

## ESTUDO MORFOMÉTRICO DA EVOLUÇÃO PÓS-NATAL DA GLÂNDULA PARÓTIDA DE FILHOTES DE RATAS INJETADAS COM DIFERENTES DOSES DE PAROTIN

Gildo MATHEUS\*

---

*RESUMO: A fração ocupada por células acinosas (núcleo + citoplasma), citoplasma de células acinosas, núcleo de células acinosas, células de ductos intercalares, células de ductos estriados e "outras estruturas" da glândula parótida foi estimada pelo método do CHALKLEY, em 48 animais nascidos de ratas injetadas com Parotin. O sacrifício dos filhotes ocorreu aos 5, 15, 30 e 60 dias de idade tendo os resultados demonstrado que nos animais injetados houve aumento da volumetria relativa que envolveu tantos os ácinos quanto os ductos, tendo tal aumento sido mais acentuado nos injetados com 4 doses da droga.*

*UNITERMOS: Morfometria; parótida; parotin.*

---

### INTRODUÇÃO

Além do estudo morfológico, existem atualmente métodos como a morfometria que permitem estimar qualitativa e quantitativamente dados sobre um tecido ou órgão do qual são estudadas transecções e que podem ser usadas com grande precisão na análise de resultados e trabalhos científicos, inclusive na área biológica.

Segundo WEIBEL & GOMEZ<sup>29</sup> a validade de tais medidas relativas, decorre do teorema de Delesse o qual preconiza que "a fração de volume ocupada por um objeto num continente é diretamente proporcional à fração de área que o mesmo ocupa num plano seccional, ao acaso, pelo continente". Esta fração de volume pode ser avaliada com base na fração de pontos de um sistema teste sobre a área considerada, sendo tal estimativa válida em estudos histológicos, desde que obedecidas determinadas regras específicas. A partir da publicação de trabalhos básicos sobre morfometria<sup>1,2,3,24,29</sup> tal metodologia tem sido utilizada com sucesso no estudo de diversos órgãos, inclusive das glândulas salivares<sup>23,26,27</sup>.

Por outro lado, as glândulas salivares principais têm sido alvo da atenção de diversos pesquisadores como glândulas exócrinas profundamente influenciadas por diferentes hormônios<sup>25,18,15,13</sup> ou órgãos de secreção interna,<sup>18,19,22,16</sup> atribuindo-se a parótida, coadjuvada pela submandibular, a capacidade de síntese de uma substância biologicamente ativa, considerada como um hormônio salivar,<sup>10</sup> denominado Parotin.

Ainda, estudos da ação das glândulas endócrinas ou de seus hormônios na morfologia das glândulas salivares têm possibilitado acumular evidências que alterações funcionais de diversos órgãos endócrinos induzem alterações morfológicas significativas nas glândulas salivares. Portanto, como o Parotin é sintetizado principalmente pela parótida, baseados no fato de que a administração de hormônios produzidos por determinada glândula de secreção interna podem afetar o crescimento e morfodiferenciação da glândula correspondente, no filhote, propomo-nos a estudar, morfometricamente, a evolução pós-natal da glândula parótida de animais nascidos de ratas prenhes injetadas com Parotin.

---

\* Departamento de Patologia — Faculdade de Odontologia — UNESP — 16.100 — Aracatuba — SP.

## MATERIAL E MÉTODOS

Na realização do presente trabalho foram utilizados 48 animais (machos), nascidos de ratas injetadas com 1, 2 e 4 doses de Parotin\* e 12 animais nascidos de ratas injetadas com solução fisiológica (grupo controle).

A administração de Parotin ocorreu por via intraperitoneal, na proporção de 3 mg de Parotin diluído em 0,5ml de solução fisiológica, imediatamente após a constatação do “plug” vaginal nos animais injetados com uma dose; imediatamente após a constatação do “plug” vaginal e no 6.º dia de prenhez, nos animais injetados com duas doses e imediatamente após a constatação do “plug” vaginal, no 6.º, 12.º e 18.º dias de prenhez, nos animais injetados com 4 doses.

A administração de solução fisiológica nos animais controle ocorreu também intraperitonealmente, na proporção de 0,5ml, e se fez segundo a mesma conduta adotada para os animais injetados com Parotin, tanto com relação aos períodos considerados quanto com relação ao número de doses administradas.

Para cada grupo considerado foram sacrificados, por concussão, 4 animais, nas faixas etárias de 5, 15, 30 e 60 dias de idade, os quais tiveram suas glândulas parótidas removidas, recortadas em diversos fragmentos e fixadas por 6 horas em Helly. Após lavagem em água corrente por 12 horas, as peças foram desidratadas, diafanizadas e incluídas em parafina.

