

Biblioteca  
Centro de Ciências  
Saúde de Ciências  
Claris de Univ. Fed.  
Apurigo Mendes Filho  
3/03/75

APRIGIO MENDES FILHO

0542970

R 126801/99

01.07.99

GLÂNDULAS SALIVARES MAIORES  
DO HAMSTER (Mesocricetus auratus).  
ESTUDO ESTRUTURAL, HISTOQUÍMICO,  
RADIOAUTOGRÁFICO E BIOQUÍMICO.

106  
574.82  
482  
1974

Tese apresentada ao  
Instituto de Ciências Biomédicas da  
Universidade de São Paulo  
para obtenção do grau de Doutor  
em Ciências (Histologia).

FC-00006272-9

Universidade Federal do Ceará  
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE  
BIBLIOTECA

Reg. N. 677

Em 26 / 05 / 75

**À minha esposa SOLANGE**

**As minhas filhas MÁRCIA E SANDRA**

**Ao Professor FLÁVIO FAVA DE MORAES**  
pela orientação científica segura e constante  
apoio que contribuíram de maneira irrestrita  
para a realização desta tese.

## A G R A D E C I M E N T O S

Ao Professor Dr. LUIZ CARLOS UCHOA JUNQUEIRA, pela nossa iniciação na pesquisa histológica.

Ao Professor Dr. WILSON DA SILVA SASSO, chefe do Departamento de Histologia e Embriologia do Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo, pela eficiente revisão desta tese.

Aos Professores JOSÉ CARNEIRO e ANTONIO SESO; Doutores LUIZ LONGHI e BRIGITTE RADTKE e Auxiliares de Ensino AURORA ISUZO DOINE e PAULO EDUARDO PEREIRA LEITE, pela colaboração que prestaram durante a realização deste trabalho.

Aos Professores do Departamento de Histologia e Embriologia do ICB/USP, bem como aos das áreas complementares cursadas, que contribuíram de forma decisiva na nossa formação científica durante o Curso de Pós-Graduação (doutorado).

À UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ na pessoa do Magnífico Reitor, Professor WALTER CANTÍDIO e aos meus colegas do Departamento de Morfologia do Centro de Ciências da Saúde que permitiram meu afastamento para a realização do Curso de Pós-Graduação na Universidade de São Paulo.

Ao Professor Dr. HAMILTON DOS SANTOS MONTEIRO, titular de Histologia e Embriologia do Departamento de Morfologia do C.C.S./U.F.C., pelo apoio e constante estímulo recebidos durante nossa vida profissional.

Ao Doutor NILSON MARTELLO pela revisão do verbáculo e ao Dr. ALFREDO MARTINS PAIVA FILHO pela programação que possibilitou a análise estatística dos resultados no Centro de Computação Eletrônica da U.S.P.

À srta. LAIS FERNANDES DE CARVALHO, Bibliotecária Chefe do ICB/USP, pelo auxílio no setor de bibliografia.

À Sra. VÉGA F. RIGONATI DE MENDONZA e aos Srs. TIGR ORLOW e ONOFRE CUSTÓDIO DA SILVA pelo auxílio técnico na parte de radioautográfica, desenho e fotografia respectivamente.

À FUNDAÇÃO DE AMPARO À PESQUISA DO ESTADO DE SÃO PAULO pela subvenção recebida para a realização deste trabalho.

## Í N D I C E

	Pág.
1. INTRODUÇÃO .....	1
2. REVISÃO DA LITERATURA .....	3
3. MATERIAL E MÉTODOS .....	8
3.1 - Avaliação do peso corporal e glandular .....	8
3.2 - Microscopia óptica .....	8
3.3 - Microscopia eletrônica .....	9
3.4 - Histometria .....	10
3.5 - Histoquímica .....	11
3.5.1 - Polissacarídeos .....	11
3.5.2 - Proteínas e aminoácidos .....	12
3.5.3 - Ácidos nucleicos (RNA) .....	13
3.5.4 - Enzimas .....	13
3.5.5 - Lípidos .....	14
3.6 - Radioautografia .....	14
3.6.1 - L-leucina- $H^3$ .....	15
3.6.2 - Sulfato de sódio- $S^{35}$ .....	16
3.7 - Bioquímica .....	16
3.7.1 - Ácidos nucleicos .....	17
3.7.2 - Ácido siálico .....	17
3.7.3 - Hexosaminas .....	17
3.7.4 - Proteína total .....	17
3.7.5 - Lisozima .....	18
3.7.6 - Desoxiribonuclease (DNase) .....	18
3.7.7 - Succino desidrogenase .....	18
3.7.8 - Amilase .....	18
3.7.9 - Protease .....	18
3.8 - Método estatístico .....	19
4. RESULTADOS .....	20
4.1 - Peso corporal e glandular .....	20
4.2 - Histológicos .....	22

	Pág.
4.2.1 - Em microscopia óptica .....	22
4.2.1.1 - Cortes em parafina .....	22
4.2.1.2 - Cortes em araldite .....	24
4.2.2 - Em microscopia eletrônica .....	26
4.3 - Histométricos .....	34
4.4 - Histoquímicos .....	37
4.4.1 - Polissacarídeos .....	37
4.4.2 - Proteínas e aminoácidos .....	43
4.4.3 - Ácidos nucleicos (RNA) .....	45
4.4.4 - Enzimas .....	47
4.4.5 - Lípides .....	49
4.5 - Radioautográficos .....	52
4.5.1 - L-leucina- $H^3$ .....	52
4.5.2 - Sulfato de sódio- $S^{35}$ .....	56
4.6 - Bioquímicos .....	60
5. DISCUSSÃO .....	64
6. RESUMO E CONCLUSÕES .....	85
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	90
8. DOCUMENTAÇÃO FOTOGRÁFICA .....	102



## 1. INTRODUÇÃO

O conhecimento sobre a variabilidade histofuncional existente entre as glândulas salivares maiores dos mamíferos tem sido constantemente ampliado com a descrição de novos resultados. O mesmo se pode dizer quando se trata dessas glândulas numa mesma espécie animal.

Porém, os resultados apresentados na literatura foram obtidos em diferentes épocas, por diversos autores e, notadamente, com metodologia variada. Conquanto seja válido fundamentar novos achados em pesquisas anteriores, sobressaem dificuldades oriundas da heterogeneidade acima apontada, em específico quando a compreensão da histofisiologia glandular se fundamenta principalmente no conhecimento exato dos vários tipos celulares que compõe o parênquima de cada glândula.

Se lembrarmos ainda que tal conhecimento envolve, para a análise global dos fatos, aspectos tais como a estrutura, a frequência, a histoquímica e bioquímica - além de outros - ficará mais evidente a conveniência da eleição de uma espécie animal de fácil obtenção, cuja literatura no setor ainda se revele incompleta ou conflitante, e que se realize um estudo amplo e detalhado, livre das limitações já apontadas.

Dessa maneira o autor estaria somando as mais variadas informações, com absoluto controle da metodologia empregada, aumentando a segurança nas correlações de resultados obtidos para as diferentes glândulas salivares de uma mesma espécie, comparativamente à idade e sexo ou, ainda, com outras espécies animais.

Respeitados os aspectos acima referidos, elaborou-se um plano de pesquisa com a proposição de se estudar as glândulas salivares de hamsters machos e fêmeas, tanto adultos quanto jovens.

As glândulas foram estudadas sob o ponto de vista estrutural pela microscopia óptica e eletrônica, lançando-se mão da histometria para o estabelecimento da proporção entre os diferentes componentes do parênquima.

A detecção histoquímica de polissacarídeos, proteínas, ácido ribonucléico, lípidos e algumas enzimas, também serviu de base para a melhor caracterização das propriedades de cada um dos componentes do adenômero glandular.

A análise bioquímica, pelos dados quantitativos que ofereceu, revelou-se significativa com respeito a ácidos nucleicos, enzimas digestivas e metabólicas, hexosaminas e ácido siálico, além de proteína total.

Foram ainda obtidos dados sobre a cinética da síntese de proteínas e polissacarídeos, através o uso de precursores radioativos, haja vista sua importância para a interpretação da capacidade funcional das glândulas salivares.

A literatura descreve ainda a presença de dimorfismo sexual das glândulas salivares de alguns roedores — notadamente da submandibular — embora o assunto ainda seja controvertido em se tratando de hamster. Da mesma forma são descritas variações funcionais e estruturais do parênquima de glândulas salivares de animais jovens e adultos, o que justifica seu exame neste trabalho.

Os resultados aqui obtidos traçam, portanto, um perfil geral das glândulas salivares maiores do hamster de molde a constituir base indispensável para estudos futuros que pretendemos desenvolver em continuidade a este trabalho sendo, a par, mais uma contribuição para os demais pesquisadores deste campo.

## 2. REVISÃO DA LITERATURA

As glândulas salivares dos roedores, de modo geral, tem se constituído no principal modelo biológico para o estudo da histofisiologia destes órgãos.

Inúmeros trabalhos e revisões abordando aspectos estruturais, histoquímicos, bioquímicos, etc., servem como base para a afirmação acima e, dentre eles, podemos citar os de: Arvy (1962); Shackelford e Klapper (1962a); Schätzle (1962); Jakowska (1963); Sreebny e Meyer (1964); Spicer e Duvenci (1964); Kawakatsu, Mori, Mizushima e Makino (1964); Fava de Moraes (1965 e 1969); Schneyer e Schneyer (1967); Munhoz (1967); Code (1967); Shackelford e Wilborn (1968) e Emmelin e Zotterman (1972).

Embora os roedores sejam muito estudados, a afirmativa é praticamente restrita ao rato, camundongo e cobaia, estando o hamster (Mesocricetus auratus) menos estudado no que se refere às suas glândulas salivares maiores. Esta conclusão está baseada no relativo pequeno número de trabalhos catalogados e, que por relação com a proposição desta tese, serão analisados.

O estudo da embriogênese da glândula submandibular de hamster foi realizado por Devi e Jacoby (1966), que demonstraram sua completa diferenciação a partir da 4ª semana de vida pós-natal. Posteriormente, Schneider (1971) completou o assunto estudando ainda a parótida e sublingual.

Sob o ponto de vista estrutural em microscopia óptica, as glândulas salivares de animais adultos foram inicialmente estudadas por Boerner-Patzelt (1956) e posteriormente abordadas nos trabalhos de Sumi (1960); Shackelford e Klapper (1962 b); Devi e Jacoby (1963); Flores-Veas (1964); Chauncey e Kronman (1964); Fava de Moraes (1965 e 1969); Flon e Gerstner (1968) e Musil e Kittel (1968).

Uma síntese global dos trabalhos acima referidos oferece as seguintes características peculiares para as glândulas

salivares de hamster, quando comparadas com outros roedores:

1. a glândula parótida possui além dos ácinos serosos, um pequeno número de ácinos mucosos; ductos intercalares proeminentes e ricos em grânulos de secreção;
2. a glândula submandibular possui ácinos com estrutura predominantemente mucosa, além de ácinos mucosos propriamente ditos, sendo contraditórias as evidências sobre um dimorfismo sexual entre animais adultos;
3. a glândula sublingual é predominantemente mucosa.

Os resultados estruturais só foram histometrados por Fava de Moraes (1969) sem objetivar, contudo, diferença entre sexos e/ou idades. No entanto, estes dados são importantes para inúmeras correlações histofuncionais.

Por outro lado, a análise estrutural de maior resolução como é feita pela microscopia eletrônica é muito escassa. Destacam-se os trabalhos de Shackelford e Schneyer (1964) na parótida e submandibular, Dorey e Bhoola (1972 a e b) na submandibular, e a nota prévia de Flon (1973) que relata algumas características ultra-estruturais das glândulas salivares maiores de animais adultos. Estes trabalhos realçam as características secretoras dos ductos intercalares e a natureza mucosa dos ácinos na glândula submandibular.

A evidenciação histoquímica de diversas macromoléculas nos componentes glandulares têm merecido alguns estudos.

Os polissacarídeos, provavelmente mais estudados são caracterizados juntamente com as glico e mucoproteínas. Neste setor a maioria dos autores têm descrito a presença de sialo e sulfomucinas nos ácinos da submandibular e sublingual (Shackelford e Klapper, 1962 b; Spicer e Duvenci, 1964; Fava de Moraes, 1965; Kronman e Chauncey, 1965; Devi e Jacoby, 1966; Stoward, 1967; Munhoz, 1967; Flon e Gerstner, 1968; Kronman, Donnell e Chauncey, 1968; Sorvari e Stoward, 1970 e Schneider, 1971).

Sialomucinas estão ainda presentes nos ductos intercalares da glândula parótida (Fava de Moraes, 1965) e polissacarídeos neutros nos ácinos, ductos intercalares e ductos estriados modificados da submandibular (Boerner-Patzelt, 1956; Graumann, 1964; Spicer e Duvenci, 1964 e Fava de Moraes, 1965).

Da mesma forma reações positivas para diversos aminoácidos já foram obtidas nos ácinos e ductos intercalares da parótida e submandibular, bem como nos ductos estriados modificados da submandibular e semi-luas da sublingual (Kawakatzu, Deguchi, Oka e Takita, 1962; Kronman, 1963 a; Kronman e Chauncey, 1965; Munhoz, 1967; Flon e Gerstner, 1968; e Kronman, Donnell, Chauncey, 1968).

Foram realizados poucos estudos histoquímicos sobre a atividade de algumas enzimas nas glândulas salivares do hamster. Kronman (1963 b) estabeleceu a distribuição da fosfatase ácida nas glândulas submandibular e sublingual em hamsters albinos de diferentes idades e de ambos os sexos. Após duas semanas de idade os ácinos e os ductos da submandibular dos animais fêmeas reagiram mais intensamente do que os dos machos. Esta diferença inexiste entre animais adultos, embora nesta fase etária a reação seja mais evidente. O mesmo resultado foi obtido para a glândula sublingual nas diferentes idades.

Reação positiva para fosfatase alcalina só foi obtida por Devi e Jacoby (1966) e Jacoby e Rees (1969) ao nível das células mioepiteliais presentes na glândula submandibular.

Resultados positivos para a succino desidrogenase, difósforo piridino nucleotídeo diaforase e trifósforo piridino nucleotídeo diaforase, nos ductos estriados e estriados modificados da submandibular de hamster adulto, foram descritos por Shapiro, Wattenberg e Gorlin (1966) e Shapiro (1967). Nestes trabalhos, os ácinos e os ductos intercalares mostraram-se praticamente negativos.

Em 1970, Bloom, Carls<sup>UU</sup> e Kumlien, descreveram resultados positivos para peroxidase exclusivamente nos grânulos

de secreção dos ductos estriados modificados de submandibular. Contudo, no ano seguinte (1971) Carlsöö, Kumlien e Bloom, realizando variáveis em técnica, determinaram que a peroxidase pode ser evidenciada em todos os componentes do parênquima da submandibular.

A evidenciação de lípides nas glândulas salivares do hamster só conta com os resultados de Vacer e Novetný (1959), que descreveram resultados negativos; e os de Devi de Jacoby (1966) que obtiveram resultados positivos para os ductos intercalares e estriados modificados da submandibular em diferentes idades.

Pesquisa relacionada à síntese protéica foi desenvolvida por Tiber (1971) com leucina- $H^3$  em submandibular de hamster adulto. Os resultados demonstraram que os ácinos e os ductos estriados modificados concentraram o isótopo na região perinuclear 15 minutos após a injeção, na região do Golgi após 45 minutos e na região apical aos 75 minutos, com um máximo de incorporação em torno dos 90 minutos. Esta migração intracelular do isótopo não ocorreu nos ductos estriados onde a região basal foi a mais marcada. Este trabalho demonstra que os referidos ácinos e ductos estriados modificados apresentam o mesmo índice de síntese protéica, diferindo apenas na extrusão das substâncias marcadas, que foi mais rápida nos ductos estriados modificados.

A capacidade de incorporar sulfato radioativo- $S^{35}$  foi descrita por Bélanger (1954) mais na glândula sublingual do que na submandibular de hamster com 4 dias de idade. Surpreendentemente, o mesmo autor em 1963, usando a mesma documentação do trabalho anterior, descreve resultados exatamente antagônicos. Estas conclusões estão baseadas em radioautogramas obtidos em material retirado 2 horas após a injeção do isótopo, não oferecendo pois qualquer informação sobre a cinética da síntese das sulfomucinas. Incorporação de sulfato radioativo 3 a 6 horas após a injeção, foi descrita por Spicer e Duvenci (1964) nos ácinos da submandibular e sublingual e nos ductos intercalares da parótida.

Bioquimicamente, algumas substâncias já tiveram sua atividade ou concentração determinadas em glândulas salivares

de hamsters adultos. Entre elas, maior atividade proteolítica na glândula parótida do que na submandibular, foi descrita por Shackelford e Klapper (1962 c). Resultado inverso foi obtido por Fava de Moraes (1969), que demonstrou ainda maior atividade na glândula parótida para a amilase e desoxiribonuclease (DNase). O mesmo resultado para a amilase já fora descrito por Shackelford e Schneyer (1964) enquanto Sreebny, Ruark e Tamarin (1967), descreveram atividade para a DNase apenas na parótida. A presença de lisozima exclusivamente na glândula parótida foi obtida por Junqueira e Fava de Moraes (1965) e Fava de Moraes (1969).

O ácido siálico, componente que caracteriza bioquimicamente sialomucina, foi determinado na submandibular por Shackelford e Klapper (1962 b), e por Fava de Moraes e Nicolau (1965) e Fava de Moraes (1969), que estabeleceram sua maior concentração na glândula sublingual, submandibular e parótida respectivamente.

A concentração e respectiva relação dos ácidos nucleicos, RNA e DNA, também foi determinada por Fava de Moraes (1969) quando obteve diferença significativamente maior na glândula parótida em relação à submandibular de hamsters adultos.

Baseado no que foi apresentado até aqui, pode-se concluir que existem informações isoladas sobre as glândulas salivares do hamster e que, além de setores ainda não explorados, não há um estudo global que ofereça um perfil mais completo sobre suas características, justificando portanto, a proposição desta tese.

### 3. MATERIAL E MÉTODOS

Para o presente trabalho utilizaram-se glândulas salivares maiores (parótida, submandibular e sublingual) de 142 hamsters, sendo 85 adultos de 90 a 100 dias de idade (43 machos e 42 fêmeas) e 57 jovens de 25 a 30 dias (28 machos e 29 fêmeas), pertencentes a ordem Rodentia, subordem Myomorpha, gênero e espécie Mesocricetus auratus.

Todos os animais, exceto os destinados ao estudo radioautográfico, foram sacrificados por traumatismo craniano após um jejum de 15 horas e, em seguida, as glândulas parótida, submandibular e sublingual foram dissecadas para as diferentes experiências.

Considerando que as glândulas salivares foram analisadas sob o ponto de vista da estrutura em microscopia óptica e eletrônica, histometria, histoquímica, radioautografia e bioquímica, resolveu-se apresentar separadamente, o material e a metodologia utilizada para cada um destes setores, com o objetivo de facilitar a leitura do trabalho.

#### 3.1 - Método de avaliação do peso corporal e glandular

Os animais utilizados no item 3.7 foram sempre pesados em balança de sensibilidade de 0,1 grama e as glândulas salivares parótida, submandibular e sublingual, foram pesadas em balança com sensibilidade de 0,01 miligrama.

