

ADMINISTRAÇÃO DE PAROTIN EM RATAS PRENHES E SEU EFEITO SOBRE A ATIVIDADE MITÓTICA DAS GLÂNDULAS PARÓTIDA E SUBMANDIBULAR DOS FILHOTES DURANTE O DESENVOLVIMENTO PÓS-NATAL

Gildo MATHEUS*

RESUMO: Foi estudada a atividade mitótica das glândulas parótida e submandibular de filhotes nascidos de ratas injetadas com diferentes doses de Parotin durante a prenhez. Os filhotes foram sacrificados aos 5, 15, 30 e 60 dias de idade tendo o índice mitótico dos animais injetados mostrado-se aumentado em relação ao observado nos animais controle correspondentes.

UNITERMOS: Parotin; atividade mitótica; glândula parótida; glândula submandibular.

INTRODUÇÃO

No rato, as glândulas salivares não se encontram completamente desenvolvidas ao nascimento sendo que a diferenciação celular e o crescimento prolongam-se por aproximadamente 8 semanas^{7,19}.

Durante a vida pré-natal a morfogênese da glândula parótida é mais lenta do que a submandibular, sendo que a atividade proliferativa varia de glândula para glândula². Assim, a proliferação celular menos intensa na parótida é responsável, ao nascimento, pelo seu aspecto indiferenciado quando comparado à submandibular^{1,17}.

Quanto à submandibular, sabe-se que seu desenvolvimento tem início ainda durante a vida intra-uterina e que sua diferenciação somente se completa, aproximadamente, após os três meses de idade^{17,20}.

Por outro lado, as glândulas salivares principais têm merecido a atenção de di-

versos pesquisadores, alguns dos quais as consideram como glândulas exócrinas profundamente influenciadas por diferentes hormônios^{11,16,21} enquanto que outros preferem enquadrá-las como órgãos de secreção interna^{3,5,12,13} atribuindo, neste caso, à parótida coadjuvada pela submandibular, a capacidade de sintetizar uma substância biologicamente ativa, denominada Parotin e considerada como um hormônio salivar^{6,14}.

Contudo inúmeras dúvidas ainda persistem, especialmente no que se refere a correlação endócrina das glândulas salivares e ao seu crescimento e diferenciação, os quais estão intimamente relacionados com a atividade hormonal.

Assim, como o estudo da ação endócrina de diversas glândulas e/ou de seus hormônios têm demonstrado alterações morfofuncionais das glândulas salivares — aceitando-se a síntese hormonal (Parotin) pela parótida, coadjuvante pela submandibular — pressupõem-se que a admi-

* Departamento de Patologia — Faculdade de Odontologia — UNESP — 16100 — Araçatuba — SP.

nistração experimental desta droga possa afetar o crescimento e desenvolvimento de ambas as glândulas.

Em razão destes fatos propomo-nos a estudar, através da determinação da atividade mitótica em diferentes fases do crescimento e desenvolvimento pós-natal, as glândulas parótida e submandibular de filhotes nascidos de ratas injetadas com Parotin.

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 da droga diluída 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 dia de prenhez, nos animais injetados com 4 doses.

A administração de solução fisiológica nos animais controle ocorreu também intraperitonealmente, na proporção de 0,5 ml, e se fez segundo a mesma conduta adotada para os animais injetados com Parotin, tanto em relação aos períodos considerados quanto 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 atividade mitótica foram utilizados cortes de 6 micrômetros de espessura, corados pela hematoxilina de Regaud e eosina aquosa a 1%. A contagem foi realizada utilizando-se uma ocular integradora Kpl 8X da Zeiss e objetiva de 100 X, em imersão e microscópio LEITZ, Dialux 20. Foram contadas aproximadamente 1.000 células por animal, em cada grupo etário¹⁵, num total de 4 animais por grupo.

Os campos foram escolhidos aleatoriamente, seguindo-se um esquema de varredura horizontal, tendo sido os valores encontrados, traduzidos em porcentagem.