Na determinação da volumetria relativa (fração de volume) de componentes da glândula parótida, foram utilizados cortes com 6 micrômetros de espessura, corados pela hematoxilina de Harris e eosina aquosa a 1%.

A fração ocupada por células acinosas (núcleo + citoplasma), citoplasma de células acinosas, núcleo de células acinosas, células de ductos intercalares, células de ductos estriados e “outras estruturas” (células do tecido conjuntivo, de vasos e mioepiteliais) foi estimada pelo método de contagem de pontos de CHALKLEY<sup>6</sup>. Para tanto, foi usada uma ocular integradora Kpl 8X, com retículo de integração II, de 100 pontos distri-

buidos de maneira simétrica numa área quadrada e objetiva de imersão 100X. No microscópio LEITZ, DIALUX 20 com MPV, inicialmente o retículo foi focalizado sobre o material, contando-se as imagens dos pontos (Hits) que coincidissem com as do elemento considerado. Para cada amostra foram quantificados 40 campos, tomados ao acaso, num total de 160 campos.

Para medir a variação existente no número de amostras e verificar se foi suficiente a quantidade de animais e campos microscópicos, foi utilizado o teste X<sup>2</sup> (MORONEY<sup>17</sup>); tendo sido considerado, segundo PIMENTEL GOMES<sup>20</sup>, como adequado o número de amostras cuja avaliação ficou situada abaixo de 1%.

Para o cálculo do erro padrão da média dos valores relativos (fração de volume), foi utilizada a fórmula  $eA = \frac{1 - P_p A}{P \cdot P_p A}$  onde P é o número total de pontos (Hits) — contados e P<sub>p</sub>A o número de pontos (Hits) sobre a estrutura considerada, segundo SCHAEFER<sup>24</sup>.

## RESULTADOS

Para facilidade de exposição, os resultados quantitativos (volumetria relativa) estão dispostos em gráficos.

Assim, os gráficos 1 a 4 mostram a evolução da percentagem da fração de volume ocupada por ácinos (núcleo + citoplasma), citoplasma de células acinosas, núcleo de células acinosas, células de ductos intercalares, células de ductos estriados e “outras estruturas” da glândula parótida de animais nascidos de ratas controle e injetadas com 1, 2 e 4 doses de Parotin.

## DISCUSSÃO

Os resultados morfológicos quantitativos (morfométricos) dos animais nascidos de ratas controle guardam semelhança com os relatos da literatura para as faixas etárias consideradas<sup>11,26,21,28</sup>.

Com relação aos dados morfométricos dos animais nascidos de ratas injetadas com Parotin verifica-se que na glândula parótida, aos 5 dias, nos animais nascidos de ratas in-

\* Teikoku Hormone MFG. Co. Tokio, Japão.