Para a estimação do peso glandular relativo utilizou-se a fórmula:

$$\frac{\text{Peso glandular absoluto} \times 100}{\text{Peso corporal}}$$

#### 3.2 - Microscopia óptica

Para a análise estrutural foram sacrificados 12 animais adultos, sendo 6 machos e 6 fêmeas, e ainda 12 animais jo



vens subdivididos em lote de 6 para cada sexo. As glândulas de um lado foram fixadas em Helly durante 8 horas e incluídas em parafina segundo as técnicas rotineiras.

Obtiveram-se cortes de 6 micrometros ( $\mu\text{m}$ ) de espessura que foram submetidos aos métodos de coloração de hematoxilina-eosina e hematoxilina fosfotúngstica de Mallory.

Além desta análise, utilizou-se também cortes de 0,5 micrometro obtidos em processamento técnico destinado à microscopia eletrônica e descrito em detalhe no item 3.3. Estes cortes foram corados em azul de metileno e azur II na proporção de 1:1.

### 3.3 - Microscopia eletrônica

Para o estudo ao microscópio eletrônico foram utilizados 6 animais adultos (3 para cada sexo) e 6 jovens (3 machos e 3 fêmeas).

Imediatamente após a morte dos animais, as glândulas salivares parótida, submandibular e sublingual foram retiradas e, em seguida, fragmentos desses órgãos sofreram a rotina técnica de fixação e inclusão para os estudos de microscopia eletrônica da seguinte maneira:

Os fragmentos de espessura aproximada de 0,5 a 1 mm das diferentes glândulas foram imersos em glutaraldeído a 1,5% a 0°C em tampão fosfato 0,1 M em pH 7,2 (350 mO) durante 3 horas. Depois refixados em ácido ósmico a 1% (1 volume de ácido ósmico a 2% mais 1 volume de tampão fosfato 0,1 M pH 7,2) durante 3,30 horas, sendo 2 horas a 0°C e 1,30 horas à temperatura ambiente. Em seguida fez-se imersão em uranila a 0,5% em sacarose 10,56% durante 15 horas, desidratação em álcool de concentração crescente e passagem por óxido de propileno durante 20 minutos. Logo após realizou-se a infiltração com óxido de propileno mais resina na proporção de 1:1, agitando-se durante 1 hora em temperatura ambiente. As peças foram transferidas para resina pura por 1 hora a 37°C, agitando-se. Foi feita a inclusão em resina araldite na estufa a 60°C durante 3 dias.

Depois da polimerização os blocos foram aparados e levados ao ultramicrotomo Porter-Blum MT-1, para a obtenção de cortes de 0,5 micrometro que foram corados segundo a técnica de Richardson, Jarett e Finke (1960), que consiste: na mistura imediata de partes iguais de azur II a 1% em água destilada e azul de metileno a 1% em bórax a 1%. Filtra-se a mistura antes da coloração, que é feita a quente durante 5 minutos, após o que os preparados foram lavados em água.

Os blocos cujos cortes foram selecionados no estudo em microscópio óptico, foram levados ao ultramicrotomo Porter-Blum MT-2 para obtenção de cortes ultrafinos com navalha de diamante e pescados em telas de cobre de 200 malhas.

A coloração dos preparados foram baseados nos métodos de uranila e chumbo segundo Watson (1958) e Reynold (1963). Desta forma os cortes ultrafinos foram corados por uma solução saturada de acetato de uranila durante 1 hora, lavados em água bidestilada e corados em citrato de chumbo durante 30 minutos (mistura de nitrato de chumbo, 1,33 g; citrato de sódio, 1,7 g; água destilada, 30 ml; e após uma agitação prévia, junta-se 8 ml de hidróxido de sódio 1 N, seguida de uma diluição até 50 ml de água destilada).

O exame ao microscópio eletrônico dos cortes ultrafinos e suas eletronicografias foram realizadas em microscópios eletrônicos Zeiss modelos EM.9 e EM.9S-2.

### 3.4 - Histometria

O mesmo material referido no item 3.2 e corado pela hematoxilina fosfotúngstica de Mallory foi histometrado segundo o método de Hennig (1958) com a finalidade de se estabelecer a relação percentual dos diferentes componentes do adenômero e mais o estroma das três glândulas. Para tanto, usou-se a ocular integradora I Zeiss com 25 pontos, fazendo-se a leitura de 15 campos distribuídos ao acaso para os componentes das glândulas parótida e submandibular de animais adultos. Para estas mesmas glândulas nos animais jovens e para todas as sublinguais foram histometrados

10 campos. Os campos foram sempre escolhidos pelo sistema de varredura horizontal e as contagens foram feitas em aumento de 320 vezes.

O número total de pontos contados foi considerado como 100%, fazendo-se em seguida o cálculo percentual para os valores obtidos na contagem de cada componente do adenômero e para o estroma.

### 3.5 - Histoquímica

#### 3.5.1 - Polissacarídeos

O mesmo material que foi fixado em Helly para a análise estrutural, prestou-se também para o estudo histoquímico de polissacarídeos. Glândulas salivares pertencentes a outros 4 animais subdivididos entre adultos e jovens de ambos os sexos foram fixadas em Gendre gelado durante 4 horas para a detecção de glicogênio. Todos os órgãos sofreram a mesma rotina técnica de inclusão em parafina e cortes de 6  $\mu$ m. Em seguida as preparações foram submetidas aos métodos de detecção de polissacarídeos associados aos respectivos bloqueios para o controle destas mesmas substâncias.

- 3.5.1.1 - Ácido periódico-Schiff (PAS), para a evidenciação de polissacarídeos neutros. (McManus, 1946), com controle pela acetilação (McManus e Cason, 1950).
- 3.5.1.2 - PAS após ação da amilase salivar, para a detecção de glicogênio (Lison, 1960).
- 3.5.1.3 - Alcian blue (AB) a pH 2,5 para a evidenciação de polissacarídeos ácidos carboxilados e sulfatados (Lison, 1960).
- 3.5.1.4 - Para a distinção entre polissacarídeos ácidos sulfatados, foram usados AB pH 0,5 e AB pH 2,5 com controle pela acetilação (Turner e Lev, 1963) e reação da benzidina (Bracco e Curti, 1953).
- 3.5.1.5 - AB + PAS, para a evidenciação conjunta de polissacarídeos ácidos e neutros (Vialli, 1955).
- 3.5.1.6 - Hidrólise ácida + AB pH 2,5 para a detecção de ácido siálico (Quintarelli, Tsuiki, Hashimoto e Pigman, 1961).

### 3.5.2 - Proteínas e aminoácidos

As glândulas parótida, submandibular e sublingual de um dos lados pertencentes aos mesmos animais referidos no item 3.2, foram fixadas em formol salino 1 M (solução de formalina a 10% contendo 36,5 gramas de cloreto de sódio) durante 20 horas. Após a fixação, os órgãos foram lavados em água corrente durante 40 horas e processada a inclusão em parafina e cortes com 12 micrometros de espessura. Em seguida os cortes foram submetidos aos seguintes métodos:

- 3.5.2.1 - Aloxana-Schiff, para a evidenciação de grupos aminos livres (Yasuma e Ichikawa, 1953) com controle pela desaminação pelo ácido nitroso (Lillie, 1958).
- 3.5.2.2 - Naftol yellow S (NYS) após metilação, para proteínas básicas (Deitch e Turner, 1965).
- 3.5.2.3 - NYS após metilação e acetilação branda para a evidenciação de lisina (Deitch e Turner, 1965).
- 3.5.2.4 - NYS após metilação e acetilação enérgica, para a detecção de histidina (Deitch e Turner, 1965).
- 3.5.2.5 - Alfa-naftol-hipoclorito de sódio, para detecção de arginina (Sakaguchi, 1925) com controle pela acetilação enérgica (Deitch e Turner, 1965).
- 3.5.2.6 - Reagente de Millon para tirosina (Bensley e Gersh, 1953) com controle pela iodação (Pearse, 1968).
- 3.5.2.7 - Ferrocianeto férrico para cisteína (Adams, 1956) com controle pela iodoacetamida (Barka e Anderson, 1963).
- 3.5.2.8 - Para evidenciação de cistina fez-se bloqueio prévio dos grupamentos sulfidríla da cisteína com iodoacetamida. Redução com o ácido tioglicólico dos grupos dissulfeto em sulfidríla (Barka e Anderson, 1963) e repetição do método para cisteína segundo Adams (1956).
- 3.5.2.9 - Paradimetilaminobenzaldeído em meio ácido, para a detecção de triptofano (Lison e Pinheiro, 1960) com controle pelo ácido perfórmico (Toennies, 1942).

### 3.5.3 - Ácidos nucleicos (RNA)

Para a evidenciação e posterior análise citofotométrica da basofilia ergastoplasmática (RNA), o mesmo material do item 3.5.2 foi utilizado neste estudo após coloração com o azul de metileno  $10^{-4}$  M em tampão acetato 0,1 M (pH 4) durante 13 minutos. Para o controle fez-se a incubação de alguns cortes durante 2 horas a 37°C em solução de ribonuclease cristalina (Sigma) na concentração de 0,2 mg/ml. Após a digestão, os preparados foram corados pelo azul de metileno.

O estudo quantitativo do material basófilo foi feito através do histofotômetro Reichert no aumento de 800 vezes, utilizando um filtro interferencial para 580 nanômetros (nm). O diafragma situado adiante da célula fotométrica, tinha 1 milímetro de diâmetro, o que permitiu efetuar medidas nos casos em que a substância basófila se confinava a uma estreita faixa de citoplasma. Em cada preparado efetuaram-se medidas em 40 células acinosas diferentes (1 medida para cada célula). As leituras foram expressas em termo de densidade óptica. Os valores obtidos foram referidos como concentração da substância basófila do citoplasma.

### 3.5.4 - Enzimas

Para o estudo histoquímico de enzimas foram sacrificados 24 animais divididos igualmente entre adultos e jovens de ambos os sexos. Uma vez retiradas as glândulas salivares, as mesmas sofreram diferentes processamentos técnicos de acordo com a metodologia empregada.

Todas as reações foram acompanhadas dos respectivos controles pela ausência do substrato do meio de incubação.

O material destinado à detecção de fosfatase ácida foi fixado em formol-cálcio de Baker gelado, durante 18 horas, seguido da imersão dos fragmentos em sacarose-goma gelada por 48 horas e cortes em congelação com 8  $\mu$ m de espessura, segundo o método de Holt e Hicks (1961).

Para a investigação de fosfatase alcalina, fragmentos de glândulas foram fixados em acetona gelada (4°C) durante 6 horas, em acetona à temperatura de 28°C por 12 horas, incluídos em parafina e cortes de 8 µm, segundo Gomori, (1952).

As glândulas salivares destinadas à pesquisa de lacto e málico desidrogenase, monoaminas oxidase, peroxidases, succino desidrogenase, alfa-glican fosforilase e adenosinas trifosfatases ácidas não foram fixadas previamente, mas cortadas em criostato, sendo os cortes com 4 µm de espessura tratados respectivamente pelos métodos de Wagmann e Sotelo (1962); Glenner, Burtner e Brow (1957); Pearse (1968); Nachlas, Tsou, Souza, Cheng e Seligman (1957); Pearse (1968) e Wagmann e Bankowski (1960).

#### 3.5.5 - Lípides

Para a pesquisa de lípidos foram sacrificados 10 animais, sendo 5 adultos (3 machos e 2 fêmeas) e 5 jovens (2 machos e 3 fêmeas). As glândulas foram dissecadas, fixadas em formol-cálcio de Baker durante 18 a 48 horas, cortadas em micrótomo de congelação com aproximadamente 12 micrômetros de espessura e submetidas aos métodos do sudan black B e sudan IV (Lison, 1960) para lípidos em geral. O método do sulfato azul do Nilo em meio ácido (Dunnigan, 1968) foi utilizado para a identificação de fosfolípidos e sua diferenciação com ácidos graxos livres e lípidos neutros.

O controle das reações foi feito pela extração dos lípidos pela piridina.

#### 3.6 - Radioautografia

Para a realização deste método foram utilizados apenas hamsters adultos, sendo 14 para cada sexo. Após jejum de 40 horas os animais foram alimentados e receberam a injeção dos precursores radioativos. Depois de determinados intervalos de tempo, foram sacrificados pela inalação de clorofórmio, e as glândulas salivares retiradas.

Foram feitos dois tipos de experiências:

3.6.1 - Para a primeira experiência 16 desses animais foram selecionados, sendo 8 para cada sexo. Cada animal recebeu  $3\mu\text{C}$  por grama de peso corporal pela via intraperitoneal de L-leucina triciada (Radiochemical Centre) com atividade específica  $35,9\text{ C/mM}$ . Esses hamsters foram sacrificados em grupo de dois para cada sexo nos seguintes intervalos de tempo, após injeção: 0,30, 1,30, 3,00 e 7,00 horas. Uma vez retirado o material, o mesmo foi fixado em formol-acetado de cálcio gelado a  $4^{\circ}\text{C}$  durante 24 horas, segundo Leppi, Spicer, Henson e Fioravanti (1967). Em seguida à fixação, os órgãos foram desidratados em álcoois de concentrações crescentes, diafanizados em benzeno e incluídos em parafina. Os cortes com espessura de  $6\mu\text{m}$  foram previamente desparafinizados, hidratados, secos ao meio ambiente e cobertos na câmara escura, pela emulsão fotográfica (Ilford tipo K 5) em forma de gel, diluída em água destilada na proporção 1:1 e fundida a  $45^{\circ}\text{C}$ . Em seguida os preparados foram secos sob corrente de ar frio durante 1,30 horas e guardados em caixa à prova de luz, com um agente desumidificante. Após o período de exposição na geladeira a  $4^{\circ}\text{C}$ , os mesmos foram submetidos à ação do revelador Kodak D 19b, lavados rapidamente em água destilada e tratados com fixador endurecedor Kodak F 5, seguindo-se 6 banhos em água destilada. Finalmente os cortes foram corados pela hematoxilina-eosina, diferenciados na solução a 1% de ácido clorídrico em álcool 70% e submetidos à seqüência de montagem: desidratação em álcoois, óleo de cedro com 10% de xilol e resina sintética (duas passagens).

De cada experimento fez-se 4 conjuntos de preparados, os quais foram expostos por diversos intervalos de tempo entre 37 a 120 dias.

O índice de incorporação dos radioisótopos foi obtido através da contagem dos grãos de prata utilizando-se uma ocular reticulada de 8 X e objetiva de imersão de 100 X. Cada unidade de retículo delimitou uma área de  $81\mu\text{m}^2$ .

Foram contados 20 retículos nos ácinos e nos ductos glandulares. Salientamos que todas as contagens foram feitas ao acaso, não sendo contados mais do que uma unidade de de retículo no mesmo ácino ou ducto.

O "background" da emulsão, praticamente nulo, não foi subtraído das contagens feitas.

3.6.2 - Na segunda experiência, os 12 animais restantes, foram utilizados sendo 6 de cada sexo. Cada hamster recebeu 2  $\mu$ C por grama de peso corporal, também pela via intraperitoneal, de sulfato de sódio-S<sup>35</sup> livre de carregador (Instituto de Energia Atômica de São Paulo). Tais animais foram sacrificados em grupos de dois para cada sexo nos seguintes intervalos de tempo, após a injeção: 0,30, 4,00 e 24,00 horas.

A obtenção das glândulas salivares, o fixador, bem como todo o processamento técnico do material foi o mesmo utilizado no item anterior.

De cada experimento foram feitos 4 conjuntos de preparados tendo sido expostos por diversos intervalos de tempo entre 21 a 120 dias.

### 3.7 - Bioquímica

Para a dosagem bioquímica de ácido ribonucléico (RNA), ácido desoxiribonucléico (DNA), ácido siálico, hexosaminas, proteína total e atividades da lisozima, DNase, succino desidrogenase, amilase e protease, foram sacrificados 40 animais, sendo 20 adultos (10 para cada sexo) e 20 jovens (10 machos e 10 fêmeas). Logo após a morte de cada animal as glândulas salivares foram retiradas, pesadas, congeladas e homogeneizadas a 10% em água destilada com um homogeneizador de vidro e um pistilo de "teflon". Faz exceção a dosagem de hexosaminas em que a homogeneização foi feita em ácido clorídrico 2 N a 2% para as glândulas submandibular e sublingual e a 5% para a parótida. Nos homogenatos eram imediatamente dosadas as atividades enzimáticas, os ácidos nucleicos, o



ácido siálico e as hexosaminas, ou então os mesmos eram congelados a  $-20^{\circ}\text{C}$  para uso posterior.

Para os diferentes tipos de dosagens a metodologia empregada foi a seguinte:

#### 3.7.1 - Ácidos nucleicos

Tanto o RNA como o DNA foram dosados segundo a adaptação dos métodos de Schmidt e Tannhauser (1945) e Schneider (1945), após hidrólise alcalina (NaOH N) e fracionamento pelo ácido perclórico. Os resultados são expressos em miligrama (mg) por grama (g) de tecido fresco. Leitura no espectrofotômetro Zeiss em 260 nanômetros (nm).

#### 3.7.2 - Ácido siálico

Quantificou-se apenas o ácido N-acetilneuramínico (NANA), não se pesquisando outros derivados do ácido neuramínico. Foi utilizado o método do ácido tiobarbitúrico segundo Warren (1959), adaptado para pequenas alíquotas. O resultado é expresso em miligrama por 100 gramas de tecido fresco. Leitura no espectrocolorímetro Beckman em 532 e 549 nm.

#### 3.7.3 - Hexosaminas

Dosadas segundo Boas (1953), após hidrólise ácida (HCl 2 N) a quente. O produto de condensação entre hexosaminas do hidrolizado e acetilacetona em meio alcalino (pH 9,3 a 9,9) foi obtido em banho-maria a  $90^{\circ}\text{C}$  durante 45 minutos. O resultado é expresso em mg por 100 g de tecido fresco. A leitura foi realizada no espectrocolorímetro Beckman em 530 nm.

#### 3.7.4 - Proteína total

Dosada segundo Lowry, Rosebough, Farr e Randall (1951) após hidrólise alcalina (hidróxido de sódio 1 N) durante 40 minutos a  $37^{\circ}\text{C}$ . O resultado é expresso em mg por grama de tecido fresco. Leitura no espectrocolorímetro Beckman em 650 nm.

### 3.7.5 - Lisozima

Quantificada segundo Shugar (1952), tendo sido utilizado como substrato uma suspensão de Micrococcus lysodei-kticus, liofilizado em tampão fosfato com cloreto de sódio a pH 6,2 durante 10 minutos a 37°C. A atividade da enzima é expressa em mg de muramidase por grama de tecido fresco. Leitura no espectrocolorímetro Beckman em 450 nm.

### 3.7.6 - Desoxiribonuclease (DNase)

Dosada segundo Kurnick (1953), utilizando-se como substrato DNA-verde de metila, em tampão Tris com sulfato de magnésio a pH 7,5, durante 30 minutos a 37°C. A atividade da enzima é expressa em unidades Kurnick por grama de tecido fresco. Leitura no espectrocolorímetro Beckman em 640 nm.