RESULTADOS

A análise da Tabela 1 e Gráfico 1 permite observar que nos animais injetados houve uma intensificação da atividade mitótica da glândula parótida. Tal incremento da atividade mitótica aconteceu de forma mais intensa nos animais injetados com 4 doses de Parotin e, de modo geral, atingiu seu pico máximo no 15.º dia de vida. É também interessante ressaltar que a curva relativa ao índice mitótico da glândula parótida nos animais injetados segue o padrão estabelecido para os animais do grupo controle, exceto nos injetados com 4 doses, aos 5 dias. Uma outra observação importante é que o índice mitótico, embora em graus diferentes, manteve-se intensificado em todos os períodos estudados em relação ao observado nos animais controle.

A análise da Tabela 2 e Gráfico 2 revela que nos animais injetados com Parotin ocorreu intensificação da atividade mitótica da glândula submandibular. Também para esta glândula o incremento da atividade mitótica aconteceu de maneira mais

* Teikoku Hormone MFG. Co. Ltd. — Tokyo — JAPAN

TABELA 1 — Médias e respectivos desvios padrão do índice mitótico da glândula parótida de animais de 5, 15, 30 e 60 dias nascidos de ratas controle e injetadas com 1, 2 e 4 doses de Parotin.

Grupos	Controle				1 Dose				2 Doses				4 Doses			
	5	15	30	60	5	15	30	60	5	15	30	60	5	15	30	60
Mitoses por Animal	20 16 19 17	18 25 21 23	5 4 7 8	6 3 5 4	24 27 28 27	24 27 29 31	9 11 8 7	4 7 5 6	32 30 26 28	29 32 26 30	9 10 8 9	6 5 7 5	40 36 39 37	36 32 34 30	12 8 8 10	8 6 5 9
Índice Mitótico (%)	2,0 1,6 1,9 1,7	1,8 2,5 2,1 2,3	0,5 0,4 0,7 0,8	0,6 0,3 0,5 0,4	2,4 2,7 2,8 2,7	2,4 2,7 2,9 3,1	0,9 1,1 0,8 0,7	0,4 0,7 0,5 0,6	3,2 3,0 2,6 2,8	2,9 3,2 2,6 3,0	0,9 1,0 0,8 0,9	0,6 0,5 0,7 0,5	4,0 3,6 3,9 3,7	3,6 3,2 3,4 3,0	1,2 1,0 0,8 1,0	0,8 0,6 0,5 0,9
Média (%)	1,80 ± 0,09	2,17 ± 0,14	0,60 ± 0,09	0,45 ± 0,06	2,65 ± 0,10	2,77 ± 0,14	0,87 ± 0,08	0,55 ± 0,66	2,90 ± 0,12	2,92 ± 0,12	0,90 ± 0,04	0,57 ± 0,04	3,80 ± 0,09	3,30 ± 0,12	1,00 ± 0,08	0,70 ± 0,09

TABELA 2 — Médias e respectivos desvios padrão do índice mitótico da glândula submandibular de animais de 5, 15, 30 e 60 dias nascidos de ratas controle e injetadas com 1, 2 e 4 doses de Parotin.

Grupos	Controle				1 Dose				2 Doses				4 Doses			
	5	15	30	60	5	15	30	60	5	15	30	60	5	15	30	60
Mitoses por Animal	21 20 18 30	11 9 14 13	4 3 5 4	3 2 4 3	30 28 31 26	17 15 18 14	5 8 6 7	4 3 5 2	30 32 28 27	18 16 19 18	6 8 6 7	4 3 5 3	33 32 30 29	18 21 19 20	6 8 7 7	5 3 4 4
Índice Mitótico (%)	2,1 2,0 1,8 3,0	1,1 0,9 1,4 1,3	0,4 0,3 0,5 0,4	0,3 0,2 0,4 0,3	3,0 2,8 3,1 2,6	1,7 1,5 1,8 1,4	0,5 0,8 0,6 0,7	0,4 0,3 0,5 0,2	3,0 3,2 2,8 2,7	1,8 1,6 1,9 1,8	0,6 0,8 0,6 0,7	0,4 0,3 0,5 0,3	3,3 3,2 3,0 2,9	1,8 2,1 1,9 2,0	0,6 0,8 0,7 0,7	0,5 0,3 0,3 0,4
Média (%)	1,97 ± 0,06	1,17 ± 0,11	0,32 ± 0,04	0,30 ± 0,04	2,87 ± 0,11	1,60 ± 0,09	0,65 ± 0,06	0,35 ± 0,06	2,92 ± 0,11	1,72 ± 0,06	0,67 ± 0,04	0,27 ± 0,04	3,10 ± 0,09	1,95 ± 0,06	0,70 ± 0,04	0,37 ± 0,04