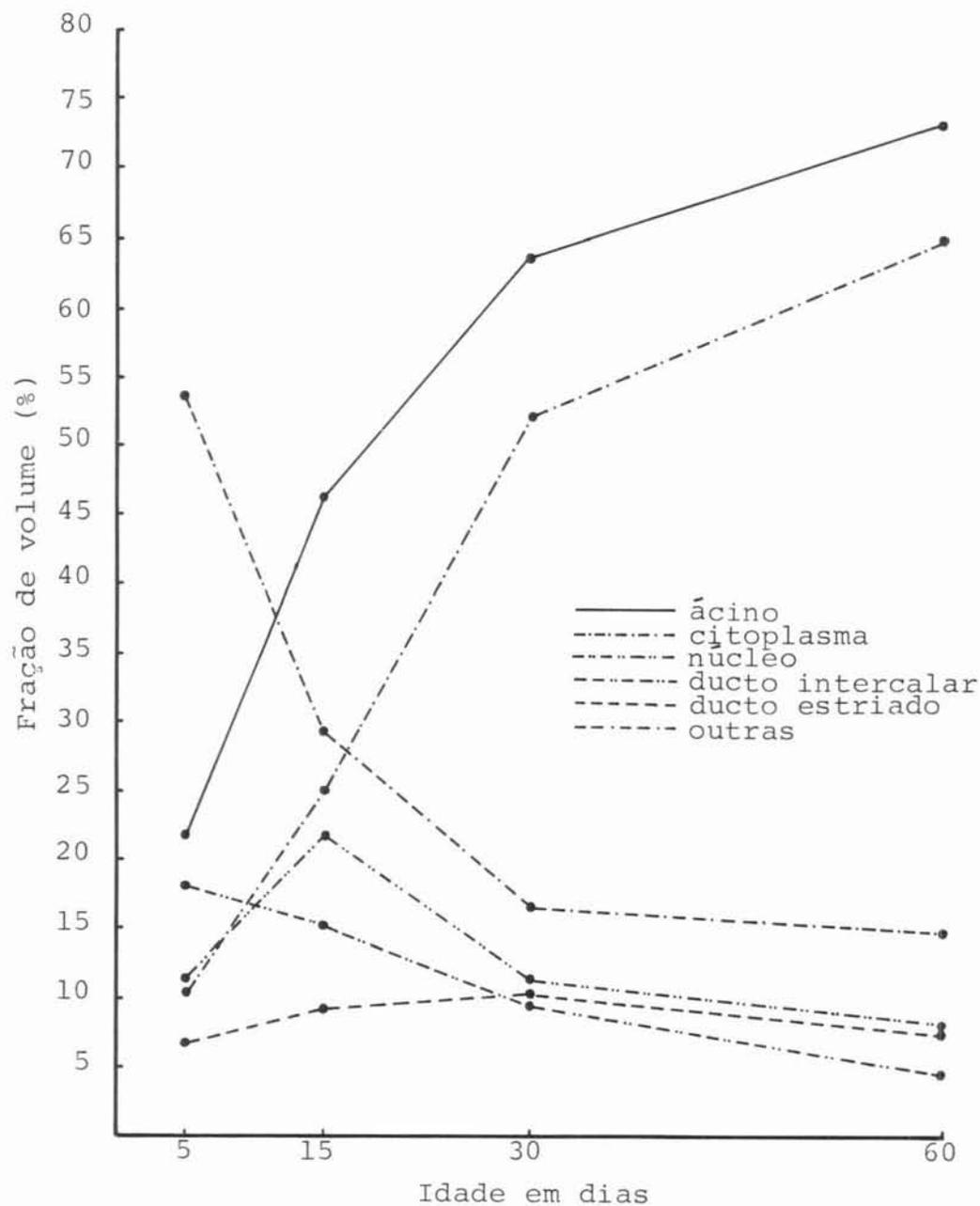


GRÁFICO 1 — Evolução percentual de componentes da glândula parótida de animais nascidos de ratas controle.