### 3.7.7 - Succino desidrogenase

Dosada segundo o método de Kun e Abood (1949), utilizando-se como substrato o succinato de sódio em tampão fosfato a pH 7,4 durante 15 minutos a 37°C. A atividade específica da enzima é expressa em Unidade por miligrama de proteína (U/mg de proteína). Uma Unidade (U) de atividade enzimática corresponde à quantidade de micromoles do substrato que é liberada por minuto e por miligrama de proteína. Leitura no espectrocolorímetro Beckman em 580 nm.

### 3.7.8 - Amilase

Dosada segundo Sumner e Howell (1955), utilizando-se o amido como substrato em tampão fosfato com cloreto de sódio a pH 6,9 durante 30 minutos a 37°C. A atividade específica da enzima é expressa em Unidade por miligrama de proteína (U/mg de proteína). Leitura no espectrocolorímetro Beckman em 520 nm.

### 3.7.9 - Protease

Dosada segundo o método de Anson (1938), tendo sido usada como substrato a caseína em tampão carbonato-bi

carbonato a pH 9,6 durante 1 hora a 37°C. A atividade específica da enzima é expressa em Unidade por miligrama de proteína (U/mg proteína). Leitura no espectrocolorímetro Beckman em 640 nm.

### 3.8 - Método estatístico

A estatística dos resultados do peso corporal e peso glandular absoluto e relativo, histométrico, citofotométrico e bioquímico obtidos em todos os animais, foram analisados pela análise de variância através dos coeficientes polinomiais, segundo Lison (1958).

Devido à pequena amostragem e ao reduzido número de tempos escolhidos, os resultados radioautográficos foram tratados estatisticamente pelo teste "t" de Student (Lison, 1958), considerando-se portanto as possíveis diferenças para cada um dos tempos isoladamente.

Em todos os casos foi estabelecido em 5% o limite de significância.

## 4. RESULTADOS

### 4.1 - Peso corporal e glandular absoluto e peso glandular relativo

Os pesos corporais e os pesos glandulares absolutos e relativos das glândulas parótidas, submandibulares e sublinguais de hamsters jovens e adultos de ambos os sexos encontram-se na tabela 1.

A análise estatística da tabela a seguir demonstra que o peso corporal dos hamsters adultos é significamente maior que o dos jovens, enquanto entre sexos não há diferença.

Considerando o peso absoluto das glândulas salivares estudadas, a parótida apresenta diferença significante entre animais adultos e jovens e das fêmeas adultas em relação aos machos adultos. Na submandibular e sublingual não há diferenças entre sexos, mas os animais adultos possuem glândulas mais pesadas.

Porém, como o peso relativo é mais importante para tais considerações, podemos observar que para a glândula parótida são sempre significantes as diferenças, tanto entre animais machos e fêmeas como entre adultos e jovens, com as fêmeas apresentando os maiores valores. Para a submandibular só os animais fêmeas jovens apresentaram maiores valores que os machos jovens, não ocorrendo nenhuma variação entre adultos e jovens de ambos os sexos, bem como, entre machos e fêmeas adultas. A sublingual não apresenta qualquer variação no peso relativo entre animais de sexos diferentes, mas nas fêmeas adultas esta glândula demonstra menor peso relativo que o das fêmeas jovens.

TABELA 1

MÉDIAS E DESVIOS PADRÃO DO PESO CORPORAL E GLANDULAR ABSOLUTO E PESO GLANDULAR RELATIVO DA PARÓTIDA SUBMANDIBULAR E SUBLINGUAL DE HAMSTERS JOVENS E ADULTOS DE AMBOS OS SEXOS

HAMSTERS	Nº DE ANIMAIS	PESO CORPORAL (g)	PARÓTIDA (mg)	PARÓTIDA PESO RELATIVO	SUBMANDIBULAR (mg)	SUBMANDIBULAR PESO RELATIVO	SUBLINGUAL (mg)	SUBLINGUAL PESO RELATIVO
JOVEM ♂ (a)	10	44,45 ± 5,76	76,20 ± 10,82	0,157 ± 0,016	73,40 ± 6,46	0,165 ± 0,016	21,40 ± 4,16	0,044 ± 0,010
JOVEM ♀ (b)	10	39,05 ± 5,18	74,80 ± 4,76	0,199 ± 0,027	78,80 ± 9,63	0,202 ± 0,035	26,60 ± 3,39	0,071 ± 0,035
ADULTO ♂ (c)	10	103,90 ± 11,86	104,60 ± 7,40	0,102 ± 0,009	184,60 ± 33,58	0,180 ± 0,027	38,40 ± 7,33	0,087 ± 0,007
ADULTO ♀ (d)	10	108,35 ± 13,86	154,40 ± 20,16	0,137 ± 0,014	198,00 ± 26,46	0,176 ± 0,022	40,00 ± 7,94	0,036 ± 0,007
PROBABILIDADE (p)	a x b	ns	ns	S	ns	S	ns	ns
	c x d	ns	S	S	ns	ns	ns	ns
	a x c	S	S	S	S	ns	S	ns
	b x d	S	S	S	S	ns	S	S

## 4.2 - Histológicos

### 4.2.1 - Em microscopia óptica

#### 4.2.1.1 - Cortes em parafina

##### Parótida

Apresenta em geral as mesmas características estruturais em todos os animais de sexos e idades estudados. Pelos métodos de colorações rotineiras, trata-se de uma glândula mista com ácinos serosos e mucosos. Os ácinos serosos pequenos e predominantes, apresentam lume raramente perceptível e são constituídos por células de forma prismática, com núcleo basal ovóide e cromatina frouxa. Observa-se evidente basofilia ergastoplasmática de localização basal, porém mais acentuada nos animais adultos, enquanto nas demais regiões do citoplasma verifica-se um material granuloso (figs. 1 e 2). Entre as células acinosas evidenciam-se delgados canalículos (fig. 3).

Uma das características histológicas principais do órgão, é a presença de grande número de ductos intercalares longos e ramificados que apresentam aspecto granuloso (figs. 1 e 2). Aham-se revestidos de um epitélio cúbico simples, com núcleo elipsóide e cromatina pouco condensada.

Os ductos estriados estão revestidos por uma única camada de células epiteliais cilíndricas, com citoplasma acidófilo, homogêneo e evidente estriação basal. Os núcleos, de forma elipsóide e cromatina frouxa, acham-se em geral, no terço médio da célula (fig. 3).

Os ductos excretores são constituídos de um epitélio cilíndrico simples ou raramente estratificado, com células de citoplasma acidófilo e núcleo esférico de cromatina pouco condensada. Envolvendo os ductos, conforme seu diâmetro, encontra-se variável quantidade de estroma.

Além dos ácinos serosos, a glândula possui pequena proporção de volumosos ácinos mucosos "especiais" (AME), apre

sentando células de citoplasma claro, com finas granações acidófilas e grande número de pequenos vacúolos. Os núcleos, de localização basal, apresentam-se achatados e volumosos com forma elipsóide ou irregular (fig. 56).

#### Submandibular

Trata-se de uma glândula de aspecto mucoso com dois tipos de ácinos. Os mais abundantes, possuem lume reduzido e nos hamsters fêmeas aparentam ser maiores do que nos machos de mesma idade. Estes ácinos estão constituídos de células piramidais, em geral mal delimitadas, com citoplasma pouco granuloso e acidófilo, possuindo porém inúmeros pequenos vacúolos. No terço basal, onde está o núcleo de forma ovóide e cromatina frouxa, há uma discreta basofilia do ergastoplasma (fig. 4).

O outro tipo de ácino (ácino mucoso "especial": AME) embora pouco frequente como na parótida, apresenta as mesmas características estruturais dos ácinos mucosos da glândula sublingual (fig. 59).

Os ductos intercalares são curtos, pouco ramificados e menos numerosos e granulosos do que os da parótida.

Os ductos estriados modificados são grandes, com lume reduzido, e mais numerosos nos animais adultos (fig. 4). Estão formados de células altas com citoplasma cheio de granações com afinidade tintorial variável. O núcleo, localizado no terço basal ou médio da célula, tem forma elipsóide e cromatina frouxa (figs. 5 e 6).

Os ductos estriados e excretores são semelhantes aos descritos para a glândula parótida.

#### Sublingual

Esta glândula apresenta, de modo geral, a mesma estrutura entre os animais de sexos e idades estudados. É mista, com os ácinos mucosos bem volumosos apresentando semi-luas serosas achatadas. Os ácinos mucosos apresentam células com nú

cleo basal pavimentoso e cromatina condensada, fraca basofilia basal e evidente predomínio de secreção vesiculosa discretamente eosinófila (fig. 7).

As células das semi-luas apresentam núcleo basal ovóide, com cromatina geralmente condensada. No citoplasma observa-se discreta basofilia ergastoplasmática de localização basal e nas demais regiões do citoplasma encontra-se um material granuloso e acidófilo.

Os ductos intercalares apresentam menor frequência que os estriados e excretores, mas todos tem estruturas semelhantes aos das glândulas já descritas.

#### 4.2.1.2 - Cortes em araldite

Em nenhuma das glândulas estudadas com esta técnica ocorreu a oportunidade de se visualizar ductos excretores e ácinos mucosos "especiais".

#### Parótida

Como para os cortes em parafina, também nesta descrição, a glândula parótida apresenta as mesmas características estruturais nas diferentes idades e sexos já descritos.

Os ácinos são pequenos com lume pouco perceptível e células sem limites precisos. Núcleos ovóides de contorno irregular, cromatina frouxa e localização basal. Citoplasma apresentando basofilia ergastoplasmática e, no ápice, grânulos de secreção esféricos de coloração azul, cuja concentração foi sempre mais abundante nos animais adultos (fig. 8).

Os ductos intercalares são numerosos, bem individualizados, com lume reduzido e mais intensamente corados do que os ácinos. Suas células são cúbicas, com núcleo central de forma elipsóide, e com basofilia ergastoplasmática bastante intensa (fig. 8). Há grande número de grânulos de secreção de cor azul e de forma esférica localizados na região apical do citoplasma. Estes ductos são mais frequentes e apresentam maior número de grânulos de secreção entre os animais adultos.



Os ductos estriados são discretamente corados. Es tão constituídos por células cilíndricas com núcleos de forma elipsóide, localizados em geral na região média. O citoplasma exibe grande quantidade de estriações na região basal. Entremeadas com este tipo de célula, e em menor número, há outro tipo mais delgado e com citoplasma mais corado que, contudo, mantém as mesmas características daquelas já descritas (fig. 8).

#### Submandibular

Os ácinos mucosos que predominam na glândula submandibular são maiores do que os serosos da parótida, exibindo muitas vezes um lume bem visível. Os limites celulares são pouco perceptíveis. Núcleos ovóides de cromatina frouxa com nucléolo evidente, estão localizados na região basal da célula. O citoplasma, bastante vacuolizado em quase toda a célula, apresenta grânulos de secreção e discreta basofilia ergastoplasmática (fig. 9). O número de vacúolos e dos grânulos de secreção parece ser respectivamente menor e maior nos animais adultos do que nos jovens, sem variação entre sexos.

Os ductos intercalares são observados com certa facilidade, porém são menos numerosos do que os da parótida. Em geral estão constituídos de células cúbicas baixas, com lume visível e núcleos esféricos. O citoplasma, de moderada basofilia ergastoplasmática, apresenta alguns grânulos de secreção também de forma esférica, de cor azul, e em menor quantidade do que os da parótida (fig. 9).

Os ductos estriados modificados são numerosos, pouco corados e de lume reduzido. Acham-se constituídos de células cilíndricas, com núcleos de forma elipsóide e de cromatina frouxa localizados em diferentes alturas na célula em geral encontrados na parte média. No terço apical das células observamos grânulos de secreção de forma esférica e de cor azul. A diferença significante que ocorre nesta estrutura é o seu maior número nos animais adultos (figs. 9 e 10).

Os ductos estriados apresentam estrutura semelhante à descrita na glândula parótida; todavia, em algumas células existem grânulos na região apical.

#### Sublingual

Os ácinos da sublingual são volumosos, muito pouco corados, com lume reduzido e limites celulares bem visíveis. Encontram-se associadas com células que, em forma de crescente, formam as semi-luas serosas.

As células acinosas são prismáticas com núcleo de cromatina condensada rechaçado na base da célula. O citoplasma da célula com relativa basofilia basal, acha-se preenchido por vacúolos esféricos de vários tamanhos. Tudo leva a crer que alguns estão coalescidos, dando origem a vacúolos grandes e irregulares (fig. 11).

As células das semi-luas apresentam-se bastante coradas, com núcleos de cromatina pouco condensada e forma ovóide, situados na base da célula. O citoplasma apresenta-se intensamente basófilo e cheio de grânulos esféricos de secreção corados em azul.

Os ductos intercalares e estriados, quando presentes, apresentam as mesmas características estruturais descritas na glândula submandibular (fig. 11).

#### 4.2.2 - Em microscopia eletrônica

No estudo das glândulas salivares maiores de hamster ao nível da microscopia eletrônica serão descritos todos os componentes do adenômero à exceção do ducto excretor e dos ácinos mucosos "especiais".

As descrições que se seguem são válidas tanto para animais jovens e adultos, como para os dois sexos. Qualquer diferença julgada relevante será devidamente salientada durante a descrição.

### Parótida

Ácino: os ácidos da parótida estão envoltos pela lâmina basal e acham-se formados por células prismáticas. Nestas, a membrana plasmática não apresenta invaginações na base, porém nas regiões laterais emite projeções que se interdigitam com as das células vizinhas formando canalículos intercelulares com alguns microvilos. Próximo ao lume do ácido deixam de ser vistas as interdigitações da membrana e observam-se os desmosomos e complexo unitivo (figs. 12 e 13). Na região apical, a célula acinosa emite grande número de microvilos para o lume do ácido.

O núcleo da célula acinosa está situado no seu terço basal, tem forma esférica, contorno irregular e na maioria das vezes apresenta um só nucléolo. A cromatina é de eletrondensidade variável, sendo porém maior na região junto ao envoltório nuclear (fig. 12).

No citoplasma das células acinosas podem ser descritas as seguintes características: as mitocôndrias com sua estrutura típica, em geral de forma ovalada ou alongada, estão localizadas quase sempre ao redor do núcleo. O retículo endoplasmático granular, bastante desenvolvido na região basal da célula, é constituído por vesículas achatadas regularmente dispostas em fileiras paralelas (fig. 14). Relativamente poucos ribossomos se encontram livres na matriz citoplasmática; o complexo de Golgi, com a sua estrutura clássica, acha-se sempre entre o núcleo e a região apical da célula. Está constituído de vesícula achatada com dilatações saculiformes nas extremidades. O restante do citoplasma está ocupado quase totalmente por grânulos de secreção de diferente morfologia e densidade eletrônica. Estão situados desde a região supranuclear até o ápice da célula, onde são mais numerosos (figs. 12 e 15).

Foram registrados os seguintes tipos de grânulos de secreção:

1. Grânulos de menor eletrondensidade homogênea, onde se encontra finíssimo pontilhado escuro, estando regularmente envoltos por uma membrana (fig. 16).

2. Grânulos de eletrondensidade variada, onde são observados grupos irregulares de forte eletrondensidade, alternados por regiões homogêneas e menos eletrondensas (fig. 16).
3. Grânulos que apresentam uma região fortemente eletrondensa delimitada por outra em forma de crescente, de menor eletrondensidade (fig. 14).
4. Grânulos que exibem zona de fortíssima eletrondensidade em forma de crescente delimitada por regiões de baixa eletrondensidade (fig. 17).
5. Grânulos que apresentam uma região central, menos eletrondensa, circundada por outra de maior eletrondensidade (fig. 18).
6. Grânulos que mostram maior eletrondensidade homogênea e central, em torno da qual, aparecem zonas de menor densidade eletrônica (fig. 19).

Ducto intercalar: O ducto intercalar é formado por dois tipos de células cúbicas: uma clara, de menor densidade eletrônica, e outra escura, de maior eletrondensidade e mais frequente, embora apresentem, em geral, as mesmas características estruturais.

As células escuras mostram núcleo grande, situados no seu terço médio ou basal, de forma esférica e contorno irregular. A cromatina apresenta áreas de forte densidade eletrônica apenas junto ao envoltório nuclear (fig. 20).

Na região basal e membrana plasmática mostra-se lisa, nas regiões laterais forma interdigitações e desmosomas (fig. 21) e na apical emite microvilos. O citoplasma exibe um retículo endoplasmático granular mais desenvolvido na base da célula, sendo constituído por vesículas achatadas, dispostas em fileiras paralelas. Raramente pode-se observar, na zona supranuclear, um complexo de Golgi de aspecto característico. Há grande número de grânulo de secreção esférico com apreciável densidade eletrônica homogênea.

Ducto estriado: O ducto estriado está constituído de dois tipos celulares devido a diferentes eletrondensidades. Foram

denominados de células claras e células escuras apresentando também, quase sempre, as mesmas características estruturais.

As células têm forma prismática, circundam um lume amplo para onde se projetam curtos microvilos. Na região basal das células, a membrana plasmática emite invaginações profundas alcançando a região nuclear. Há interdigitações laterais entre células vizinhas até a região apical, quando então são substituídas por desmossomos.

Um núcleo ovóide está localizado na parte média da célula. A cromatina é menos eletrondensa para as células claras quando comparada com a das células escuras.

As mitocôndrias são numerosas, tem a forma alongada e muitas cristas. Embora distribuídas por toda a célula, localizam-se principalmente nas regiões basal e média, entre as invaginações da membrana plasmática. Verificam-se muitos ribossomos livres no citoplasma e raras vesículas de retículo endoplasmático granular. Alguns grânulos de reabsorção de forma esférica e eletrondensos podem ser observados na região apical da célula (fig. 22).

#### Submandibular

Ácino: Os ácinos da glândula submandibular são constituídos por células prismáticas. A sua membrana plasmática de modo geral não apresenta invaginações na base mas nas regiões laterais emite projeções que se interdigitam com os das células vizinhas, formando os canalículos intercelulares que são mais evidentes nos animais jovens (figs. 23 e 24). À medida que as membranas laterais se aproximam do lume do ácino, desaparecem tais interdigitações e surgem os desmossomos. Na região apical a membrana forma curtos microvilos para o lume do ácino. As células acinosas apoiam-se sobre lâmina basal que envolve também as células mioepiteliais, com as quais estão em contato (fig. 23).

A célula acinosa tem núcleo bastante eletrondenso, de forma e contorno irregular, rechaçado em sua base. As profundas invaginações na superfície do núcleo contém retículo endoplasmático granular, grânulos de secreção e mitocôndrias (figs. 23 e 24).

O citoplasma das células exhibe grânulos de secreção situados da região supranuclear para o ápice, onde são bastante numerosos. Distinguem-se dois tipos principais de grânulos: um claro, de eletrondensidade homogênea com fino pontilhado escuro, à semelhança do tipo 1 descrito na parótida; o outro, apresentando uma região mais eletrondensa delimitada por outra de menor eletrondensidade em forma de crescente, à semelhança do tipo 2 da parótida. Estes grânulos revestidos por membrana são, contudo, menos eletrondensos do que os referidos na glândula parótida (fig. 25). As mitocôndrias, ovóides ou alongadas, com a sua estrutura típica, acham-se espalhadas pelo citoplasma, principalmente na base das células.