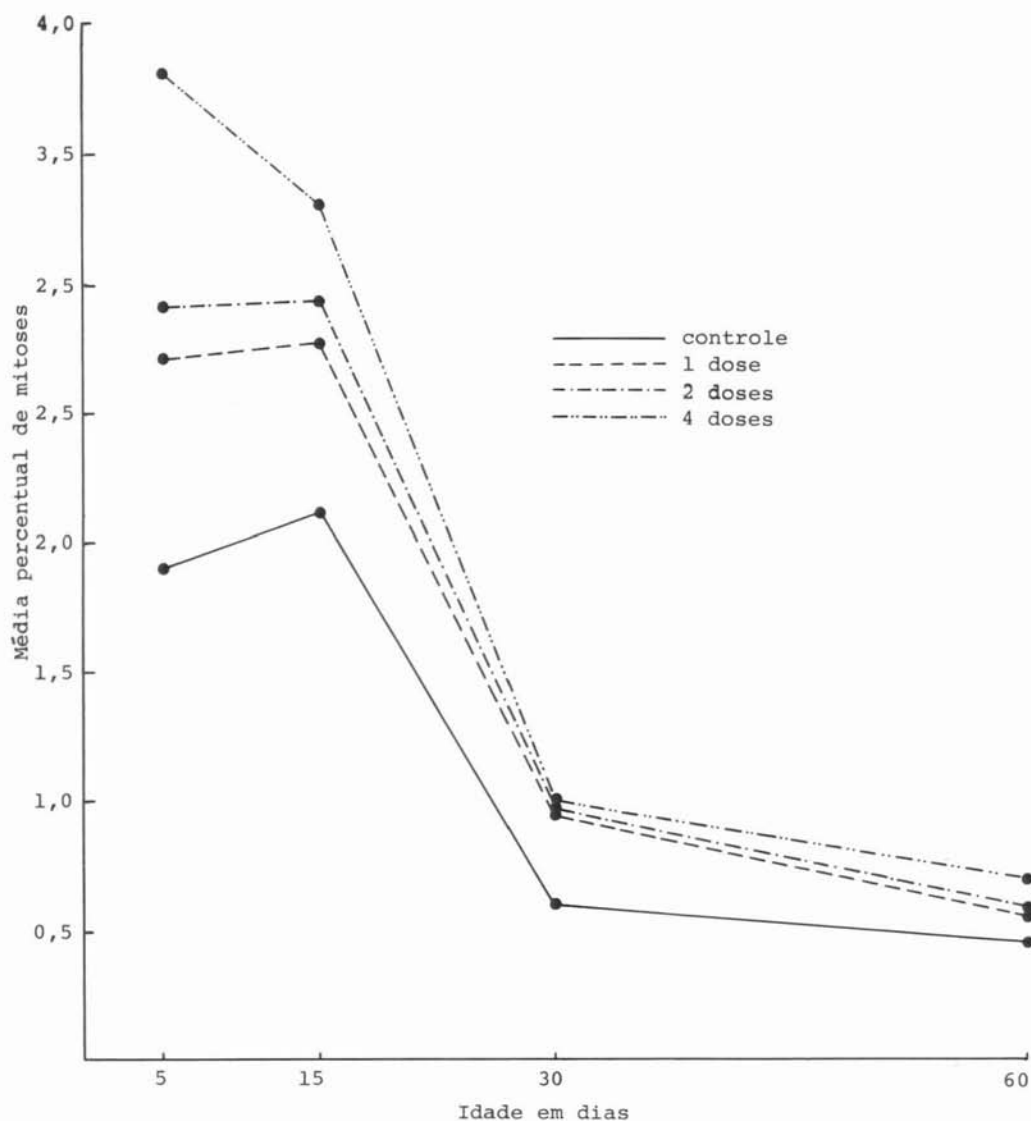


Gráfico 1 — Índice mitótico das células da glândula parótida de animais nascidos de ratas controle e injetadas com 1, 2 e 4 doses de Parotin.