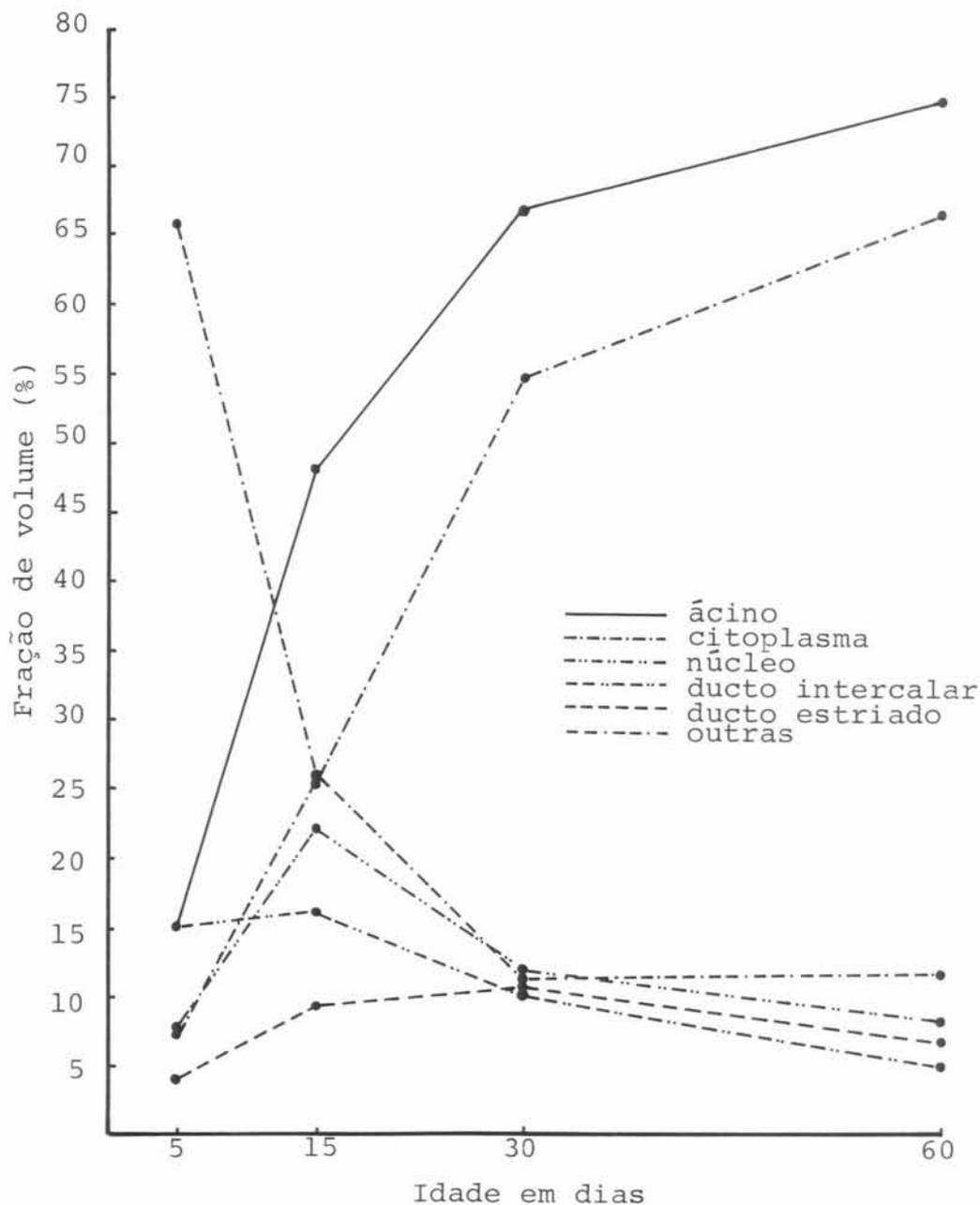


GRÁFICO 2 — Evolução percentual de componentes da glândula parótida de animais nascidos de ratas injetadas com 1 dose de Parotín.

