volume final de saliva liberada. A redução do consumo de oxigênio associada às alterações no fluxo sanguíneo das glândulas salivares no hipotireoidismo contribuíram parcialmente para os efeitos observados no fluxo salivar.

A resposta inflamatória sistêmica decorrente da sepse pode ser experimentalmente induzida através da injeção de endotoxina bacteriana – LPS. Caracteriza-se pela hipoperfusão tecidual, redistribuição de fluxo sanguíneo, diminuição da resistência vascular sistêmica, associada ao aumento dos níveis de óxido nítrico (NO), prostaglandinas, citocinas pró-inflamatórias e outros mediadores (15). Os dados na Figura 1 mostram uma significativa redução do fluxo salivar em ratos N e TX tratados com LPS.

O LPS induz macrófagos, neutrófilos e células endoteliais a produzirem numerosos mediadores, tais como citocinas, NO e eicosanóides (16). O NO modula vários processos fisiológicos na glândula salivar como: secreção, suprimento sanguíneo, neurotransmissão em terminações nervosas, defesa, crescimento e diferenciação de tecidos vizinhos (17). É considerado um mediador na ativação dos receptores muscarínicos da glândula sublingual e da glândula submandibular (18). Abdollahi et al. (19) observaram que o inibidor da sintase do NO (L-NAME) reduz o fluxo salivar, enquanto que a L-Arginina (substrato para a formação do NO) restaura os efeitos inibitórios na glândula salivar causados pela morfina (20). Por outro lado, a liberação do NO induzida por LPS ativa também a ciclooxigenase, que por sua vez induz a formação de prostaglandinas, reconhecidamente inibidoras da salivagem (21). Durante a sepse fecha-se um círculo vicioso de difícil identificação da relação causa-efeito, no qual a formação de NO e prostaglandinas contribuem para a diminuição do fluxo salivar. A indução de endotoxemia nos ratos TX reduziu a concentração de proteínas totais da saliva (Figura 2). Os

mecanismos fisiológicos que resultam na modificação da composição protéica da glândula salivar são dependentes principalmente de mediação simpática beta-adrenérgica com sinalização através de AMPc como segundo mensageiro (17). Um trabalho recente demonstrou diminuição significativa do conteúdo de AMPc em mucosa intestinal de ratos hipotireóideos (22). Outro estudo revelou que os hormônios tireóideos são essenciais para a atividade exócrina de grânulos secretórios em camundongos fêmeas (14).

Na sepse severa, o eixo hipotálamo-hipófise-tireóide encontra-se deprimido, e a conversão de T_4 em T_3 nos tecidos periféricos está diminuída por mecanismos pouco esclarecidos (23). Os resultados apresentados na Figura 2 mostram que a indução de sepse em ratos N não alterou a concentração de proteínas totais na saliva. A concentração final de proteínas na saliva é resultado de um mecanismo complexo dependente de hormônios (14), de atividade colinérgica, de atividade adrenérgica, de nervos não adrenérgicos e de nervos não-colinérgicos (2). É possível que a dose de LPS utilizada neste estudo não tenha sido suficiente para inibir a função tireóidea no grupo N-LPS. No entanto, o hipotireoidismo associado à sepse tornou evidente a alteração protéica na saliva.

Como mostra a Figura 3, a redução na concentração de íon sódio (Na^+) nos animais normais endotoxêmicos pode ser explicada pela redução do fluxo salivar durante a sepse. A concentração de íon sódio na saliva é dependente do fluxo salivar (24). Portanto, o baixo fluxo salivar provocado pela sepse permite uma maior reabsorção tubular do sódio (Na^+) e, conseqüentemente, redução nas concentrações de sódio (Na^+) na saliva liberada. Por outro lado, o grupo TX endotoxêmico não apresentou diferença estatisticamente significativa, provavelmente devido à baixa atividade da enzima Na^+K^+ -ATPase, o que diminuiu a reabsorção tubular de íon sódio.