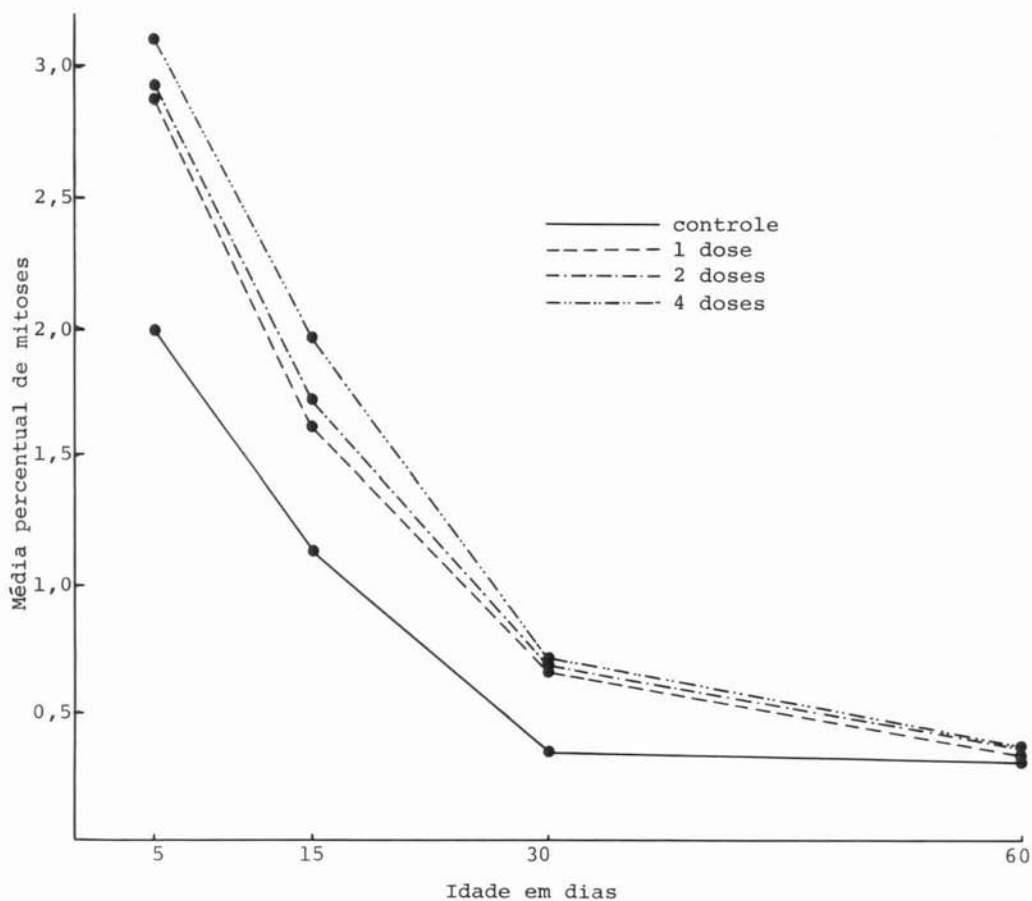


Gráfico 2 — Índice mitótico das células da glândula submandibular de animais nascidos de ratas controle e injetadas com 1, 2 e 4 doses de Parotin.

intensa quando foram administradas 4 doses da droga. O valor máximo da intensificação do índice mitótico para a submandibular aconteceu no 5.º dia de vida, nos animais injetados com 4 doses. Também neste caso a curva do índice mitótico da submandibular, nos animais injetados, segue padrão semelhante ao observado nos animais-controle, em todos os períodos analisados.

DISCUSSÃO

A atividade mitótica da glândula parótida confirma os resultados morfológicos e morfométricos descritos em trabalhos anteriores^{8,9}, permitindo verificar que a ação da droga modificou a velocidade de crescimento da glândula, mesmo nos animais injetados com apenas dose única de Parotin. A intensificação do índice mitótico se faz proporcionalmente ao número de doses de Parotin administradas, o que nos leva a sugerir que talvez esta droga tenha efeitos acumulativos.