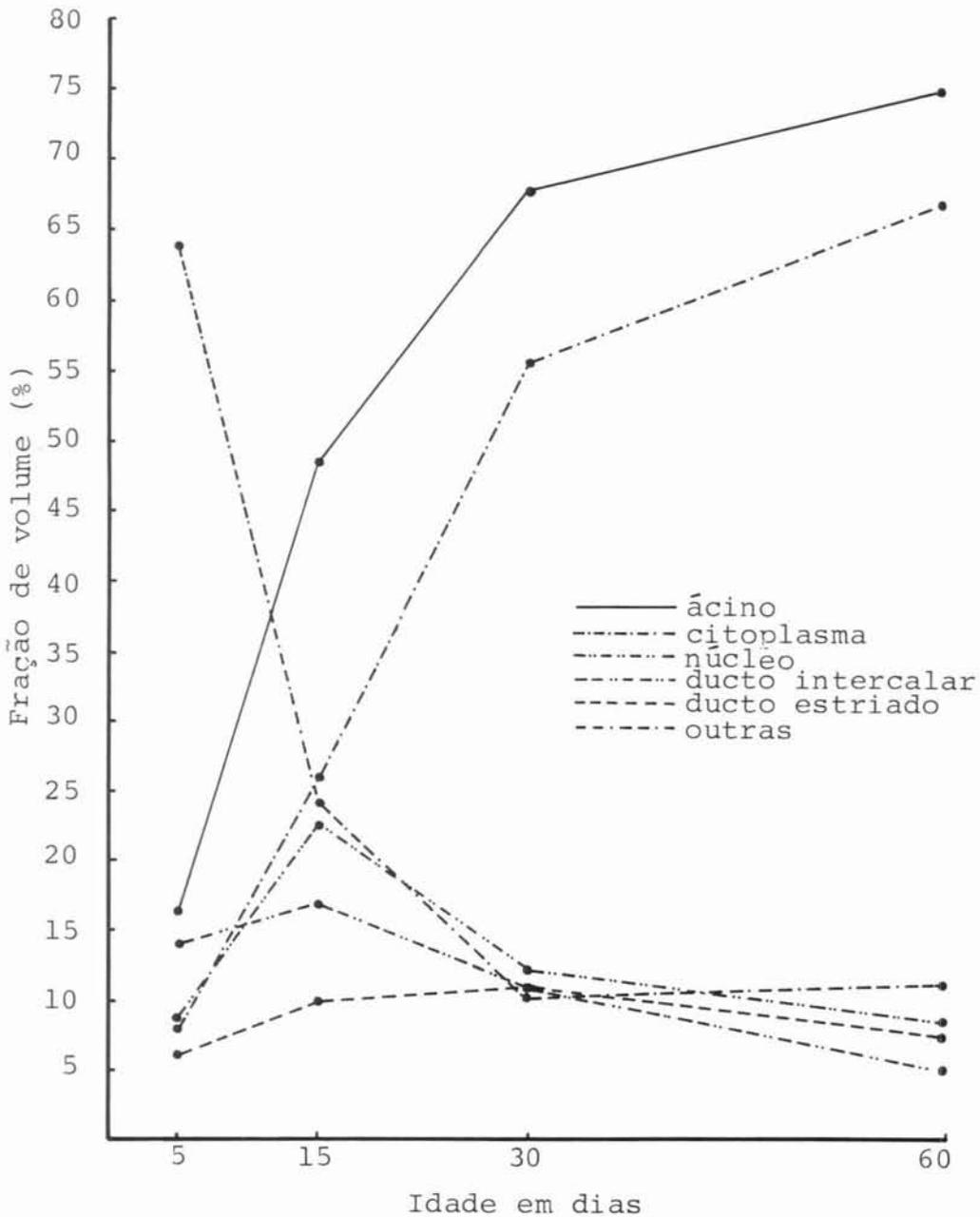


GRÁFICO 3 — Evolução percentual de componentes da glândula parótida de animais nascidos de ratas injetadas com 2 doses de Parotín.

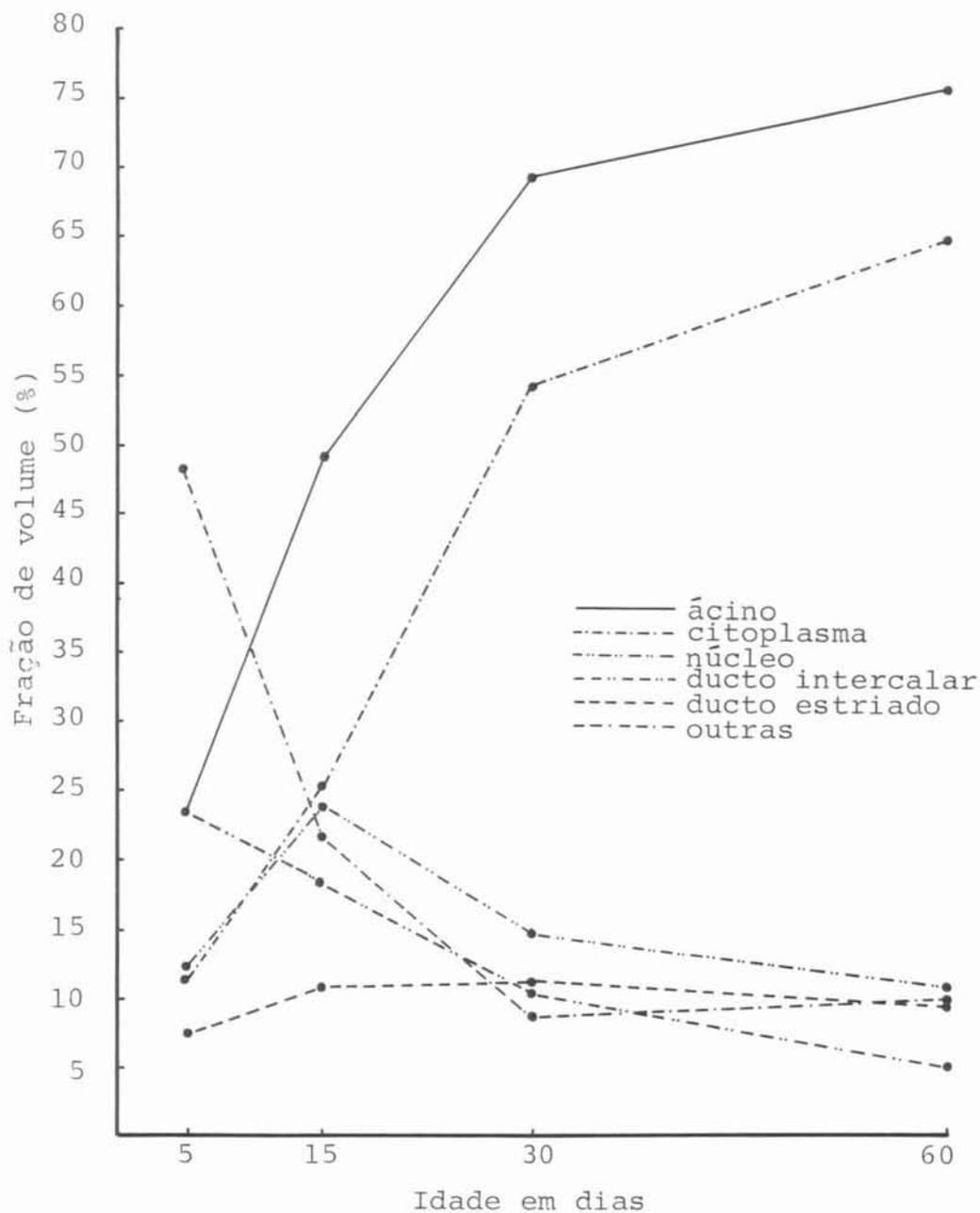


GRÁFICO 4 — Evolução percentual de componentes da glândula parótida de animais nascidos de ratas injetadas com 4 doses de Parotín.