Não houve nenhuma alteração significativa nas concentrações de íon potássio (Figura 4). Segundo Bodner e Gorsky (24) o potássio é um íon que geralmente independe de alterações no fluxo de secreção salivar, sugerindo que um aumento ou diminuição do fluxo salivar não provocaria modificações nas concentrações de íon potássio na saliva. O aumento da concentração de íon cálcio (Ca^{+2}) salivar nos animais hipotireóideos (Figura 5) não pode ser explicado pela oferta de lactato de cálcio na dieta dos ratos TX, já que não foi registrado aumento significativo de íon cálcio salivar no grupo TX-LPS. Estudos mostram que hormônios tireóideos ativam o trocador $\text{Na}^+/\text{Ca}^{+2}$ em enterócitos de ratos, numa via dependente de AMPc. Estudos cinéticos do trocador $\text{Na}^+/\text{Ca}^{+2}$ na membrana luminal de enterócitos apresentaram menor velocidade de transporte deste trocador em ratos hipotireóideos (22). Ademais, os níveis de AMPc variam diretamente com os níveis de hormônios tireóideos. Entretanto, não foi observado um aumento significativo na concentração de íon cálcio salivar nos ratos TX tratados com LPS. É possível que a drástica diminuição no fluxo salivar dos ratos TX endotoxêmicos tenha permitido uma

melhor reabsorção tubular do cálcio (Ca^{+2}) e, conseqüentemente, reduziu as concentrações de cálcio (Ca^{+2}) na saliva liberada em relação aos seus controles TX-SL.

Do nosso conhecimento, este é o primeiro estudo que aborda as interações do hipotireoidismo e da sepse no funcionamento da glândula salivar. Diante da importância da secreção salivar para a saúde oral, são necessários estudos adicionais que investiguem o mecanismo pelo qual a hipofunção da tireóide e a sepse afetam o fluxo e a composição salivares.

Conclusão

1. A sepse induzida por LPS promove drástica redução do fluxo salivar em ratos normais e tireoidectomizados.
2. Em ratos hipotireóides, a taxa de secreção salivar diminui significativamente, sugerindo uma dependência dos hormônios tireóideos para a produção de saliva.
3. A indução de sepse nos ratos tireoidectomizados reduz a concentração de proteínas totais na saliva.

4. A sepse resulta em maior reabsorção de íon sódio nos ductos das glândulas salivares em ratos normais devido ao menor fluxo salivar. No grupo de ratos tireoidectomizados tratados com LPS, possivelmente a baixa atividade da Na^+K^+ -ATPase não favorece maior reabsorção tubular de íon sódio.

5. A sepse e os hormônios tireóideos não participam nos mecanismos moleculares de transporte de íon potássio, já que não houve modificação na concentração de potássio salivar.

6. O hipotireoidismo provoca aumento na concentração de íon cálcio salivar.

Agradecimentos

Agradecemos a Eridan Almeida Santos pelo suporte técnico; aos coordenadores dos Laboratórios de Imunologia, Bioquímica e Fisiologia do Instituto de Ciências da Saúde da UFBA pelo apoio científico; à FAPESB pelo apoio financeiro e ao CNPq pela bolsa de Iniciação Científica/PIBIC.