Por outro lado, como o pico máximo da atividade mitótica da glândula parótida ocorreu no 15.º dia de vida, acreditamos que por ser esta uma glândula que se forma um pouco mais tarde do que a submandibular e que apresenta menor desempenho mitótico na vida intra-uterina, mostrou mais sensibilidade a ação da 4.ª dose de Parotin, que foi administrada no 18.º dia de prenhez, coincidindo, justamente, com o seu pico mitótico que segundo REDMAN & SREEBNY¹⁸ vai do 15.º ao 25.º dia de vida. Portanto, levando em consideração as observações destes dois autores, aliadas aos resultados do presente trabalho, podemos supor que a administração de uma substância biologicamente ativa (Parotin) durante a prenhez, numa fase de intensa multiplicação celular intra-uterina da parótida dos filhotes, possa, de forma direta através de seus metabólicos ou de forma indireta, através da estimulação de outras glându-

las de secreção interna, ter atuado sobre a atividade mitótica desta glândula, intensificando-a.

Com relação à glândula submandibular, a atividade mitótica também confirma resultados morfológicos descritos em trabalho anterior¹⁰, demonstrando que as modificações ocorridas nesta glândula são intensas e mantêm-se homogêneas durante as quatro faixas etárias consideradas.

Quanto à constatação de que o incremento máximo da atividade mitótica ocorreu no 5.º dia de vida, devemos levar em consideração que o início do desenvolvimento da submandibular antecede ao da parótida e sua atividade proliferativa durante a vida intra-uterina é também muito mais intensa^{2,7,15}. Assim, estas diferenças quanto ao crescimento e evolução da glândula submandibular parecem indicar que a administração de Parotin conseguiu não só intensificar a atividade mitótica a partir do 5.º dia de idade como também prolongar a fase proliferativa desta glândula, já que o índice mitótico mostrou-se mais elevado do que o observado nos animais-controle, em todos os períodos analisados.

Portanto, como as modificações mais intensas foram observadas nos animais nascidos de ratas injetadas com 4 doses de Parotin, poderíamos presumir que tal ocorreu porque, em função da maior precocidade de desenvolvimento da glândula submandibular, a terceira dose de Parotin administrada no 12.º dia de prenhez coincide, praticamente, com o brotamento desta glândula que segundo GERSTNER *et alii*⁴ e REDMAN & SREEBNY¹⁷ ocorre em torno do 13.º dia de vida intra-uterina. A quarta dose, administrada no 18.º dia de prenhez, dar-se-ia num período em que a glândula encontra-se em intensa atividade proliferativa, já que para RABELLO¹⁵ tal atividade prolonga-se do 13.º ao 20.º dia de vida intra-uterina. Evidentemente a ação do Parotin durante a fase do desenvolvimento intra-uterino

acarretou modificações relacionadas com a atividade mitótica e conseqüentemente com o crescimento e morfodiferenciação da referida glândula durante seu desenvolvimento pós-natal.

CONCLUSÕES

Nas condições experimentais do presente trabalho podemos concluir que a administração de Parotin em ratas prenhes ocasionou aumento da atividade mitótica

tanto da glândula parótida quanto da submandibular dos filhotes aos 5, 15, 30 e 60 dias de idade.

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. — Parotin administration in pregnant rats and its effect on mitotic activity of parotid and submandibular glands during post-natal development. *Rev. Odont. UNESP, São Paulo*, 14(1/2):77-84, 1985.

ABSTRACT: The mitotic activity of the parotid and submandibular glands of 48 newborn rats obtained after Parotin administration in pregnant dams was studied. The newborn rats were sacrificed at 5, 15, 30 and 60 days of life. The mitotic activity increased in rats obtained of pregnant dams injected with Parotin, when compared with the control ones.