jetadas com 1 e 2 doses de Parotin, ocorreu ligeiro decréscimo da volumetria relativa. Contudo, nos animais nascidos de ratas injetadas com 4 doses, houve fenômeno inverso, isto é, estabeleceu-se aumento da volumetria relativa. Aos 15, 30 e 60 dias, ocorreu aumento da volumetria dos ácinos, que envolveu tanto o citoplasma quanto o núcleo das células acinosas.

A análise das variações da proporção núcleo (núcleo + citoplasma) dos animais nascidos de ratas injetadas demonstra que apenas em alguns grupos ocorreu discreta queda dessa relação e que, na maioria das vezes, tal parâmetro manteve-se inalterado. Tais dados nos levam à interpretação de que o fenômeno hipertrófico quando esteve presente, foi bastante discreto e pouco significativo. Portanto, verifica-se que no crescimento dos ácinos da parótida esteve presente discreto fenômeno hipertrófico, sendo que tal fenômeno foi sempre mais evidente nos animais injetados com 4 doses de Parotin.

Quanto a volumetria dos ductos da glândula parótida cabe observar que, no geral, foi mantida a tendência de aumento, à semelhança do observado para a porção acinosa da glândula. Igualmente os animais nascidos de ratas injetadas com 4 doses de Parotin apresentaram aumento mais acentuado da volumetria relativa, principalmente nas fases etárias iniciais consideradas.

No que diz respeito à porção extraparenquima observa-se que, via de regra, houve diminuição da volumetria relativa; diminuição esta que foi mais evidente nos animais nascidos de ratas injetadas com 4 doses de Parotin.

Nos animais injetados com Parotin, os resultados morfométricos confirmam os achados histológicos permitindo observar que o crescimento da glândula parótida intensificou-se a partir dos 15 dias de idade, mesmo nos animais nascidos de ratas injetadas com 1 e 2 doses da droga. Tais resultados poderiam ser explicados com base na afirmativa de que no período que vai do 15.º ao 25.º dia de vida verifica-se rápido aumento do tamanho das células acinosas (hipertrofia) acompanhado da manutenção de elevada atividade proliferativa, quando podem ser observadas inúmeras figuras de mitose (hiperplasia)<sup>23</sup>. Portanto, levando em conta

tais observações podemos sugerir que o Parotin administrado nas ratas prenhes, numa fase de intensa multiplicação celular da parótida dos filhotes, possa ter conseguido estimular a hipófise e/ou outras glândulas de secreção interna destes animais. Conseqüentemente, o aumento da secreção de hormônios específicos, dentre os quais o STH, agindo sobre as glândulas salivares em desenvolvimento, poderia ter feito sentir sua ação mais intensamente nos chamados picos de crescimento glandular, o que explicaria o elevado índice mitótico, assim como a antecipação no crescimento e maturação observado na parótida dos animais nascidos de ratas injetadas com Parotin.

Ainda, como as observações posteriores ao lançamento da teoria endócrina das glândulas salivares<sup>7</sup> partem da hipótese de que o Parotin atuaria mediando a ação da hipófise<sup>18</sup>, acreditamos que a administração de doses consecutivas desta droga, a intervalos regulares, como ocorreu nas ratas injetadas com 4 doses, poderia induzir aumento da síntese de STH ou então potencializar a ação deste hormônio<sup>9</sup>, acarretando modificações no padrão biológico de crescimento e morfo-diferenciação da glândula parótida.

Assim, poderíamos sugerir que ao lado do aumento da síntese do hormônio somatotrófico (STH) verificou-se também aumento de insulina. Como a insulina é também um hormônio de crescimento<sup>4</sup> e a ação do STH no organismo depende, em grande parte, da presença de proporção ideal deste hormônio<sup>12</sup>, teríamos nos animais nascidos de ratas injetadas, estabelecidas as condições ideais para uma ação sinérgica do STH com a insulina, o que poderia explicar o ganho de peso corporal, glandular absoluto e relativo<sup>14</sup> e, conseqüentemente, a hiperplasia observada na glândula parótida dos animais nascidos de ratas injetadas com Parotin.