O complexo de Golgi encontra-se em vários locais da região justanuclear. Apresenta vesícula achatada com dilatações saculiformes nas extremidades. O retículo endoplasmático granular encontra-se principalmente na região basal da célula, porém é menos desenvolvido do que o de células acinosas da glândula parótida (figs. 23, 24 e 25).

Ducto intercalar: Os ductos intercalares apresentam as mesmas características estruturais já descritas em glândula parótida, o que pode ser facilmente constatado pela análise das figuras 26 e 27.

Ducto estriado modificado: Está constituído por células colunares, com núcleo esférico ou ovalado, com cromatina de forte eletrondensidade situado na região média da célula.

A membrana plasmática na base da célula, em contato com a lâmina basal, apresenta invaginações profundas até o terço médio da célula. Lateralmente, as células estão associadas

por interdigitações até a região apical onde são substituídas por desmossomos e complexo unitivo próximo ao lume. Observa-se ainda a presença de microvilos na parte apical, notadamente em animais jovens (figs. 28 e 29).

O citoplasma das células do ducto estriado modificado é caracterizado principalmente pela grande quantidade de grânulos de secreção de forte eletrondensidade homogênea (fig. 28). Digno de destaque é a enorme variabilidade na forma destes grânulos, impossibilitando mesmo uma descrição mais pormenorizada dos mesmos ("Inset" da fig. 28).

O retículo endoplasmático granular é pouco desenvolvido, porém verificam-se muitos ribossomos livres no citoplasma. Há muitas mitocôndrias de forma alongada distribuída essencialmente pela zona basal e média da célula, entre as invaginações da membrana plasmática. Alguns lisossomos podem ser evidenciados.

Raramente o complexo de Golgi foi visualizado e, quando presente, localizou-se próximo ao núcleo.

Ducto estriado: Os ductos estriados apresentam as mesmas características estruturais já descritas na glândula parótida (fig. 29).

### Sublingual

Ácino: Os ácinos são formados por células prismáticas que limitam um lume estreito (fig. 30). São circundados por células em forma de crescente, conhecidas como semi-lua serosa (fig. 32).

As células acinosas estão apoiadas numa lâmina basal que envolve também as células mioepiteliais, com as quais estão em contato (fig. 32).

A membrana plasmática frequentemente não apresenta invaginações na base da célula, estando em contato com a lâmina basal ou com um prolongamento da célula mioepitelial. Nas regiões laterais observam-se desmossomos e é difícil a visualiza

ção de canaliculos intercelulares, enquanto na face apical observam-se raros e curtos microvilos.

O núcleo, de forma alongada e de contorno irregular, encontra-se rechaçado na base da célula. A cromatina tem forte eletrondensidade, principalmente junto ao envoltório nuclear (fig. 31). As invaginações na superfície do núcleo contém, além do retículo endoplasmático granular, mitocôndrias e grânulos de secreção.

O citoplasma da célula está quase totalmente preenchido de grânulos de secreção, delimitados por uma membrana, constituídos de um material homogêneo de baixa eletrondensidade e de forma filamentososa. Frequentemente, os grânulos coalescem dando origem a acúmulos de secreção (fig. 31). Nos raros espaços citoplasmáticos deixados entre os grânulos, observa-se o retículo endoplasmático granular, mitocôndrias, ribossomos livres e raras cisternas de retículo endoplasmático agranular. O complexo de Golgi constituído de vesículas achatadas encontra-se em várias regiões do citoplasma.

Semi-lua: As células das semi-luas estão em contato com as células mioepiteliais ou apoiadas sobre uma lâmina basal. A membrana plasmática é lisa na base da célula, mas nas regiões laterais forma interdigitações com as membranas de células vizinhas, delimitando alguns canaliculos intercelulares com microvilos. Estes canaliculos atingem o espaço intercelular das células mucosas, onde o produto de secreção é lançado.

O núcleo das células das semi-luas localiza-se na base, tem em geral a forma ovóide e cromatina de média eletrondensidade, principalmente junto ao envoltório nuclear. No citoplasma é observado o retículo endoplasmático granular, vários ribossomos livres, algumas mitocôndrias e, notadamente, grande número de grânulos de secreção de diferente eletrondensidade delimitados por fina membrana (fig. 32). Estes grânulos apresentam como característica principal uma parte central eletrondensa circundada por uma área delgada de menor densidade eletrônica, embora possam



ocorrer raras exceções (fig. 32). Sua estrutura assemelha-se grossiramente ao grânulo do tipo 6 descrito para a glândula parótida.

O complexo de Golgi é encontrado próximo ao núcleo como vesícula achatadas com dilatações saculiformes.

Ductos intercalares e estriado: Por apresentarem as mesmas características estruturais da glândula parótida não se rão novamente descritos e/ou ilustrados. Contudo, deve-se ressaltar que os ductos intercalares são raríssimos.

#### Células mioepiteliais

Embora seu estudo não esteja dentro do objetivo deste trabalho relatamos que, quando visualizadas, as seguintes características podem ser descritas: são ramificadas, com os prolongamentos envolvendo as células acinosas e/ou as das semi-luas. Apresentam núcleo alongado com superfície irregular e cromatina de forte eletrondensidade na zona do envoltório nuclear. No citoplasma é observado, além das mitocôndrias e ribossomos livres, um número razoável de miofilamentos e vesículas de pinocitose.

A descrição de aspectos do mioepitélio na glândula sublingual é devido à sua maior frequência neste órgão.

#### 4.3 - Histométricos

Os resultados obtidos pela análise histométrica das glândulas salivares parótida, submandibular e sublingual de hamsters jovens e adultos de ambos os sexos encontram-se agrupados na tabela 2 onde utilizou-se as seguintes abreviações: AS = ácino seroso; AM = ácino mucoso; SLS = semi-lua serosa; DI = ducto intercalar; DE = ducto estriado; DEM = ducto estriado modificado; DEx = ducto excretor; j = jovem; A = adulto; ns = não significante e S = significante.

A análise da tabela 2 mostra que:

##### Parótida

- a) O parênquima acinoso já está estabelecido desde 25 dias de vida pós-natal, quando o percentual é igual ao do adulto, e sem qualquer dimorfismo sexual.
- b) Há evidente variação nos ductos intercalares, da ordem de 4 a 6 vezes a favor dos animais adultos em relação aos jovens, embora sem variação entre sexos.
- c) As variações significantes para os ductos excretores correm muito provavelmente por conta da altura do corte histometrado, conforme pode ser verificado pelo desvio padrão da média dos animais adultos fêmeas.
- d) As glândulas dos animais jovens são mais frouxas, considerando-se que o grande percentual do estroma cai pela metade dos animais adultos.

No global os dados mais significantes são: não há variações no parênquima glandular entre sexos, tanto nos animais jovens como adultos; apesar de evidentes variações histométricas para o estroma e para os ductos intercalares, entre jovens e adultos, a percentual dos ácinos é a mesma.

##### Submandibular

- a) O parênquima acinoso, como ocorre com as parótidas, já está estabelecido desde os 25 dias de vida pós-natal, quando o percen

tual é igual ao do adulto, e sem qualquer dimorfismo sexual.

- b) Os ductos intercalares nos animais machos já estão definidos desde os 25 dias em proporções semelhantes, o que não ocorre entre as fêmeas. Para estas parece haver um atraso na diferenciação, pois entre animais jovens as fêmeas tem menos ductos que os machos, e somente entre animais adultos desaparece esta diferença.
- c) Os ductos estriados modificados não demonstram diferença entre sexos, tanto nos jovens como adultos. Contudo, para ambos os sexos é significativa a diferença entre adultos e jovens. Este mesmo fenômeno foi obtido para os ductos intercalares das glândulas parótidas.
- d) O estroma diminui sua percentagem com a idade demonstrando que a glândula torna-se mais compacta no adulto.

Em síntese, pode-se deduzir que: não há variação no parênquima glandular entre sexos nos animais jovens e adultos; há evidente variação entre adultos e jovens na percentagem dos ductos estriados modificados; apenas entre adultos e jovens fêmeas há variação na percentagem de ductos intercalares.

### Sublingual

A análise dos resultados demonstra que embora a tabela mostre alguns valores significantes para os ácinos, ductos intercalares e estroma, tudo leva a crer que quase todo o parênquima já está definido nos animais jovens, da mesma forma que nenhuma variação entre sexos foi observada. A diferença mais relevante ocorre entre animais adultos e jovens em relação às semi-luas serosas, mais evidentes nos primeiros.

TABELA 2

MÉDIAS E RESPECTIVOS DESVIOS PADRÃO DA RELAÇÃO HISTOMÉTRICA DOS COMPONENTES DAS GLÂNDULAS PARÓTIDA, SUBMANDIBULAR E SUBLINGUAL DE HAMSTER JOVENS E ADULTOS DE AMBOS OS SEXOS

GLÂNDULA	GRUPO ESTRUTURA	JOVEM (j)		ADULTO (A)		PROBABILIDADE (p)			
		♂	♀	♂	♀	♂jx♀j	♂Ax♀A	♂jx♂A	♀jx♀A
PARÓTIDA	AS	± 62,48 7,00	± 64,72 2,61	± 62,50 4,46	± 66,58 5,52	ns	ns	ns	ns
	DI	± 3,04 1,00	± 2,00 0,89	± 12,20 2,67	± 11,52 4,00	ns	ns	.S	.S
	DE	± 10,80 3,03	± 7,20 2,93	± 8,82 1,26	± 8,60 0,60	ns	ns	ns	ns
	DEx	± 0,72 0,65	± 0,08 0,18	± 2,12 0,63	± 0,70 1,06	s	.S	.S	s
	Estroma	± 22,40 7,94	± 24,00 5,72	± 10,98 3,47	± 12,64 3,82	ns	ns	.S	.S
SUBMANDIBULAR	AM	± 54,00 5,93	± 60,72 4,02	± 59,72 3,70	± 60,32 5,95	ns	ns	ns	ns
	DI	± 3,44 0,72	± 1,44 0,96	± 4,96 1,64	± 3,58 1,08	S	ns	ns	S
	DEM	± 10,00 2,33	± 12,16 2,69	± 19,68 4,04	± 19,10 2,34	ns	ns	S	S
	DE	± 4,48 2,26	± 4,40 1,52	± 2,24 1,35	± 3,24 1,22	ns	ns	S	S
	Dex	± 0,32 0,33	± 0,32 0,52	± 0,26 0,37	± 0,38 0,11	ns	ns	ns	ns
	Estroma	± 27,92 4,32	± 19,36 5,91	± 11,68 4,10	± 15,36 3,27	ns	ns	S	S
SUBLINGUAL	AM	± 56,08 9,31	± 63,36 7,08	± 70,64 2,54	± 67,92 4,38	ns	ns	S	ns
	SLS	± 1,36 0,73	± 1,60 0,49	± 3,92 1,42	± 4,16 1,80	ns	ns	S	S
	DI	± 0,76 0,75	± 0,48 0,33	± 1,76 0,92	± 1,60 1,78	ns	ns	S	S
	DE	± 3,44 2,24	± 4,56 1,31	± 7,12 3,79	± 5,52 1,86	ns	ns	ns	ns
	DEx	± 0,98 0,75	± 0,32 0,34	± 0,56 0,78	± 0,80 0,48	ns	ns	ns	ns
	Estroma	± 28,52 4,40	± 24,08 5,24	± 11,44 3,56	± 19,36 5,11	ns	ns	S	ns

#### 4.4 - Histoquímicos

Todos os resultados histoquímicos acham-se acompanhados das respectivas reações de bloqueios, e encontram-se expostos nas várias tabelas apresentadas adiante. Nestas tabelas foram utilizadas as seguintes abreviações para as estruturas: AS = ácino seroso; AM = ácino mucoso; SLS = semi-lua serosa; DI = ducto intercalar; DEM = ducto estriado modificado; DE = ducto estriado; DEx = ducto excretor. Para a intensidade das reações: ++ = positividade forte; + = positividade média; ± = positividade fraca; - = negativo. O asterisco (\*) significa estrutura não observada.

A análise dos achados nas glândulas salivares parótida, submandibular e sublingual foram baseados no estudo dos polissacarídeos, proteínas e aminoácidos, ácidos nucléicos (RNA), enzimas e lípedes. Os resultados aqui expostos compreendem animais adultos e jovens pertencentes a ambos os sexos.

##### 4.4.1 - Polissacarídeos

Todos os resultados obtidos foram agrupados nas tabelas 3, 4, 5 e 6.

TABELA 3

RESULTADOS HISTOQUÍMICOS DE POLISSACARÍDEOS EM GLÂNDULAS SALIVARES DE HAMSTER  
MACHO JOVEM

MÉTODOS	PARÓTIDA				SUBMANDIBULAR					SUBLINGUAL				
	AS	DI	DE	DE <sub>x</sub>	AM	DI	DEM	DE	Dex	SLS	AM	DI	DE	DE <sub>x</sub>
PAS	+	++	-	-	++	*	++	-	-	++	++	*	-	-
Acetilação + PAS	-	-	-	-	-	*	-	-	-	-	-	*	-	-
AB pH 2,5	+	+	-	-	++	*	-	-	-	-	++	*	-	-
AB pH 0,5	-	-	-	-	+	*	-	-	-	-	+	*	-	-
Acetilação + AB pH 2,5	-	-	-	-	-	*	-	-	-	-	-	*	-	-
Reação da Benzidina	+	+	-	-	+	*	-	-	-	-	+	*	-	-
Hidrólise Ácida + AB pH 2,5	-	+	-	-	+	*	-	-	-	-	+	*	-	-
AB + PAS	++	+	-	-	++	*	+	-	-	-	++	*	-	-
AB PAS	+	++	-	-	++		++	-	-	++	+		-	-
Aamilase + PAS	+	+	-	-	+	*	+	-	-	+	+	*	-	-

TABELA 4  
 RESULTADOS HISTOQUÍMICOS DE POLISSACARÍDEOS EM GLÂNDULAS SALIVARES DE HAMSTER  
 FÊMEA JOVEM

MÉTODOS	PARÓTIDA				SUBMANDIBULAR					SUBLINGUAL				
	AS	DI	DE	DE <sub>x</sub>	AM	DI	DEM	DE	DE <sub>x</sub>	SLS	AM	DI	DE	DE <sub>x</sub>
PAS	+	++	-	-	++	*	++	-	-	++	++	*	-	-
Acetilação + PAS	-	-	-	-	-	*	-	-	-	-	-	*	-	-
AB pH 2,5	+	+	-	-	++	*	-	-	-	-	++	*	-	-
AB pH 0,5	-	-	-	-	+	*	-	-	-	-	+	*	-	-
Acetilação + AB pH 2,5	-	-	-	-	-	*	-	-	-	-	-	*	-	-
Reação da Benzidina	+	+	-	-	+	*	-	-	-	-	+	*	-	-
Hidrólise Ácida + AB pH 2,5	-	+	-	-	+	*	-	-	-	-	+	*	-	-
AB + PAS	+	+	-	-	++	*	+	-	-	-	++	*	-	-
AB PAS	+	++	-	-	+		++	-	-	++	+		-	-
Amilase + PAS	+	+	-	-	+	*	+	-	-	+	+	*	-	-

TABELA 5  
 RESULTADOS HISTOQUÍMICOS DE POLISSACARÍDEOS EM GLÂNDULAS SALIVARES DE HAMSTER  
 MACHO ADULTO

MÉTODOS	PARÓTIDA				SUBMANDIBULAR					SUBLINGUAL				
	AS	DI	DE	DE <sub>x</sub>	AM	DI	DEM	DE	DE <sub>x</sub>	SLS	AM	DI	DE	DE <sub>x</sub>
PAS	+	++	-	-	++	*	++	-	-	++	++	*	-	-
Acetilação + PAS	-	-	-	-	-	*	-	-	-	-	-	*	-	-
AB pH 2,5	+	+	-	-	++	*	-	-	-	-	++	*	-	-
AB pH 0,5	-	-	-	-	+	*	-	-	-	-	+	*	-	-
Acetilação + ABpH 2,5	-	-	-	-	-	*	-	-	-	-	-	*	-	-
Reação da Benzidina	+	+	-	-	+	*	-	-	-	-	+	*	-	-
Hidrólise Ácida + AB pH 2,5	-	+	-	-	+	*	-	-	-	-	+	*	-	-
AB + PAS	+	+	-	-	++	*	+	-	-	-	++	*	-	-
AB PAS	+	++	-	-	++	*	++	-	-	++	+		-	-
Amilase + PAS	+	+	-	-	+	*	+	-	-	+	+	*	-	-



TABELA 6  
 RESULTADOS HISTOQUÍMICOS DE POLISSACARÍDEOS EM GLÂNDULAS SALIVARES DE HAMSTER  
 FÊMEA ADULTO

MÉTODOS	PARÓTIDA				SUBMANDIBULAR					SUBLINGUAL				
	AS	DI	DE	DE <sub>x</sub>	AM	DI	DEM	DE	DE <sub>x</sub>	SLS	AM	DI	DE	DE <sub>x</sub>
PAS	+	++	-	-	++	*	++	-	-	++	++	*	-	-
Acetilação + PAS	-	-	-	-	-	*	-	-	-	-	-	*	-	-
AB pH 2,5	+	+	-	-	++	*	-	-	-	-	++	*	-	-
AB pH 0,5	-	-	-	-	+	*	-	-	-	-	+	*	-	-
Acetilação + AB pH 2,5	-	-	-	-	-	*	-	-	-	-	-	*	-	-
Reação da Benzidina	+	+	-	-	+	*	-	-	-	-	+	*	-	-
Hidrólise Ácida + AB pH 2,5	-	+	-	-	+	*	-	-	-	-	+	*	-	-
AB + PAS	+	+	-	-	++	*	+	-	-	-	++	*	-	-
AB PAS	+	++	-	-	+		++	-	-	++	+		-	-
Aamilase + PAS	+	+	-	-	+	*	+	-	-	+	+	*	-	-

Com a metodologia empregada, foi evidenciado polissacarídeo neutro nos ácinos, semi-luas serosas, ductos intercalares (quando observados) nas três glândulas estudadas e nos ductos estriados modificados das submandibulares. Maior intensidade de reação foi obtida nos ductos estriados modificados da submandibular e ácinos mucosos da sublingual dos machos adultos do que nos das fêmeas de idêntica idade (figs. 33, 34, 35 e 36), o mesmo não acontecendo com os animais jovens.

A detecção de polissacarídeos ácidos foi conseguida com o emprego do método do alcian blue pH 2,5 em todos os áci nos das glândulas parótida, submandibular e sublingual (exceto as semi-luas) e ductos intercalares da parótida. Observou-se nos animais adultos, menor intensidade de reação nos ácinos da submandi bular dos machos do que nos das fêmeas (figs. 37 e 38), enquanto os ácinos mucosos da sublingual parecem exibir maior intensidade de reação nos animais machos (figs. 39 e 40).

Os ácinos da submandibular de fêmeas jovens rea giram com mais intensidade ao alcian blue do que os dos machos de mesma idade (figs. 41 e 42).