KEY-WORDS: Parotin; mitotic activity; parotin gland; submandibular gland.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. 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).
2. BALL, W.D. — Development of rat salivary glands. III. Mesenchymal specificity in the morphogenesis of the embryonic submaxillary and sublingual glands of the rat. *J. exp. Zool.*, 188: 277-88, 1974.
3. BIXLER, D.; MUHLER, J.C. & SHAFER, W.G. — Effect of desalivation on adrenals, uterus and testis in the rat. *J. Dent. Res.*, 34: 919-24, 1955.
4. GERSTNER, R.; FLON, H. & BUTCHER, E.O. — Onset and type of salivary secretion in fetal rats. *J. dent. Res.*, 42: 1250, 1963.
5. ITO, Y. — Parotin: a salivary gland hormone. *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, 85: 228-310, 1960.
6. ITO, Y. & MIZUTANI, A. — Studies on the salivary glands hormones. *J. pharm. Soc. Japan*, 72: 239-44, 1952.
7. JACOBY, F. & LEESON, C.R. — The postnatal development of the rat submandibular gland. *J. Anat.*, 93: 201-16, 1959.
8. MATHEUS, G. — Evolução pós-natal da glândula parótida de animais nascidos de ratas injetadas com diferentes doses de Parotin. Estudo morfológico. *Rev. Odont. UNESP*, 13: 79-97, 1984.
9. MATHEUS, G. — Estudo morfométrico da evolução pós-natal da glândula parótida de filhotes de ratas injetadas com diferentes doses de Parotin. *Rev. Odont. UNESP*, 13: 89-87, 1984.
10. MATHEUS, G. — Evolução pós-natal da glândula submandibular de filhotes de ratas injetadas com diferentes doses de Parotin. *Arq. Cent. Est. Cur. Odont. UFMG*. (No prelo)
11. MORAES, N.P. & MATHEUS, G. — Estudo histológico do tecido de granulação de feridas cutâneas de ratos hipotireóideos, parotidectomizados e parotidectomizados hipotireóideos (II). *Rev. Ciên. bioméd.*, 1: 63-71, 1980.
12. MYANT, N.B. — Iodine metabolism of salivary glands. *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, 85: 208-14, 1960.
13. OGATA, T. — The internal secretion of salivary gland. *Endocr. jap.*, 2: 247-61, 1955.
14. OGATA, A.; ITO, Y.; NOZAKI, Y.; OKABE, T. & ISHII, Z. — Chemical and pathological

MATHEUS, G. — Administração de Parotin em ratas prenhes e seu efeito sobre a atividade mitótica das glândulas parótida e submandibular dos filhotes durante o desenvolvimento pós-natal. *Rev. Odont. UNESP, São Paulo*, 14 (1/2): 77-84, 1985.

- studies on the isolation of salivary hormone. *Igaku-to-Seibutsugaku*, 5: 253-7, 1944.
15. RABELLO, A.S. — Contribuição para o estudo morfológico e funcional da glândula submandibular do rato (*Rattus norvegicus albinus*, *Rodentia*, *Mammalia*), durante o desenvolvimento embrionário e pós-natal. *Rev. Fac. Odont. USP*, 9: 149-67, 1971.
 16. RAYNAUD, J. — Controle hormonal de la glande sous — maxillaire de la souris. *Bull. Fiol. fr. Belg.*, 94: 399-523, 1960.
 17. REDMAN, R.S. & SREEBNY, L.M. — The prenatal phase of the morphosis of the rat parotid gland. *Anat. Rec.*, 168: 127-38, 1970.
 18. REDMAN, R.S. & SREEBNY, L.M. — Morphologic and biochemical observation on the development of the rat parotid gland. *Rev. Biol.*, 25: 248-79, 1971.
 19. SCHNEYER, C.A. & HALL, H.D. — Influence of physiological activity on mitosis in immature rat parotid gland. *Proc. Soc. exp. Biol. Med.*, 133: 349-52, 1970.
 20. SREEBNY, L.M.; MEYER, J.; BACHEM, E. & WEINMANN, S. — Postnatal changes in proteolytic activity and in morphology of the submaxillary gland in male female albino rats. *Growth*, 19: 57-74, 1955.
 21. TAKIZAWA, N. — A pathological research on the internal secretion of salivary glands. *Acta path. jap.*, 4: 129-66, 1954.

Recebido para publicação em 10.01.85.