Também no caso da tireóide podemos sugerir um sinergismo entre os hormônios desta glândula e o Parotin, pois na gravidez, a glândula tireóide sofre um aumento volumétrico de 50%, aumento este que se faz acompanhar do aumento de tiroxina em grau correspondente, ambos ocasionados pelo aumento da síntese do hormônio tireotrófico<sup>8</sup>. Nestas circunstâncias, consideramos provável a passagem de maiores quanti-

dades de metabólitos da triiodotironina a tetraiodotironina através da placenta, metabólitos que juntamente com o Parotin, poderiam atuar no organismo do feto, desencadeando um aumento de síntese protéica, iniciando uma hiperplasia precoce da glândula salivar analisada. Esta hiperplasia, ainda na fase de vida intra-uterina, explicaria os achados no desenvolvimento pós-natal dos animais nascidos de ratas injetadas com Parotin, especialmente daqueles nascidos de ratas injetadas com 4 doses.

Ainda, como o aumento de tiroxina circulante leva à reabsorção mais rápida dos hidratos de carbono ao nível da mucosa intestinal<sup>5</sup>, baseados no fato de que nas etapas iniciais de desenvolvimento analisadas, a principal alimentação dos animais constituiu-se de leite materno, rico no dissacarídeo lactose, poderíamos sugerir que nos animais nascidos de ratas injetadas com Parotin, possa ter ocorrido maior aproveitamento dos hidratos de carbono, favorecendo assim o fornecimento de energia para o metabolismo intermediário de outras substâncias, o que poderia justificar os achados relatados no presente trabalho.

Devemos lembrar ainda que um dos fenômenos que mais chamou a atenção na parótida dos animais nascidos de ratas injeta-

das com Parotin, foi o aumento do volume nuclear tanto das células dos ductos quanto dos ácinos, o que pode traduzir o aumento de síntese de DNA e RNA nos períodos iniciais (5 e 15 dias) do desenvolvimento pós-natal. Este aumento do volume nuclear, talvez em razão do aumento da síntese de DNA e RNA, favoreceria a duplicação celular intensificando as mitoses e, conseqüentemente, ocasionando o fenômeno hiperplásico.

## CONCLUSÕES

A administração de Parotin em ratas prenhes ocasionou aumento da volumetria relativa de ácinos e ductos da glândula parótida e diminuição da volumetria relativa da porção extraparênquima. Tais modificações morfométricas foram mais acentuadas a partir dos 15 dias de idade dos filhotes, especialmente naqueles injetados com 4 doses de Parotin.

## AGRADECIMENTOS

O autor agradece o auxílio da FAPESP (Processo Biológicas 80/1784-0) que possibilitou a aquisição de um Microscópio LEITZ-DIALUX 20, com MPV utilizado no presente trabalho.

---

MATHEUS, G. — Morphometric study of post-natal parotid gland development from rat's litter mates injected with different doses of Parotin. *Rev. Odont. UNESP*, São Paulo, 13(1/2):89-97, 1984.

*ABSTRACT: The fraction of the parotid gland occupied by acinous cells (nucleus + cytoplasm), cytoplasm of acinous cells, nuclei of acinous cells, cells of intercalated ducts, cells of striated ducts and "the other structures" was studied by Chalkley's method. The experimental animals were 48 young born from female rats injected with Parotin. They were killed at 5, 15, 30 and 60 post natal days and the results showed an increase of relative volumetry for the acini and for the ducts. This increase was more severe in the animals born from dams injected with four doses of Parotin.*

*KEY-WORDS: Morphometry; parotid gland; parotin.*

---

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ABERCHROMBIE, M. — Estimulation of nuclear population from microtome sections. *Anat. Rec.*, 94:239-47, 1946.
2. AHERNE, W. — Methods of counting discrete tissue components in microscopical sections. *J. Roy. micr. Soc.*, 87:493-508, 1967.
3. BACH, V.G. — Ueber die Bestimmung von charakteristischen Grössen einer hugelverteilung aus der Berteilung der Schnittkreise. *Z. Wissensch. Mikr.*, 65:285-91, 1963.
4. BEST, C.H. — Problemas metabólicos en relación con el páncreas, la colina, la insulina y el glucagón. In: CIBA FOUNDATION SYMPOSIUM — *Tendencias significativas de la investigación médica*. Buenos Aires, Eudeba Ed. Univ. de Buenos Aires, 1969, p. 159-88.