Foi demonstrada a presença de polissacarídeo áci do sulfatado, baseada apenas no resultado da benzidina, nos ácinos e ductos intercalares da parótida, pois foram negativos os resulta dos ao alcian blue pH 0,5 e ao controle pela acetilação mais alcian blue a pH 2,5. A reação da benzidina, associada aos resultados positivos ao alcian blue pH 0,5 demonstrou a presença da mesma substância nos ácinos da submandibular e sublingual.

Com o emprego da hidrólise ácida, o ácido siálico ficou evidenciado em todas as células acinosas das três glândulas.

A presença do glicogênio, ao usar-se o método do PAS com o controle pela amilase salivar, ficou patenteada nos ductos intercalares da parótida, ácinos e ductos estriados modificados da submandibular e nos ácinos e semi-luas da sublingual.

A associação dos métodos de alcian blue com o PAS, veio nos permitir a obtenção de resultados referentes à predominância de polissacarídeos neutros ou ácidos, ou de ambos, nas diversas estruturas glandulares.

O predomínio da reação ao alcian blue em relação ao PAS é evidente nos ácinos mucosos da sublingual, tanto nos animais jovens como adultos. Este predomínio é ainda observado nos ácinos da submandibular de fêmeas adultas e jovens, e nos ácinos da parótida de machos jovens.

Foi detectado predomínio do PAS ao nível dos ductos estriados modificados na submandibular e nos ductos intercalares da parótida de todos os animais estudados.

A única estrutura que neste método mostrou-se exclusivamente PAS positiva foi a semi-lua da sublingual.

As células mucosas especiais existentes nas glân

ulas parótida e submandibular comportaram-se histoquimicamente como os ácinos mucosos da sublingual.

#### 4.4.2 - Proteínas e aminoácidos

Todos os resultados obtidos foram agrupados na tabela 7.

TABELA 7

RESULTADOS HISTOQUÍMICOS DE PROTEÍNAS E AMINOÁCIDOS EM GLÂNDULAS SALIVARES DE HAMSTERS JOVENS E ADULTOS DE AMBOS OS SEXOS

MÉTODOS	PARÓTIDA				SUBMANDIBULAR					SUBLINGUAL				
	AS	DI	DE	DE <sub>x</sub>	AM	DI	DEM	DE	DE <sub>x</sub>	SLS	AM	DI	DE	DE <sub>x</sub>
Grupo amino - aloxana-Schiff	++	++	±	±	++	+	++	±	±	+	-	*	±	±
Desaminação + aloxana-Schiff	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	*	-	-
Arginina: Sakaguchi	++	++	++	++	+	+	+	++	++	+	-	*	+	+
Acetilação enérgica+Sakaguchi	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	*	-	-
Tirosina: Millon	+	++	±	±	-	+	++	±	±	+	-	*	±	±
Iodação + Millon	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	*	-	-
Triptofano: DMAB-nitrito	+	++	-	-	-	++	++	-	-	+	-	+	-	-
Ácido perfórmico+DMAB-nitrito	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Cisteína: Adams	-	++	-	-	-	++	++	-	-	-	-	-	-	-
Iodoacetamida + Adams	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Cistina: iodoacetamida + ácido tioglicólico + Adams	-	++	-	-	-	++	++	-	-	+	-	±	-	-
Proteínas básicas: Naftol Yellon S (NYS)	++	++	++	++	±	±	++	++	++	±	-	*	+	+
Metilação + NYS	++	++	++	++	±	±	++	++	++	±	-	*	+	+
Lisina: metilação + acetilação branda + NYS	±	±	+	+	±	±	±	±	±	+	-	*	±	+
Histidina: metilação + acetilação enérgica + NYS	+	+	±	±	±	+	+	+	+	±	-	*	+	+

Baseados nos vários métodos histoquímicos e respectivos bloqueios, ficou demonstrado que todas as estruturas das glândulas salivares, (exceto ácinos mucosos da sublingual), tanto nos animais adultos como jovens, apresentaram positividade para os grupos amino, arginina, lisina e histidina.

Para tirosina apenas os ácinos das submandibulares e sublinguais não apresentaram positividade. Por outro lado, verificou-se maior intensidade de reação nos ductos intercalares da parótida (fig. 43) e ductos estriados modificados da submandibular.

Intensas reações foram observadas para triptofano, cisteína e cistina tanto nos ductos intercalares da parótida e submandibular, ducto estriado modificado da submandibular, como nas semi-luas serosas da sublingual (figs. 44 e 45). Os ácinos da submandibular e sublingual foram negativos ao triptofano, mas os da parótida apresentaram discreta reação positiva.

Os resultados histoquímicos para proteínas em geral e para aminoácidos não demonstraram nenhuma diferença entre animais de sexo e/ou idades diferentes.

#### 4.4.3 - Ácidos nucléicos (RNA)

Verificamos a presença de RNA citoplasmático em todas as células acinosas das diferentes glândulas, bem como nas semi-luas serosas da sublingual e ductos intercalares da parótida. Esse RNA acumula-se principalmente no polo basal das células. Na tabela 8 e no gráfico 1 são apresentados os resultados das medidas citofotométricas da concentração da basofilia citoplasmática devida ao RNA em células acinosas da parótida, submandibular e sublingual de hamsters jovens e adultos de ambos os sexos.

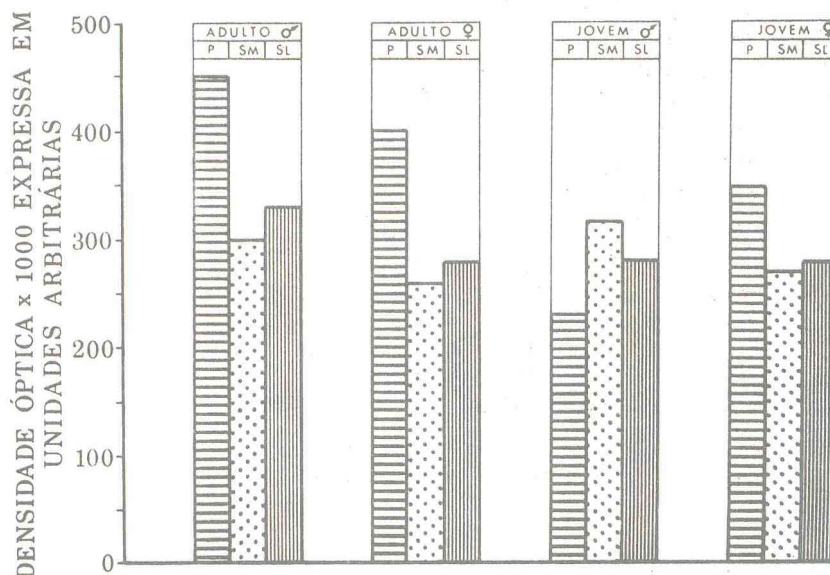
TABELA 8

MÉDIAS E DESVIOS PADRÃO DA CONCENTRAÇÃO RELATIVA DO MATERIAL BASÓFILO (CORÁVEL PELO AZUL DE METILENO  $1 \times 10^{-4}$  M pH 4,0 E REMOVÍVEL PELA RIBONUCLEASE) DAS CÉLULAS ACINOSAS DAS PARÓTIDAS, SUBMANDIBULARES E SUBLINGUAIS DE HAMSTERS JOVENS E ADULTOS DE AMBOS OS SEXOS

HAMSTERS	GRUPOS	BASOFILIA		
		DENSIDADE ÓPTICA EXPRESSA EM UNIDADES ARBITRÁRIAS		
		PARÓTIDA	SUBMANDIBULAR	SUBLINGUAL
JOVEM ♂	(a)	0,235 ± 0,055	0,317 ± 0,073	0,284 ± 0,041
JOVEM ♀	(b)	0,345 ± 0,048	0,266 ± 0,050	0,277 ± 0,075
ADULTO ♂	(c)	0,456 ± 0,110	0,300 ± 0,075	0,333 ± 0,050
ADULTO ♀	(d)	0,400 ± 0,101	0,261 ± 0,055	0,279 ± 0,068
PROBABILIDADE ( p )	a x b	S	S	ns
	c x d	S	S	S
	a x c	S	ns	S
	b x d	S	ns	ns

GRÁFICO 1.

LEGENDA:

P - SM - SL - 

A análise estatística dos valores agrupados na tabela 8 demonstra que a basofilia ergastoplasmática dos ácinos da parótida é significativamente maior nos animais adultos em relação aos jovens. Entre sexos, enquanto jovens as fêmeas predominam sobre os machos e quando adultos, o quadro se inverte.

Na glândula submandibular a diferença significativa ocorre apenas entre sexos, sendo maior nos machos, sem qualquer variação entre jovens e adultos.

Contudo, na glândula sublingual, embora a basofilia acinosa seja semelhante entre animais fêmeas jovens e adultas, observa-se que nos machos adultos há maior concentração de ergastoplasma do que nos jovens, bem como do que nas fêmeas adultas.

O gráfico 1 oferece maior facilidade na comparação entre diferentes valores das diferentes glândulas.

#### 4.4.4 - Enzimas

Todos os resultados obtidos foram agrupados na tabela 9.

TABELA 9

RESULTADOS HISTOQUÍMICOS DE ENZIMAS EM GLÂNDULAS SALIVARES PARÓTIDA, SUBMANDIBULAR E SUBLINGUAL DE HAMSTERS JOVENS E ADULTOS DE AMBOS OS SEXOS.

MÉTODOS	PARÓTIDA				SUBMANDIBULAR					SUBLINGUAL (a)		
	AS	DI	DE	DE <sub>x</sub>	AM	DI	DEM	DE	DE <sub>x</sub>	AM	DE	DE <sub>x</sub>
Lacto desidrogenase	+	+	++	++	+	*	++	++	++	+	++	++
Málico desidrogenase	+	+	++	++	+	*	++	+	+	+	++	++
Adenosino trifosfatases ácidas pH7,4	-	-	-	-	-	*	-	-	-	-	-	-
Fosfatase ácida	++	++	±	±	+	*	±	±	±	±	±	±
Fosfatase alcalina	-	-	-	-	-	*	-	-	-	-	-	-
Monamino oxidase	+	+	±	+	+	*	+	+	+	-	±	±
Peroxidase	-	-	-	-	-	*	-	-	-	-	-	-
Succino desidrogenase	+	+	++	++	+	*	++(b)	++	++	+	++	++
Alfa-glican fosforilase	+	+	++	++	+	*	++	++	++	±	++	++

a = a espessura dos cortes não possibilitou observação precisa de resultados nas semi-luas.

b = reação menos intensa nos animais jovens.



A tabela 9 demonstra que todas as estruturas dos adenômeros das três glândulas salivares foram positivas aos vários métodos para a detecção de enzimas, com exceções das adenosino trifosfatases ácidas, fosfatase alcalina e peroxidase, cujos resultados foram negativos.

Convém salientar ainda que os ácinos mucosos da sublingual reagiram negativamente ao empregar-se a técnica para a evidenciação de monoamino oxidase.

Com exceção da fosfatase ácida e da monoamino oxidase, a positividade das reações para a alfa-glican fosforilase, málico, lacto e succino desidrogenases foi sempre mais intensa ao nível do sistema de ductos (figs. 46, 47 e 48).

A histoquímica de enzimas não possibilitou nenhuma diferenciação entre animais de sexos e/ou idades diferentes, a não ser para a succino desidrogenase que foi mais intensa nos ductos estriados modificados dos animais adultos em relação aos jovens.

Intensa positividade de reação de fosfatase alcalina foi verificada apenas ao nível das células mioepiteliais da glândula submandibular dos animais de diferentes idades e sexos.

#### 4.4.5 - Lípides

Com os métodos empregados na identificação dessas substâncias, os resultados obtidos para as glândulas parótida, submandibular e sublingual de hamsters jovens e adultos de ambos os sexos, encontram-se na tabela 10.

TABELA 10

RESULTADOS HISTOQUÍMICOS DE LÍPIDES EM GLÂNDULAS SALIVARES PARÓTIDA, SUBMANDIBULAR E SUBLINGUAL DE HAMSTERS JOVENS E ADULTOS DE AMBOS OS SEXOS.

MÉTODOS	PARÓTIDA				SUBMANDIBULAR					SUBLINGUAL			
	AS	DI	DE	DE <sub>x</sub>	AM	DI	DEM	DE	DE <sub>x</sub>	SLS	AM	DE	DE <sub>x</sub>
SUDAN BLACK B	++	++	-	-	+	+	±	-	-	+	+	-	-
PIRIDINA E SUDAN BLACK B	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
SUDAN IV	++	+	++	++	±	±	+	++	+	+	-	++	++
PIRIDINA E SUDAN IV	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
SULFATO AZUL DO NILO ÁCIDO	++	++	-	-	+	+	+	-	-	+	+	-	-
PIRIDINA E SULFATO AZUL DO NILO ÁCIDO	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Da interpretação dos resultados, depreende-se que todas as estruturas glandulares, tanto de animais jovens como adultos de ambos os sexos, contém material lipídico, conforme os resultados do Sudan Black B e principalmente pelo Sudan IV (fig. 49).

Ao empregar-se o método do sulfato azul do Nilo em meio ácido para a identificação de fosfolípidos, verificou-se forte reação positiva nos ácinos e ductos intercalares das parótidas (fig. 50). Moderada reação positiva ocorre nos ácinos, ductos intercalares e estriados modificados das submandibulares, e ácinos e semi-luas serosas das sublinguais de todos os animais. Os ductos estriados e excretóres apresentaram sempre resultados negativos.

Para os lípidos as reações histoquímicas também se comportam de forma semelhante entre os animais de sexo e/ou idades diferentes.

#### 4.5 - Radioautográficos

##### 4.5.1 - Leucina-H<sup>3</sup>

Os resultados das contagens dos radioautogramas acham-se agrupados na tabela 11. Para favorecer ainda mais as comparações destas contagens foram elaborados os gráficos 2, 3 e 4.

Os resultados contidos na tabela 11, quando dispostos nos gráficos 2, 3 e 4, demonstraram que a curva de incorporação de leucina-H<sup>3</sup> é a mesma entre animais machos e fêmeas na glândula parótida, submandibular e sublingual, embora o fenômeno seja nitidamente superior na parótida. Importante é o fato dos ductos intercalares e os ácinos da parótida apresentarem um índice de incorporação semelhante (fig. 51). Porém, para a glândula submandibular dos animais machos a síntese protéica é predominante (exceto após 30 minutos) nos ácinos, quando comparados com os ductos intercalares ou estriados modificados. Esta mesma interpretação não pode ser aplicada para as fêmeas, pois somente após 1,30 horas a incorporação nos ácinos foi significativamente maior do que nos ductos acima referidos.

Interessante resultado pode também ser verificado nos ácinos das três glândulas estudadas. Na parótida, a maior incorporação de leucina-H<sup>3</sup> ocorreu 1,30 horas após a injeção, enquanto o mesmo fato se verificou, respectivamente, após 3,00 e 7,00 horas para as glândulas submandibular (fig. 52) e sublingual (fig. 53).

Por outro lado, em todos os tipos de ductos a maior incorporação do isótopo sempre foi obtida 1,30 horas após sua administração.

TABELA 11

MÉDIAS E RESPECTIVOS DESVIOS PADRÃO DA INCORPORAÇÃO DE LEUCINA- $H^3$  EM DIVERSOS TEMPOS (0,30, 1,30, 3,00 E 7,00 HORAS) NAS GLÂNDULAS SALIVARES MAIORES DE HAMSTERS ADULTOS DE AMBOS OS SEXOS.

GLÂNDULAS	GRUPO ESTRUTURA	MACHO				FÊMEA				PROBABILIDADE (p)												
		0,30(a)	1,30(b)	3,00(c)	7,00(d)	0,30(e)	1,30(f)	3,00(g)	7,00(h)	axe	bx f	cx g	dx h	ASxDI (a)	ASxDI (b)	ASxDI (c)	ASxDI (d)	ASxDI (e)	ASxDI (f)	ASxDI (g)	ASxDI (g)	
PARÓTIDA	AS	±44,12 ±19,26	±47,67 ±12,05	±38,60 ±2,03	±19,27 ±2,51	±37,45 ±19,44	±44,67 ±2,08	±32,65 ±4,60	±17,42 ±0,10	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	S
	DI	±27,10 ±8,34	±46,12 ±7,59	±32,47 ±0,10	±16,50 ±1,49	±31,27 ±10,92	±37,97 ±3,07	±32,27 ±8,73	±15,94 ±0,10	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	S
	DE	±5,42 ±1,87	±13,25 ±1,77	±10,15 ±1,48	±9,05 ±0,14	±7,22 ±0,17	±10,62 ±0,39	±7,57 ±1,24	±6,60 ±1,55	ns	ns	ns	ns									
SUBMANDIBULAR	AM	±10,01 ±3,00	±21,25 ±0,00	±21,96 ±0,55	±18,74 ±2,85	±11,64 ±5,42	±18,14 ±2,07	±21,88 ±12,90	±17,66 ±8,19	ns	ns	ns	ns	ns	S	S	S	ns	S	ns	ns	ns
	DI	±7,04 ±0,66	±11,33 ±0,32	±7,93 ±0,41	±7,26 ±0,15	±6,90 ±1,24	±10,29 ±1,01	±6,78 ±5,64	±6,02 ±1,01	ns	ns	ns	ns									
	DEM	±3,62 ±1,29	±12,88 ±0,53	±9,18 ±1,66	±6,49 ±0,26	±6,15 ±1,62	±10,72 ±1,20	±9,33 ±5,59	±5,93 ±1,70	ns	ns	ns	ns	ASx DEM (a)ns	ASx DEM (b)S	ASx DEM (c)S	ASx DEM (d)S	ASx DEM (e)ns	ASx DEM (f)S	ASx DEM (g)ns	ASx DEM (h)ns	
	DE	±7,45 ±1,27	±12,55 ±1,06	±10,45 ±0,43	±9,32 ±0,10	±8,10 ±2,19	±9,82 ±1,02	±9,22 ±2,51	±6,92 ±1,80	ns	ns	ns	ns									
SUBLINGUAL	AM	±10,72 ±0,88	±14,47 ±0,74	±14,40 ±6,29	±18,72 ±3,85	±10,75 ±4,38	±13,20 ±3,11	±15,95 ±2,62	±16,82 ±3,92	ns	ns	ns	ns									
	DE	±7,60 ±0,42	±14,60 ±0,99	±9,32 ±0,95	±9,60 ±1,20	±9,95 ±1,12	±11,27 ±5,55	±7,50 ±2,76	±6,67 ±1,59	ns	ns	ns	ns									