Referências

1. Möller P, Perrier M, Ozsahin M, Monnier P. A prospective study of salivary gland function in patients undergoing radiotherapy for squamous cell carcinoma of the oropharynx. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2004;97:173-89.
2. Bradley RM. *Essentials of Oral Physiology.* 2. ed. St. Louis: Mosby; 1995.
3. Dixit PS, Ghezzi EM, Wagner-Lange LA, Ship JA. The influence of hypothyroidism and thyroid replacement therapy on stimulated parotid flow rates. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 1999;87:55-60.
4. Grisius MM. Salivary gland dysfunction: a review of systemic therapies. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2001;92:156-62.
5. Ishii H, Nakagawa Y. Stress response to surgical procedures in the submandibular region and its influence on salivary secretion in mice. *Arch Oral Biol.* 2001;46:387-90.
6. Kurihara K, Tajima Y, Kawasaki M, Ueha T. Modulation of thyroid hormone-dependent Na^+, K^+ -ATPase induction in cultured human submandibular gland cell lines, HSG cells. *Oral Oncol.* 1999;35:368-74.
7. Saito S, Chen MZ, Takiguchi H. Influence of thyroid hormone on (Na^+, K^+)-dependent adenosine triphosphatase activity in rat submandibular glands. *Arch Oral Biol.* 1982;27:83-5.
8. Johnson DA, Kalu DN. Influence of thyroxine in the regulation of rat parotid salivary protein composition. *J Dent Res.* 1988; 67:812-6.
9. Dellinger RP, Carlet JM, Masur H, Gerlach H, Calandra T, Cohen J et al. Surviving Sepsis Campaign guidelines for management of severe sepsis and septic shock. *Crit Care Med.* 2004;32:858-73.
10. Douglas CR. Fisiologia da Secreção Salivar. In: Douglas CR. *Tratado de Fisiologia aplicada às ciências médicas.* Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2006. p. 889-900.
11. McAllister RM, Albarracin I, Price EM, Smith TK, Turk JR, Wyatt KD. Thyroid status and nitric oxide in rat arterial vessels. *J Endocrinol.* 2005;185:111-9.
12. Kutchai HC, Secreções Gastrointestinais. In: Koeppen BM, Levy MN, Stanton BA. *Fundamentos de Fisiologia.* Rio de Janeiro: Elsevier; 2006. p. 451-72.
13. Martinez JR, Cassity N. Effect of transport inhibitors on secretion by perfused rat submandibular gland. *Am J Physiol.* 1983;245: G711-6.
14. Kurabuchi S. Thyroid hormone regulation of granular intercalated duct cells in the submandibular glands of female mice. *Odontology* 2003;91:7-12.
15. Russell JA. Management of sepsis. *N Engl J Med.* 2006;355: 1699-713.
16. Karima R, Matsumoto S, Higashi H, Matsushima K. The molecular pathogenesis of endotoxic shock and organ failure. *Mol Med Today.* 1999;5:123-32.
17. Looms D, Tritsarlis K, Pedersen AM, Nauntofte B, Dissing S. Nitric oxide signalling in salivary glands. *J Oral Pathol Med.* 2002; 31:569-84.
18. Leirós CP, Rosignoli F, Genaro AM, Sales ME, Sterin-Borda L, Santiago Borda E. Differential activation of nitric oxide synthase through muscarinic acetylcholine receptors in rat salivary glands. *J Auton Nerv Syst.* 2000;79:99-107.
19. Abdollahi M, Dehpour A, Shafayee F. L- arginine/nitric oxide pathway and interaction with lead acetate on rat submandibular gland function. *Pharmacol Toxicol.* 2000;87:198-203.
20. Abdollahi M, Safarhamidi H. Protection by nitric oxide of morphine-induced inhibition of rat submandibular gland function. *Pharmacol Res.* 2002;45:87-92.
21. Lomniczi A, Suburo AM, Elverdin JC, Mastronardi CA, Diaz S, Rettori V et al. Role of nitric oxid in salivary secretion. *Neuro-immunomodulation.* 1998;5:226-33.
22. Kumar V, Prasad R. Thyroid hormones stimulate calcium transport systems in rat intestine. *Biochim Biophys Acta.* 2003;20: 185-94.
23. Stathatos N, Levetan C, Burman KD, Wartofsky L. The controversy of the treatment of critically ill patients with thyroid hormone. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab.* 2001;15:465-78.
24. Bodner L, Gorsky M. Parotid gland secretion of the aging rat. *Arch Gerontol Geriatr.* 1996;22:63-9.