5. CANTAROW, A. & SCHEPARTZ, B. — *Bioquímica*. 4. ed. Guanabara, Ateneu, 1968. p. 262, 764.
6. CHALKLEY, H.W. — Method for the quantitative morphologic analysis of tissue. *J. nat. Cancer Inst.*, 4: 47-53, 1943.
7. DEWEY, M.M. — A histochemical and biochemical study of the parotid gland in normal and hypophysectomized rats. *Am. J. Anat.*, 102: 243-71, 1958.
8. GUYTON, A.C. — *Tratado de fisiologia médica*. 5. ed. Rio de Janeiro, Interamericana, 1977. p. 1.016, 1.099.
9. INOUE, T. — Effects of alpha-parotin on tibial epiphysis with special reference to its made of actions. *J. jap. Orthop. Ass.*, 37: 851-62, 1974.
10. ITO, Y & MYSUTANI, A. — Studies on the salivary glands hormones. *J. Pharm. Soc. Japan.*, 72: 239-44, 1952.
11. JACOBY, F. & LEESON, C.R. — The postnatal development of the rat submandibular gland. *J. Anat.*, 93: 201-16, 1959.
12. LAWRENCE, R.T.B.; SALTER, J.M. & BEST, C.H. — The effect of insulin on nitrogen in the hypophysectomized rat. *Brit. med. J.*, 2: 437-39, 1954.
13. MATHEUS, G. — *Processo de reparo de fratura óssea em ratos parotidectomizados. Estudo morfológico e histoquímico*. Araçatuba, Faculdade de Odontologia, 1973. (Tese — Doutorado).
14. MATHEUS, G. — Administração de Parotin em ratas prenhes e seu efeito sobre o peso ponderal dos filhotes. *Rev. de Odont. da UNESP*, 12: 37-45, 1983.
15. MELHADO, R.M. — *Estudo histoquímico das glândulas salivares (parótidas, submandibulares e sublinguais) de ratos, tratados com dexametasona 21-fosfato*. Araçatuba, Faculdade de Odontologia, 1972. (Tese — Doutorado).
16. MORAES, N.P. & MATHEUS, G. — Estudo histológico do tecido de granulação de feridas cutâneas de ratos hipotireoidicos (II). *Rev. ciên. Biomed.*, 1: 63-71, 1980.
17. MORONEY, N.J. — Facts from figure. Baltimore, Penguin-Book, 1962. *Apud* ÁLVARES, E.P. — *Observações morfológicas e radioautográficas sobre a citodiferenciação e proliferação celular na glândula submandibular do rato*. São Paulo, Instituto de Ciências Biomédicas, USP, 1972. (Tese — Doutorado).
18. MYANT, N.B. — Iodine metabolism of salivary glands. *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, 85: 208-14, 1960.
19. 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.
20. PIMENTEL GOMES, F. — *Curso de estatística experimental*. 4. ed. São Paulo, Nobel, 1970.
21. RABELO, A.S. — Contribuição para o estudo morfológico e funcional da glândula submandibular do rato (*Rattus norvegicus albinus*, Rodentia, Mammalia) durante o desenvolvimento embrionário pós-natal. *Rev. Fac. Odont. USP*, 9: 149-67, 1971.
22. RAYNAUD, J. — Controle hormonal de la glande sous-maxillaire de la souris. *Bull. Biol. fr. Belg.*, 94: 399-523, 1960.
23. REDMAN, R.S. & SREEBNEY, L.M. — Morphologic and biochemical observation on the development of the rat parotid gland. *Dev. Biol.*, 25: 248-79, 1971.
24. SCHAEFER, A. — The mathematical basis of stereology. *Microskopion*, 7: 1-17, 1970.
25. TAGA, R. — *Evolução das populações celulares das glândulas parótida e sublingual do rato durante a vida pós-natal inicial avaliada por estudos morfométricos, bioquímicos, radioautográficos e ultraestruturais*. São Paulo, Instituto de Ciências Biomédicas, USP, 1976. (Tese — Doutorado).
26. TAKIZAWA, N. — A pathological research on the internal secretion of salivary glands. *Acta path. jap.*, 4: 129-66, 1954.
27. TAMES, D.R. — *Efeitos da castração na modulação estrutural e bioquímica dos ductos granulosos da glândula submandibular do camundongo*. São Paulo, Instituto de Ciências Biomédicas, USP, 1979. (Tese — Doutorado).
28. UTRILLA, L.S. — *Aspectos histológicos e histoquímicos das glândulas, submandibular e sublingual de ratos, submetidos à lesão do núcleo paraventricular do hipotálamo*. Araraquara, Faculdade de Odontologia, UNESP, 1977 (Tese — Livre-Docência).
29. WEIBEL, E.R. & GOMEZ, D.M. — A principle for counting tissue structures on random sections. *J. appl. Physiol.*, 17: 343-8, 1962.

Recebido para publicação em 19.12.83.