GRÁFICO 2  
PARÓTIDAS DE HAMSTERS ADULTOS

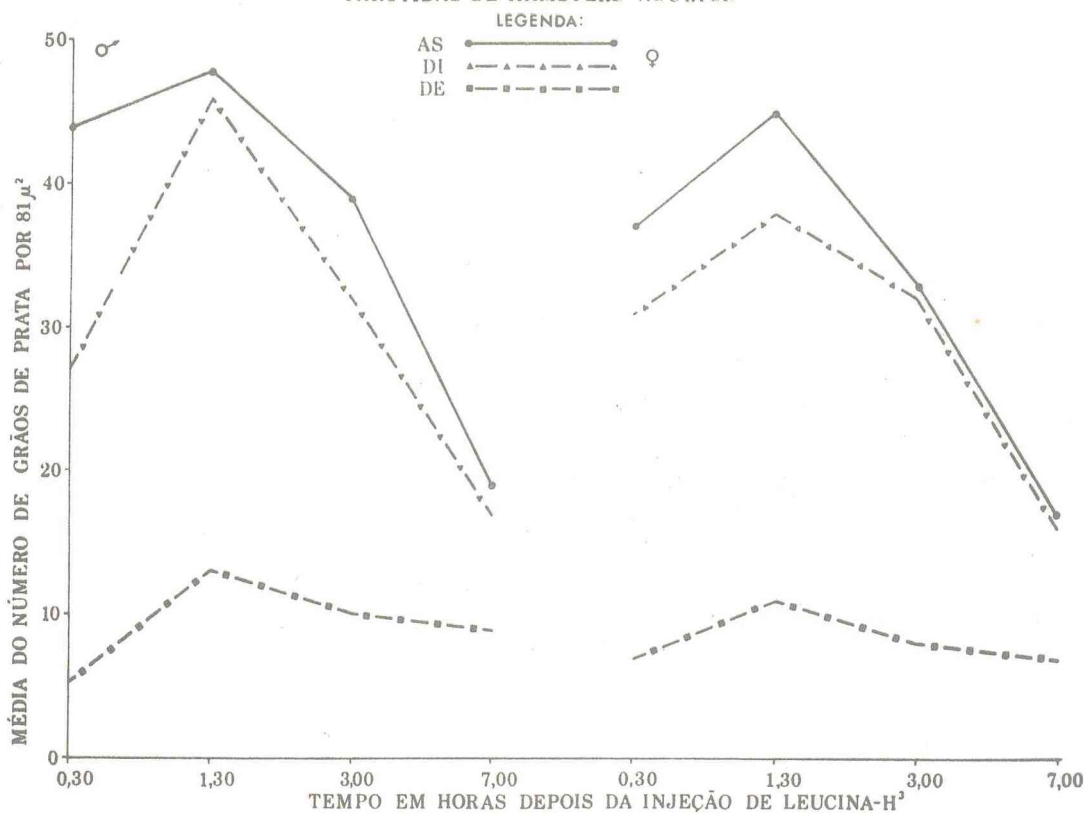
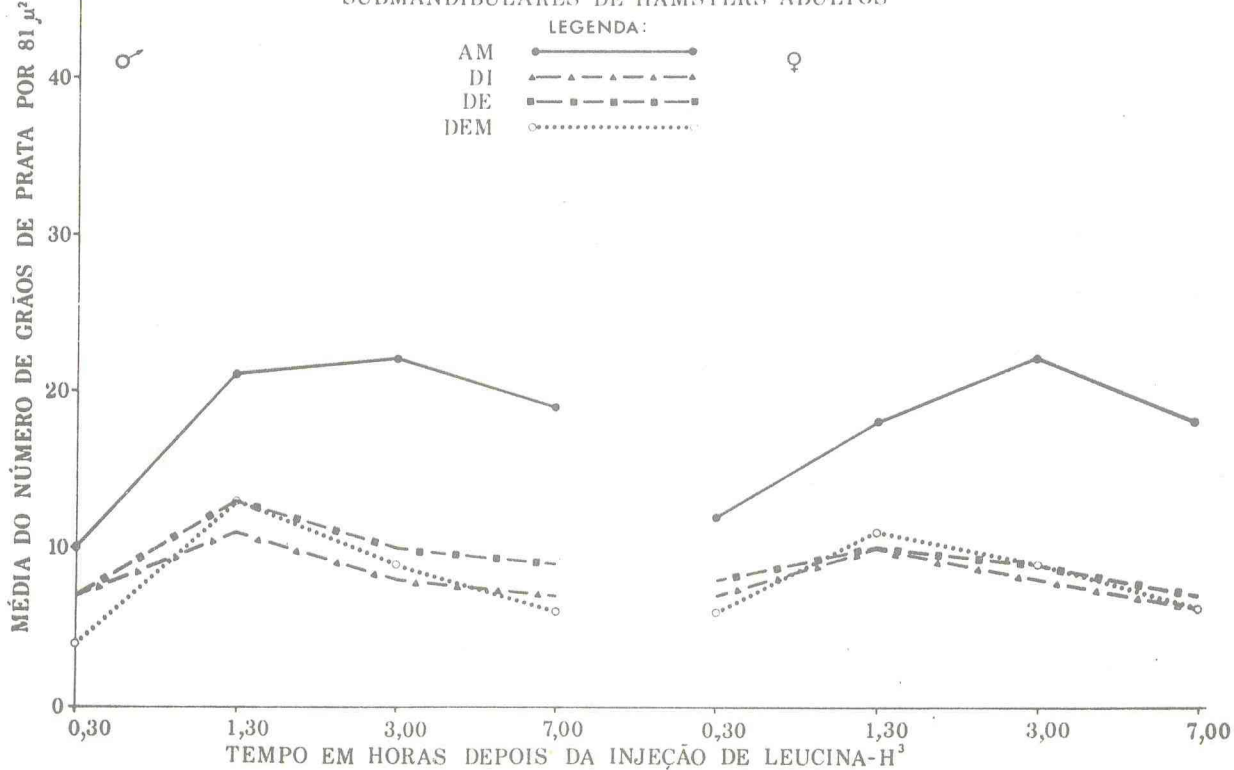
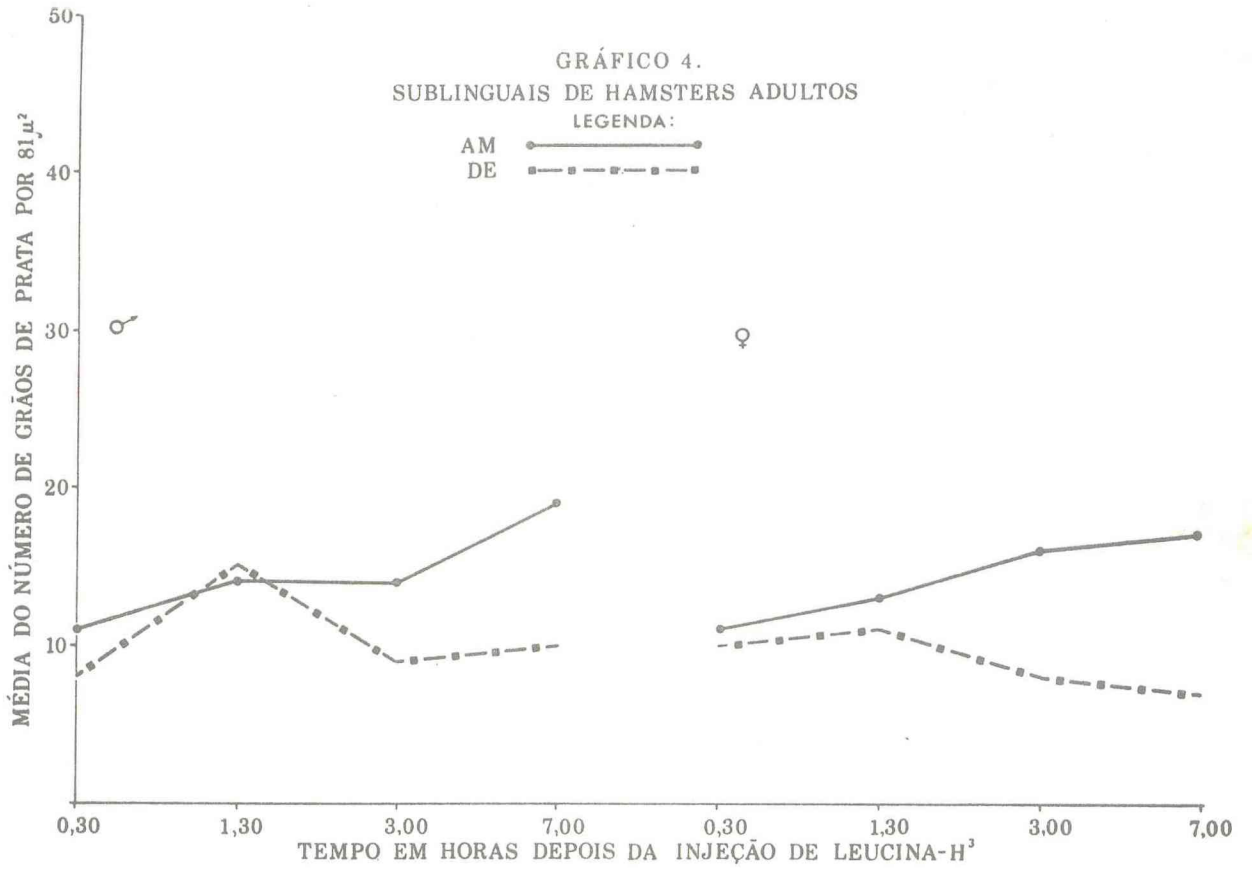


GRÁFICO 3.  
SUBMANDIBULARES DE HAMSTERS ADULTOS





#### 4.5.2 - Sulfato de sódio-S<sup>35</sup>

Os resultados das contagens dos radioautogramas acham-se agrupados na tabela 12. Para facilitar a comparação entre os dados contidos na referida tabela, foram ainda elaborados os gráficos 5, 6 e 7.

Os resultados sobre a incorporação de sulfato inorgânico radiativo contidos na tabela 12 e distribuídos nos gráficos 5, 6 e 7 demonstram que todas as glândulas salivares estudadas estão envolvidas na síntese de mucosubstâncias sulfatadas.

Para a glândula parótida não há diferença significativa entre sexos nos elementos dos adenômeros estudados. Contudo, há em ambos os sexos e em todos os tempos, uma grande significância na diferença de incorporação entre os ductos intercalares e os ácinos, com grande predominância dos primeiros (figs. 54, 55 e 56).

Na glândula submandibular as diferenças são significantes na incorporação do sulfato, na grande maioria dos tempos, entre os componentes do adenômero de animais machos e fêmeas, sempre com predomínio dos primeiros (figs. 58 e 60). Por outro lado, em ambos os sexos e em todos os tempos, há significativa diferença na incorporação de ácinos e ductos intercalares, mas ao contrário da parótida, são os ácinos que apresentam os maiores valores.

Para a glândula sublingual, onde os ácinos mucosos apresentam maior incorporação em relação aos ductos estriados (fig. 62), não há diferenças significantes entre animais de sexos diferentes:

A análise global sobre a incorporação de sulfato de sódio radioativo evidencia que nas três glândulas, tanto o sistema de ácinos como de ductos, apresentaram o mesmo tipo de curva com o maior índice de incorporação ocorrendo 4,00 horas após a injeção (figs: 54, 55, 56, 57, 58, 59, 61, 62 e 63).



TABELA 12

DIAS E RESPECTIVOS DESVIOS PADRÃO DA INCORPORAÇÃO DE SULFATO-<sup>35</sup>S EM DIVERSOS TEMPOS (0, 30, 4, 00 E 24, 00 HORA NAS GLÂNDULAS SALIVARES MAIORES DE HAMSTER ADULTOS DE AMBOS OS SEXOS.

ÂN C S	GRUPO ESTRUTURA	M A C H O			F Ê M E A			P R O B A B I L I D A D E (p)								
		0, 30 (a)	4, 00 (b)	24, 00 (c)	0, 30 (d)	4, 00 (e)	24, 00 (f)	a x d	b x e	c x f	ASxDI (a)	ASxDI (b)	ASxDI (c)	ASxDI (d)	ASxDI (e)	ASxDI (f)
FA C U A	AS	+ 5,37 ± 1,73	+ 14,02 ± 1,52	+ 1,87 ± 0,17	+ 4,17 ± 1,73	+ 10,90 ± 1,48	+ 1,37 ± 0,32	ns	ns	ns	S	S	S	S	S	S
	DI	+ 54,32 ± 6,32	+ 61,90 ± 0,99	+ 6,82 ± 1,09	+ 36,87 ± 4,35	+ 57,42 ± 0,10	+ 5,90 ± 0,85	ns	S	ns						
	DE	+ 2,35 ± 0,99	+ 5,90 ± 1,13	+ 1,35 ± 0,22	+ 1,42 ± 0,60	+ 8,27 ± 2,65	+ 1,27 ± 0,46	ns	ns	ns						
S U B M A N D I B U L A R	AM	+ 55,27 ± 1,52	+ 62,52 ± 2,36	+ 18,43 ± 0,88	+ 7,88 ± 1,31	+ 27,77 ± 3,50	+ 4,80 ± 0,85	S	S	S	S	S	S	S	S	NS
	DI	+ 21,37 ± 3,00	+ 29,57 ± 0,00	+ 3,65 ± 0,14	+ 2,42 ± 0,10	+ 9,92 ± 0,32	+ 1,67 ± 0,82	S	S	ns						
	DEM	+ 15,20 ± 2,82	+ 25,95 ± 1,34	+ 4,20 ± 3,18	+ 2,27 ± 1,10	+ 10,70 ± 4,45	+ 1,37 ± 0,60	S	S	ns						
	DE	+ 12,77 ± 1,30	+ 28,37 ± 0,60	+ 4,07 ± 0,24	+ 1,87 ± 1,87	+ 7,40 ± 2,41	+ 1,30 ± 0,28	S	S	S						
S U B L I N G U A L	AM	+ 37,97 ± 10,50	+ 58,02 ± 13,19	+ 8,42 ± 0,95	+ 20,05 ± 4,10	+ 23,32 ± 1,94	+ 8,82 ± 0,67	ns	ns	ns						
	DE	+ 10,52 ± 5,26	+ 24,67 ± 3,07	+ 3,32 ± 1,80	+ 4,17 ± 0,95	+ 9,17 ± 0,60	+ 2,20 ± 0,35	ns	S	ns						

GRÁFICO 5.  
PARÓTIDAS DE HAMSTERS ADULTOS

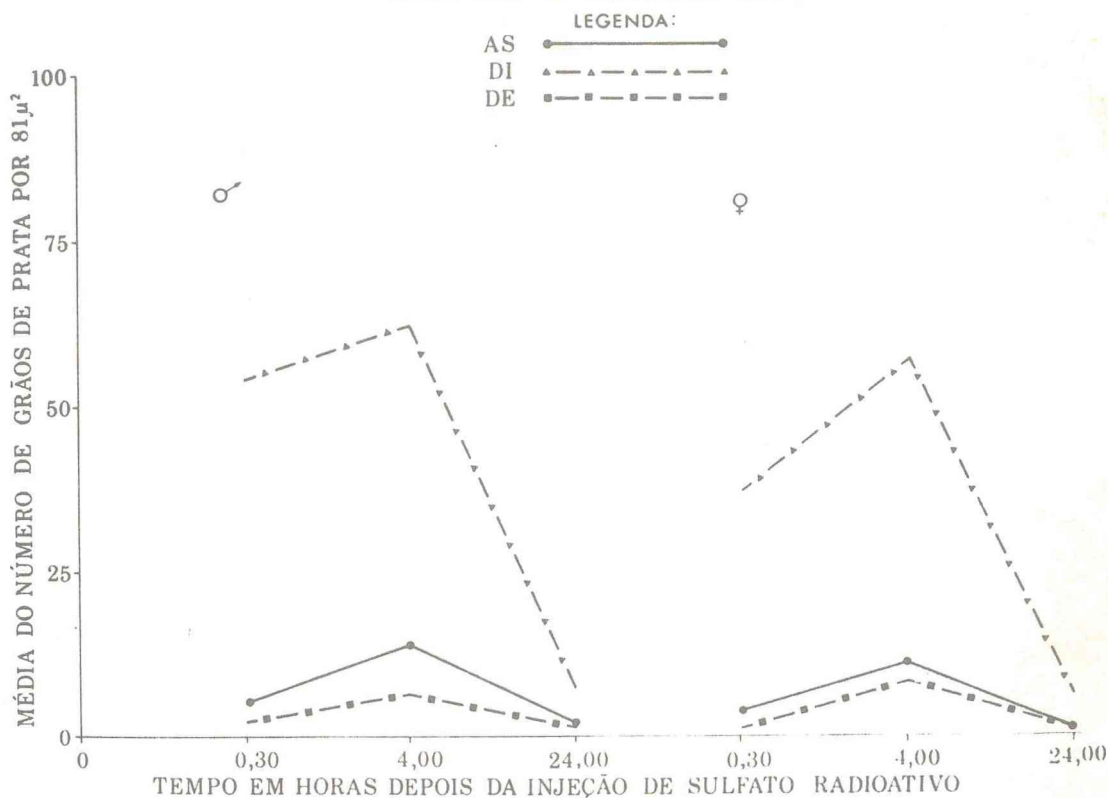


GRÁFICO 6.  
SUBMANDIBULARES DE HAMSTERS ADULTOS

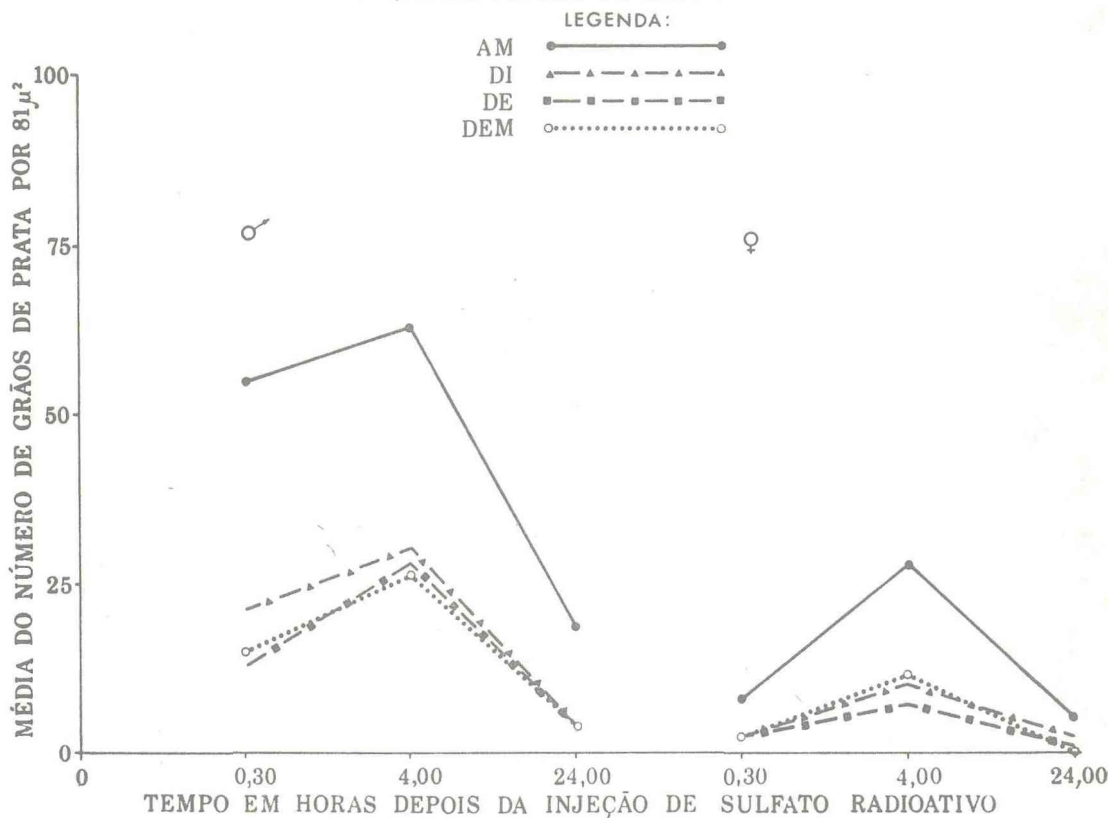
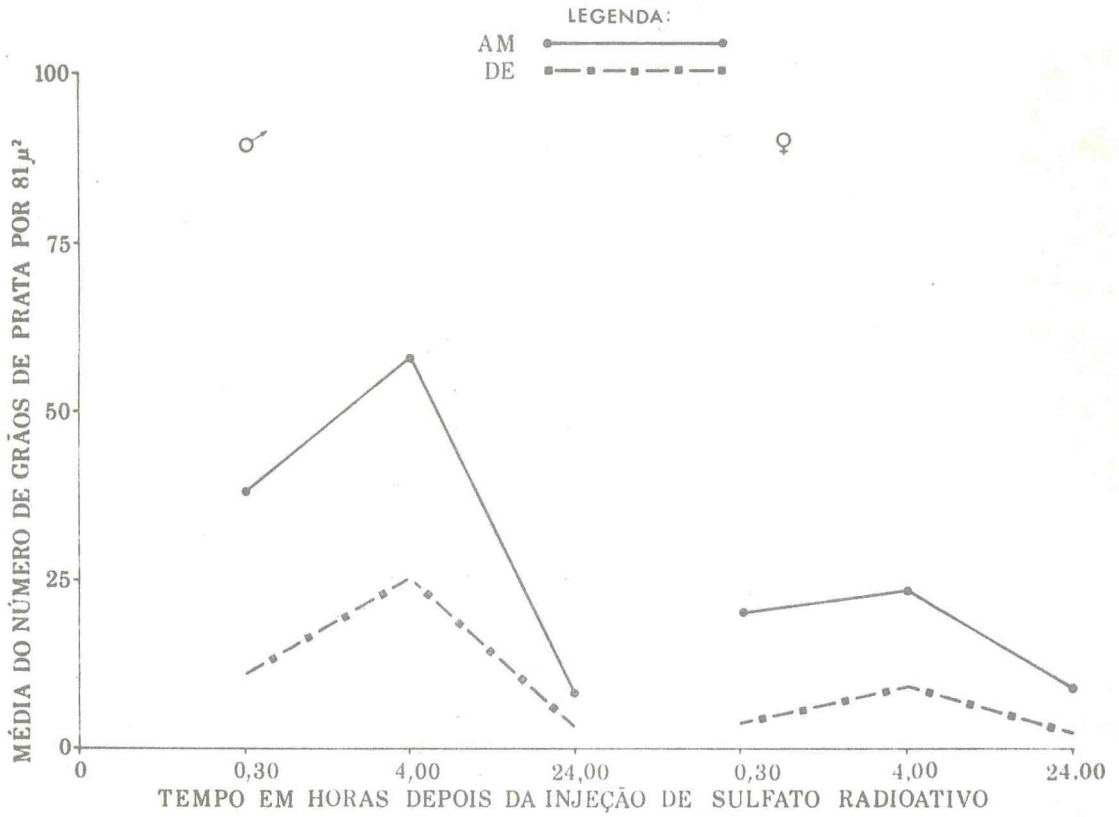


GRÁFICO 7.  
SUBLINGUAIS DE HAMSTERS ADULTOS



#### 4.6 - Bioquímicos

Os resultados quantitativos relativos aos ácidos nucleicos (RNA - DNA), ácido siálico, hexosaminas, proteína total, DNase e lisozima estão agrupados na tabela 13.

A concentração do RNA é significativamente maior nos animais adultos e não há variação entre sexos em qualquer época para as glândulas parótida e sublingual, havendo além disso na submandibular também predomínio nos machos adultos.

O DNA apresenta praticamente o mesmo comportamento do RNA nas glândulas submandibular e sublingual. Para a parótida os animais adultos apresentaram valores maiores que os jovens, bem como os animais fêmeas predominam sobre os machos. Porém a relação RNA-DNA que precisa melhor a interpretação para os ácidos nucleicos, notadamente o RNA, demonstra semelhança na parótida e sublingual entre sexos e idades diferentes ocorrendo diferença significativa na glândula submandibular entre animais adultos e jovens de ambos os sexos.

A concentração do ácido siálico na glândula parótida é maior nos hamsters adultos em relação aos jovens, não havendo diferença entre sexos. Para a glândula submandibular a única diferença significativa ocorre entre machos e fêmeas adultas com maior concentração nas últimas. Na glândula sublingual nenhuma diferença significativa foi obtida, quer entre sexos ou idades diferentes.

A concentração das hexosaminas na glândula parótida não varia entre sexos. Porém, há evidências significantes de que nos dois sexos os animais adultos apresentam valores inferiores aos jovens. Esta interpretação é integralmente válida para as três glândulas salivares estudadas.

A concentração protéica total não apresenta variações entre sexos sendo contudo, sempre significativamente maior em todas as glândulas salivares dos animais adultos.

Resultado semelhante é válido para a DNase no que se refere à glândula parótida, salientando-se que a atividade desta

enzima esteve abaixo da sensibilidade do método utilizado na glândula submandibular.

No presente trabalho, nem na parótida e nem na submandibular, foi evidenciada atividade para a lisozima.

Os resultados sobre a atividade específica das enzimas digestivas amilase e protease, bem como da enzima respiratória succino desidrogenase estão apresentados na tabela 14.

A atividade proteolítica, embora predominante na glândula parótida em relação à submandibular, foi semelhante em cada glândula quando correlacionados os sexos e as idades entre si.

Praticamente o mesmo resultado foi observado para a succino desidrogenase, exceto que na submandibular a sua atividade específica é maior nos animais adultos em relação aos jovens do mesmo sexo.

A atividade específica da amilase é significantemente maior na parótida dos hamsters adultos em comparação aos jovens. Por outro lado, embora não haja diferença entre jovens de sexos diferentes, na fase adulta o animal macho apresentou maior atividade. Para a glândula submandibular nenhuma diferença significativa foi observada entre as quatro variáveis, sendo salientado porém que sua atividade amilolítica é bem inferior à da glândula parótida.

TABELA 13

MÉDIAS E RESPECTIVOS DESVIOS PADRÃO DA CONCENTRAÇÃO DOS ÁCIDOS NUCLÉICOS E SIÁLICO, HEXOSAMINAS, PROTEÍNA TOTAL, LISOZIMA E ATIVIDADES ENZIMÁTICA DA DESOXIRIBONUCLEASE NAS GLÂNDULAS SALIVARES, PARÓTIDA (P), SUBMANDIBULAR (SM) E SUBLINGUAL (SL) DE HAMSTERS JOVENS E ADULTOS DE AMBOS OS SEXOS.

SANGUE/AVUCU	HAMSTER	JOVENS ♂			JOVENS ♀			ADULTOS ♂			ADULTOS ♀			PROBABILIDADES (p)		
	GLÂNDULAS	P	SM	SL	P	SM	SL	P	SM	SL	P	SM	SL	P	SM	SL
	GRUPOS	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	L	M			
RNA (mg/g)	7,27 ± 1,98	6,68 ± 0,96	3,13 ± 0,52	3,35 ± 0,67	6,71 ± 1,06	3,74 ± 0,73	20,39 ± 3,44	23,15 ± 3,33	5,46 ± 1,62	24,48 ± 2,57	18,55 ± 1,18	6,85 ± 1,63	AxDns GxJns AxGs DxJs	BxEms HxLs BxHs ExLs	CxFns IxMns CxIs FxMs	
DNA (mg/g)	3,72 ± 0,77	5,99 ± 1,10	2,68 ± 0,70	4,40 ± 0,50	5,57 ± 0,49	3,24 ± 0,74	7,44 ± 1,45	12,29 ± 0,81	4,28 ± 0,57	9,44 ± 1,26	9,79 ± 0,75	± 2,25 ± 1,18	AxDns GxJns AxGs DxJs	BxEms HxLs BxHs ExLs	CxFns IxMns CxIs FxMs	
RNA/DNA (mg/g)	2,09 ± 0,91	1,13 ± 0,16	1,23 ± 0,39	2,14 ± 0,45	1,21 ± 0,19	1,17 ± 0,13	2,77 ± 0,35	1,88 ± 0,21	1,34 ± 0,64	2,63 ± 0,45	1,90 ± 0,05	1,68 ± 0,49	AxDns GxJns AxGs DxJs	BxEms HxLns BxHs ExLs	CxFns IxMns CxIns FxMns	
Ácido Siálico (mg/100g)	178,19 ± 12,41	985,11 ± 105,15	1.753,29 ± 67,35	146,38 ± 26,06	933,17 ± 180,73	1.603,88 ± 162,91	318,47 ± 12,05	275,28 ± 79,24	2.115,42 ± 430,53	331,66 ± 63,70	1.032,17 ± 115,16	2.052,72 ± 415,73	AxDns GxJns AxGs DxJs	BxEms HxLs BxHns ExLns	CxFns IxMns CxIns FxMns	
Hexosaminas (mg/100g)	189,10 ± 52,40	244,10 ± 17,50	521,00 ± 113,70	193,60 ± 12,30	299,60 ± 35,00	557,00 ± 123,30	150,40 ± 30,20	128,00 ± 49,10	344,40 ± 24,60	117,90 ± 20,70	132,70 ± 19,30	318,20 ± 27,90	AxDns GxJns AxGs DxJs	BxEms HxLns BxHs ExLs	CxFns IxMns CxIs FxMs	
Proteína Total (mg/g)	33,44 ± 8,72	48,02 ± 6,57	22,20 ± 5,00	40,60 ± 7,41	43,69 ± 7,23	22,84 ± 5,34	55,93 ± 8,53	62,82 ± 9,57	35,19 ± 13,76	64,31 ± 10,74	55,79 ± 5,07	27,50 ± 13,12	AxDns GxJns AxGs DxJs	BxEms HxLns BxHs ExLs	CxFns IxMns CxIs FxMs	
DNase (Uk/g)	479,35 ± 243,65	-	*	439,41 ± 74,71	-	*	1.263,20 ± 135,05	-	*	1.323,60 ± 76,47	-	*	AxDns GxJns AxGs DxJs			
Lisozima (mg/g)	-	-	*	-	-	*	-	-	*	-	-	*				

- ABAIXO DA SENSIBILIDADE DO MÉTODO

\* NÃO DOSADO

TABELA 14

MÉDIAS E RESPECTIVOS DESVIOS PADRÃO DA ATIVIDADE ESPECÍFICA (U/mg DE PROTEÍNA) DA SUCCINO DESIDROGENASE, AMILASE E PROTEASE NAS GLÂNDULAS SALIVARES PARÓTIDA (P) E SUBMANDIBULAR (SM) DE HAMSTERS JOVENS E ADULTOS DE AMBOS OS SEXOS

D O S A G E N S	HAMSTERS	JOVENS ♂		JOVENS ♀		ADULTOS ♂		ADULTOS ♀		PROBABILIDADE (p)	
	GLÂNDULAS	P	SM	P	SM	P	SM	P	SM	P	SM
	GRUPOS	A	B	C	D	E	F	G	H		
SUCCINO DESI DROGENASE		0,0251 ± 0,0087	0,0228 ± 0,0037	0,0196 ± 0,0036	0,0206 ± 0,0023	0,0284 ± 0,0052	0,0296 ± 0,0045	0,0248 ± 0,0067	0,0279 ± 0,0064	AxC ns ExG ns AxE ns CxG ns	BxD ns FxH ns BxF S DxH S
AMILASE		0,2796 ± 0,0470	0,1738 ± 0,0270	0,2576 ± 0,0710	0,1500 ± 0,0470	0,8082 ± 0,1170	0,2033 ± 0,0600	0,4484 ± 0,1510	0,1656 ± 0,0490	AxC ns ExG S AxE S CxG S	BxD ns FxH ns BxF ns DxH ns
PROTEASE		0,0289 ± 0,0118	0,0154 ± 0,0106	0,0223 ± 0,0074	0,0120 ± 0,0017	0,0203 ± 0,0062	0,0145 ± 0,0000	0,0181 ± 0,0008	0,0125 ± 0,0035	AxC ns ExG ns AxE ns CxG ns	BxD ns FxH ns BxF ns DxH ns

## 5. D I S C U S S Ã O

O peso corporal dos hamsters adultos (90 a 100 dias de vida) é significativamente maior do que o dos hamsters jovens (25 a 30 dias de vida), sem que ocorra diferenças entre sexos.

O peso absoluto das glândulas salivares maiores, parótida, submandibular e sublingual, também foi sempre significativamente maior para os animais adultos em comparação aos jovens, havendo variação entre sexos apenas entre parótida de animais jovens a favor das fêmeas. Considerando a localização topográfica desta glândula e notadamente nos animais jovens quando se apresenta ainda mais difusa, é provável que esta diferença seja devido a variáveis técnicas durante a dissecação.

O peso corporal e o peso absoluto da submandibular tendo sido 2,5 vezes maior nos animais adultos em relação aos jovens, é resultado absolutamente coincidente com os de Sreebny, Meyer, Machem e Weinmann (1955) para o rato. Os dois roedores apresentam pois, a mesma curva de crescimento para as estruturas citadas.

Ainda importante são os dados que refletem a participação do peso para cada uma das glândulas, no peso corporal do animal, ou seja, o seu peso relativo.

Para a glândula sublingual e submandibular, a sua relação com a massa corporal é praticamente semelhante após 25 dias de idade do animal e para qualquer dos sexos.

Exatamente o contrário ocorre com a parótida, onde o peso glandular relativo é sempre significativamente diferente quer se compare adultos e jovens (com predomínio dos primeiros) ou machos e fêmeas (com predomínio das últimas).

Estes resultados demonstram que, apesar do aumento nos pesos corporais e glandulares absolutos, a sublingual e a submandibular apresentam a partir dos 25 dias a mesma proporção entre massa glandular e corporal da existente do animal adulto, o que na parótida difere com os sexos e idades diferentes.



O peso relativo da submandibular é 2,5 vezes maior que o da submandibular do rato (Perec, Houssay, Peronace e Harfin, 1965) mas é inferior ao da submandibular do camundongo (Bauer, 1972), e o da sublingual é 3 vezes superior ao da sublingual do rato (Perec e col. 1965).

Embora entre hamsters e ratos adultos os pesos glandulares absolutos sejam semelhantes, a diferença no peso glandular relativo é devido exclusivamente ao fato do peso corporal do rato ser superior.

Entretanto, considerando as glândulas salivares maiores do hamster, a submandibular e a sublingual são, respectivamente, as que apresentam a maior e menor massa glandular em relação ao peso corporal.

Os resultados histológicos em microscopia óptica (cortes em parafina) para as três glândulas salivares do hamster são basicamente concordantes com os da literatura, notadamente quanto ao enfoque em relação às características particulares dos ductos intercalares. Certas comparações podem ser realizadas.

Quanto à parótida e submandibular, embora a grande maioria dos autores as descrevam estruturalmente como serosas puras, este trabalho confirma a presença de ácinos mucosos conforme os dados de Chauncey e Kronman (1964) e Fava de Moraes (1969). Tanto na parótida como na submandibular, embora em pequena proporção, sua presença é frequente e sugere que não seja somente devido a uma contaminação virótica (citomegalia) como foi sugerido por Chauncey e Kronman (1964).

Para a sublingual também observou-se sua estrutura mista, caracterizada pelas semi-luas serosas associadas aos ácinos mucosos, o que discorda de Boerner-Patzelt (1956) que a denominou mucosa pura, mas confirma outros autores.

A caracterização de um dimorfismo sexual na estrutura das glândulas salivares, notadamente no submandibular de roedores, não foi visualizada no hamster, o que confirma as observações de Devi e Jacoby (1962b). Neste aspecto, um resultado diferen

cial foi obtido por Musil e Kittel (1968) no comportamento da submandibular de hamsters em hibernação.

Importante, a nosso ver, foi a confirmação de que para o hamster de qualquer sexo, a submandibular entre 25 a 30 dias já apresenta os mesmos componentes estruturais presentes na glândula do adulto (Devi e Jacoby, 1966). Este quadro reflete uma precocidade na diferenciação dos ductos estriados modificados quando comparado com a submandibular do rato (Alvares, 1972) mas uma semelhança com a do camundongo (Gabe, 1956). Entre os animais jovens, apesar dos ductos estriados modificados apresentarem estrutura semelhante aos presentes na glândula submandibular adulta, é evidente o seu maior número nesta última fase.

A sublingual também já possui sua estrutura definida aos 25-30 dias, coincidindo na sua diferenciação com a de outros roedores como por exemplo o rato (Leeson e Booth, 1961).

Da mesma forma, a semelhança da glândula parótida aos 25-30 dias com a do animal adulto, concorda com os trabalhos de Gabe (1956) para o camundongo e Villa (1968) para o rato.

Os resultados estruturais da observação em microscopia óptica dos cortes em araldite foram praticamente os mesmos daqueles já descritos para os preparados em parafina. Porém, a resolução sendo melhor, possibilita a observação mais detalhada.

Em todas as glândulas salivares, e principalmente na parótida, os ductos intercalares destacam-se em relação aos demais componentes do adenômero, pois possui forte basofilia ergastoplasmática e grande concentração de grânulos de secreção. Nos ductos estriados torna-se relevante a possibilidade de distinguir-se dois tipos de células, claras e escuras, fato que não é evidente nos cortes em parafina.

Na glândula submandibular destaca-se a possibilidade de se diferenciar facilmente vacúolos e grânulos de secreção nos ácinos mucosos.

Na glândula sublingual a forma, tamanho e aspectos de coalescência dos vacúolos secretores são evidentes. Da mesma forma, a estrutura das células das semi-luas serosas apresentam bem discriminados os territórios da basofilia ergastoplasmática e dos grânulos de secreção.

Saliente-se que as glândulas salivares do hamster não foram estudadas anteriormente nestas condições, havendo apenas uma documentação por parte de Shackelford e Wilborn (1968) para os ácinos mucosos da glândula sublingual, que coincide com os nossos resultados.

A existência de dois tipos de células nos ductos e triados das glândulas salivares maiores do hamster demonstra um resultado semelhante ao já descrito para os ductos excretores da submandibular do rato (Tamarin e Sreebny, 1965).

Obviamente com a microscopia eletrônica os aspectos estruturais das glândulas salivares puderam ser muito melhor observados.

As células acinosas da glândula parótida apresentam todas as características típicas relacionadas com a síntese protéica exportável. A diversidade da ultra-estrutura dos grânulos de secreção foi sempre constante. Contudo, um aspecto comum a todos os grânulos é o fato de que apresentam sempre duas zonas de eletrondensidade diferentes que se interrelacionam de seis maneiras diferentes.

O polimorfismo dos grânulos de secreção em glândulas salivares tem sido descrito e correlacionado com diferentes aspectos histofuncionais (idade da glândula, atividade secretora, ação de fármacos, etc.) por vários autores (citações em Alvares, 1972) sendo necessários ainda outros estudos para consolidar uma relação direta entre a forma do grânulo e a causa que a determina.

A frequência em que estas seis formas aparecem nas células acinosas da parótida não é a mesma para todos os tipos de grânulos, sendo os grânulos de tipos 1, 3 e 4 os mais constantes, enquanto os dos tipos 2, 5 e 6 são mais raros. Destaca-se que embora fatores tais como fixação, incidência de corte no grânulo, etc. se

jam ponderáveis, os nossos resultados foram reproduzíveis nos casos estudados. Por outro lado, a caracterização das duas zonas com diferentes eletrondensidade nos grânulos têm sido correlacionada com a composição química dos mesmos. A zona mais eletrondensa identificando a parte protéica e a zona menos eletrondensa, a parte glicídica (Luzzato, Procicchiani e Rosati, 1968).

O mesmo aspecto de duas zonas no grânulo de secreção nas células acinosas da parótida do hamster também já foi referido para os dois tipos de grânulos presentes na parótida do rato (Rutberg, 1961).

As células acinosas da submandibular apresentam características de síntese protéica exportável e de mucinas, com maiores evidências em relação a estas últimas substâncias, o que concorda com Flon (1973). Embora os grânulos de secreção apresentem diversidade estrutural, apenas dois tipos foram constantes nos casos estudados e sempre apresentando as duas zonas de eletrondensidade diferentes. O mesmo resultado foi obtido para os grânulos da submandibular de hamster fêmea por Dorey e Bhoola (1972a), tendo estes autores caracterizado um dimorfismo sexual em relação aos grânulos de secreção dos animais machos que apresentam três zonas de eletrondensidade diferentes. Este resultado não foi confirmado no presente trabalho.

A ultra-estrutura e organização molecular das diversas partes componentes de um grânulo de secreção, entre glândulas de uma mesma espécie animal ou entre diferentes espécies animais, foi considerada ainda por Dorey e Bhoola (1972a) como sendo de maior relevância para a compreensão das funções secretoras das células acinosas.

Na glândula sublingual as células acinosas apresentam características ultra-estruturais típicas de células mucosas, com forme padrões gerais já descritos para glândulas salivares mucosas de outras espécies (Shackleford e Wilborn, 1968). Seus grânulos de secreção caracterizam-se pela uniformidade na baixa eletrondensidade, pela evidente forma filamentosa do seu conteúdo e frequente

coalescência intracitoplasmática. Esta coalescência dos grânulos de secreção é característica em células mucosas (Kim, Nasjleti e Han, 1972) e parece estar associada a propriedades especiais da superfície externa de suas membranas, ou a interações destas membranas com íons cálcio (Dorey e Bhoola, 1972a). As células componentes das semi-luas se caracterizam por nítida vinculação à síntese protéica e frequentemente seus grânulos, embora de um único tipo, também são constituídos pelas duas zonas de eletrondensidade diferentes.

De modo geral, todas as células acinosas nas três glândulas apresentam microvilos na zona apical, que são mais frequentes na parótida e mais raros na sublingual. Estas estruturas têm sido correlacionadas com prováveis funções de reabsorção por Tamarin e Sreebny (1965) pelo menos para a glândula submandibular do rato.

Nos ductos intercalares pode-se identificar ultra-estruturalmente dois tipos de células, claras e escuras, que em geral são semelhantes nos demais aspectos. Estas células apresentam nítido arranjo citoplasmático para intensa síntese protéica de exportação, principalmente quando na glândula parótida.

Não estaria afastada a possibilidade de um tipo celular representar célula do próprio ducto intercalares e o outro uma célula remanescente do túbulo terminal (Alvares, 1972); ou ainda, um só tipo celular em diferentes estágios de secreção.

As características tipicamente secretoras destes ductos intercalares nas glândulas salivares do hamster são muito mais evidentes do que as descritas para estas mesmas estruturas na grande maioria dos outros animais (Shakleford e Wilborn, 1968).

O significado funcional desta especialização por parte dos ductos intercalares não pode ser no momento esclarecido pois, notadamente na glândula salivar do rato, seu papel tem sido apenas correlacionado com a condução da saliva primária, ausência de atividade secretora, ou como fonte proliferativa de outros componentes do adenômero (Tamarin e Sreebny, 1965).

Para as três glândulas estudadas, os ductos estriados também apresentam ultra-estrutura celular semelhante, sendo identificáveis os dois tipos de células, claras e escuras. Não foi possível estabelecer se estas variedades celulares representam estágios funcionais de um mesmo tipo ou se são células independentes.

É peculiar, na região basal da célula o excepcional número de invaginações da membrana e a grande concentração de mitocôndrias. Alguns grânulos de reabsorção e curtos microvilos são vistos na região apical. A ultra-estrutura destas células não é compatível com atividade de síntese protéica de exportação e, sim, com evidentes mecanismos de transporte de íons e água. Esta afirmativa é concordante com inúmeras outras já descritas para ductos estriados de outras espécies animais (Tandler, 1963 e Shackleford e Wilborn, 1968).

A denominação de grânulos de reabsorção também visualizados por Shackleford e Schneyer (1964) para os localizados no ápice destas células, está baseada nas características estruturais da célula e principalmente no fato de que no rato (Tamarin e Sreebny, 1965) não são extruídos após estimulação pela pilocarpina (Rutberg, 1961). Estudos histofuncionais devem ser realizados para confirmar ou não esta interpretação para as glândulas salivares do hamster.

Na glândula submandibular a ultra-estrutura das células dos ductos estriados modificados apresentam, no terço basal, características semelhantes às dos ductos estriados, embora menos pronunciadas.

Por outro lado, apesar da existência de microvilos apicais, o restante do citoplasma apresenta estrutura particular. Estas células são caracterizadas por um retículo endoplasmático granular e Golgi pouco desenvolvidos e por extensa concentração de um tipo de grânulo de secreção de forma muito variada.

A presença de um único tipo de grânulo de secreção também foi relatado por Dorey e Bhoola (1972b) e Flon (1973), embora esta última autora tenha descrito dois tipos celulares que não foram por nós confirmados.

A capacidade de síntese protéica de exportação nesta estrutura é muito discutida devido ao pouco desenvolvimento do retículo endoplasmático granular que as células possuem. Porém vários experimentos tem demonstrado que estes grânulos, pelo menos na maioria, são extruídos e resintetizados na própria célula. Funcionalmente entre os roedores estas estruturas parecem ser responsáveis pela secreção de protease e de inúmeros fatores já identificados na saliva da glândula submandibular (citações em Bauer, 1972). Para o hamster, praticamente inexistem pesquisas que demonstrem ser os ductos estriados modificados secretores das mesmas substâncias, embora neste trabalho suas características estruturais sejam semelhantes às descritas para o camundongo (Caramia, 1966) e mais simples que para o rato (Tamarin e Sreebny, 1965).

Além das características estruturais dos componentes do adenômero das várias glândulas, os resultados histométricos possibilitam alguns comentários.

Considerando que entre animais de sexo e idades diferentes, a proporção acinosa é semelhante para cada tipo de glândula estudada, pode-se sugerir que no hamster os ácinos já estão histometricamente definidos aos 25-30 dias de idade. Embora esta afirmativa seja feita em bases histológicas, somente dados complementares podem estabelecer se isto também seria válido para o ponto de vista funcional.

Nos ductos intercalares, na glândula parótida, é evidente sua maior diferenciação entre os animais adultos quando comparados com os jovens. Este resultado oferece possibilidades interessantes, pois seria desejável estabelecer quais os fatores que determinam este quadro que obviamente interfere nas funções desempenhadas por estes ductos.

O mesmo fenômeno ocorre na glândula submandibular em relação aos ductos estriados modificados. Em outros roedores, principalmente no camundongo, estas estruturas são histometricamente mais evidentes nos animais machos. Para o hamster não obtivemos resultado que pudesse estabelecer um dimorfismo sexual,

o que confirma os resultados prévios de Devi e Jacoby (1966) e Fava de Moraes (1969). Por outro lado, deve-se salientar que, embora menos numerosos, a presença dos ductos estriados modificados entre animais jovens foi uma constante. Admitindo-se que quase sempre sua diferenciação ocorre na puberdade dos animais, provavelmente entre 25-30 dias de vida, este fenômeno já esteja ocorrendo nos hamsters. Conforme já referido (pág. 61) este fato é semelhante ao obtido com o camundongo e mais precoce do que para o rato.

Para a glândula sublingual, histometricamente o dado mais importante é a maior proporção das semi-luas nas glândulas dos animais adultos em relação aos jovens, o que pode significar uma especialização mais demorada a se estabelecer em relação às células mucosas.

Todos os dados histométricos possibilitam, em síntese, admitir que não há dimorfismo sexual nas três glândulas estudadas, e que o maior predomínio dos ductos intercalares na parótida, dos ductos estriados modificados na submandibular e das semi-luas na sublingual, nos animais adultos, são os resultados mais importantes visando possíveis correlações funcionais.

Os resultados para as glândulas salivares dos animais adultos concordam, de modo geral, com os de Fava de Moraes (1969) embora este autor não apresente dados relativos aos ductos intercalares. Os dados obtidos para a submandibular são, por outro lado, muito coincidentes com os da submandibular do rato apresentados por Tamarin e Sreebny (1965).

A histoquímica dos polissacarídeos demonstrou que quase todos os componentes dos adenômeros das três glândulas apresentam positividade para polissacarídeos neutros e ácidos. Fizeram exceção as semi-luas da sublingual que apresentaram apenas o tipo neutro, e os ductos estriados e excretorios que foram sempre negativos. Tais afirmativas concordam, de modo geral, com os trabalhos de Fava de Moraes (1965), Munhoz (1967) e, para a submandibular, com os de Devi e Jacoby (1966). A presença de polissacarídeos ácidos nas semi-luas da sublingual descrita por Munhoz (1967) não foi confirmada.



A reatividade para radicais ácidos pode ser caracterizada como devida à presença do ácido siálico e de polissacarídeos ácidos sulfatados. Ambas as substâncias estão associadas nos ácinos das três glândulas, enquanto nos ductos intercalares da parótida os resultados parecem excluir a presença do ácido siálico. Contudo, não está totalmente afastada a possibilidade do ácido siálico destas estruturas terem sido resistentes à hidrólise ácida nas condições utilizadas (Fava de Moraes, 1965).

A existência de polissacarídeos sulfatados nas glândulas salivares do hamster foi descrita por Bélanger (1954 e 1963), Graumann (1964) e Fava de Moraes (1965) na sublingual; e por Stoward (1967) e Sorvari e Stoward (1970) nos ácinos da submandibular. Admitida a especificidade da reação da benzidina, podemos caracterizar a presença destas substâncias também nos ácinos e ductos intercalares da glândula parótida. Munhoz (1967) não obteve positividade para tais substâncias nas glândulas salivares deste roedor.

A positividade para polissacarídeos sulfatados nas salivares do hamster, parece constituir-se numa particularidade quando comparada à outros roedores onde elas parecem inexistir (Spicer, 1962; Quintarelli, 1963 e Fava de Moraes, 1969).

A presença de glicogênio nos ácinos e ductos estriados modificados da submandibular, ácinos e semi-luas da sublingual e ductos intercalares da parótida não é coincidente com dados da literatura, pois Fava de Moraes (1965) e Munhoz (1967) não detectaram tal substância. Kronman, Donnell e Chauncey (1968) relatam sua presença nos ácinos da sublingual e Graumann (1964) descreveu sua presença nos ductos estriados da submandibular de animais com 15 dias de idade.

A comprovação do glicogênio nas estruturas citadas provavelmente está relacionada com o jejum prévio ao sacrifício dos animais e à fixação específica que foi realizada. Contudo, os resultados diferem dos obtidos em outros animais onde os ductos estriados parecem ser as estruturas que apresentam maior concentração deste polissacarídeo (Fava de Moraes, Giuffrida e Junqueira, 1967).

A histoquímica dos polissacarídeos ácidos possibilitou, com a reação do alcian blue, evidenciar que na submandibular os ácinos das fêmeas adultas e jovens são mais positivos que nos machos correspondentes. Este resultado confirma o de Shackelford e Klapper (1962a) e Musil e Kittel (1968) que descreveram tal dimorfismo entre animais adultos. Por outro lado, Flon e Gerstner (1968) não obtiveram esta diferença histoquímica e Kronman e Chauncey (1965) a admitem apenas nos ácinos da parótida, o que não foi observado. Evidências de dimorfismo sexual com predomínio para o hamster macho pareceu ocorrer nos ácinos da glândula sublingual.

Através da reação do AB + PAS pode-se, em síntese, admitir que os radicais ácidos predominam nos ácinos da sublingual, submandibular das fêmeas e parótida dos machos jovens, enquanto os radicais neutros predominam nos ductos intercalares de todas as glândulas e nos ductos estriados modificados da submandibular.

A histoquímica de proteínas e aminoácidos demonstrou que a glândula parótida apresenta positividade para os radicais amino e aminoácidos estudados, em todos os componentes do parênquima, embora mais evidentemente nos ductos intercalares.

Para os radicais amino, tirosina, triptofano e arginina, os resultados são concordantes com Fava de Moraes (1969) e Munhoz (1967) embora, nos ductos estriados, este autor só tenha resultados positivos para tirosina. Kronman e Chauncey (1965) embora tenham descrito nos ácinos de parótida resultados positivos para tirosina, obtiveram resultados negativos para triptofano. Os resultados para cisteína e cistina concordam com os trabalhos de Kawakatsu, Deguchi, Oka e Takita (1962) para as glândulas parótida, submandibular e sublingual e discorda dos de Munhoz (1967) que só obteve positividade nos ductos intercalares de parótida.

Porém todos os trabalhos, inclusive o presente, identificam os ductos intercalares como as estruturas que apresentam a maior concentração de proteínas identificáveis histoquimicamente.

Para a glândula submandibular são os ductos estriados modificados e, em menor escala os ductos intercalares, as es

truturas mais positivas para todos os aminoácidos pesquisados. Os ácidos desta glândula só foram positivos para radicais amino e aminoácidos básicos. Estes dados são concordantes com os de Munhoz (1967), exceto que este autor obteve positividade nos ácidos para tirosina e reação negativa para arginina nos ductos estriados modificados. São concordantes ainda com os de Kawakatsu e col. (1962) para cisteína e cistina.

A possibilidade do dimorfismo sexual, devido às reações mais intensas para tirosina e triptofano nos ductos intercalares e ductos estriados modificados da submandibular de hamsters machos em relação às fêmeas descrito por Kronman (1963a) e Kronman e Chauncey (1965) não foi confirmado neste trabalho.

A glândula sublingual demonstrou ser negativa a todos os métodos utilizados ao nível dos ácidos mucosos. Porém, foram sempre positivos os resultados para as semi-luas serosas para todas as substâncias estudadas, demonstrando ser as estruturas mais evidentes na histoquímica de proteínas.

Os resultados para esta glândula concordam praticamente com os de Fava de Moraes (1969), Munhoz (1967), Kawakatsu e col. (1962) e Kronman e Chauncey (1965), mas discordam dos de Kronman e col. (1968) que descreveram positividade nos ácidos mucosos para tirosina, triptofano e cisteína.

Em síntese, as reações para proteínas e aminoácidos identificam os ácidos e ductos intercalares da parótida, os ductos intercalares e estriados modificados da submandibular e as semi-luas da sublingual como os componentes mais vinculados à síntese e/ou acúmulo de proteínas nas glândulas salivares do hamster.

A citofotometria da basofilia ergastoplasmática das células acinosas das glândulas salivares do hamster, demonstra que a glândula parótida, notadamente nos animais adultos, apresenta a maior concentração.

Os ácidos da submandibular e da sublingual apresentaram praticamente os mesmos valores, o que favorece a interpretação de que os ácidos da submandibular são mais mucosos. Porém

nesta glândula, embora a basofilia esteja definida já entre animais jovens, há um dimorfismo sexual com predomínio para hamsters machos.

Deve ainda ser salientado que a basofilia ergastoplasmática foi sempre despresível no sistema de ductos, exceto nos intercalares da parótida, o que concorda, para a submandibular com os trabalhos de Devi e Jacoby (1966) e Tiber (1971).

Comparando os resultados histoquímicos para proteína e a concentração da basofilia ergastoplasmática, exceto para os ductos estriados modificados da submandibular, obteve-se uma correlação direta que reflete, segundo Vandrelly (1964), diretamente a participação da estrutura na síntese protéica.

A histoquímica de enzimas foi positiva nos componentes dos adenômeros das três glândulas para o málico e lacto e succino desidrogenases, alfa-glican-fosforilase, fosfatase ácida e monoamino oxidase (exceto nos ácinos mucosos da sublingual). Resultados negativos para adenosino trifosfatases, fosfatase alcalina e peroxidases foram obtidos.

O sistema de ductos foi sempre o mais positivo para a alfa-glican-fosforilase e para as três desidrogenases citadas. O resultado para succino desidrogenase na submandibular concorda com os obtidos por Shapiro, Wattenberg e Gorlin (1966) e Shapiro (1967). Estes dados confirmam o conceito geral de que os ductos apresentam maior concentração de mitocôndrias e predomínio de metabolismo aeróbico (Schneider e Pearson, 1960).

Por outro lado, concordam ainda com Yoshimura, Kawano, Kuroi, Morishita, Mori e Kawakatsu (1970) quanto a málico e lacto desidrogenases, tendo ainda estes autores estabelecido por zimograma a presença de isoenzimas não discriminadas histoquimicamente.

Estudando bioquimicamente as glândulas salivares do hamster a atividade da lacto desidrogenase, enzima envolvida no metabolismo carboidrático, Nicolau, Lansac, Rosa, Pedroso e Leal (1974), demonstraram valores semelhantes na parótida e sublingual,

com predomínio na submandibular. Nas glândulas salivares do hamster esta enzima foi sempre mais ativa do que nas do camundongo, cobaia e rato, a não ser neste animal onde a sublingual teve maior atividade específica. Esta grande atividade no hamster é importante, pois para a submandibular do rato já foi demonstrado que 90% dos produtos finais da glicólise é representada por ácido láctico (Goldman, Rosales, Villavicencio e Guerra, 1964).

Nicolau e col. (1974) estudaram ainda outras enzimas envolvidas no metabolismo carboidrático tais como piruvato-quinase, hexoquinase e aldolase, cujas atividades foram sempre significantes nas glândulas salivares do hamster.

O resultado negativo para peroxidases está provavelmente relacionado com a metodologia empregada. Recentemente, Bloom, Carlsöö e Kumlien (1970) e Carlsöö, Kumlien e Bloom (1971), usando fixação com glutaraldeído e diferentes pH, demonstraram positividade para esta enzima ao nível de todo o parênquima da glândula submandibular.

A presença do alfa-glican-fosforilase, cuja função é de degradar o glicogênio, concorda com os resultados histoquímicos para este polissacarídeo ao nível de várias estruturas, mas o mesmo não ocorreu em relação aos ductos estriados. Porém, a atividade desta enzima nestes ductos é indicativa de que eles estão envolvidos no mecanismo de glicogenólise.

Os nossos resultados para fosfatase ácida foram mais evidentes na glândula parótida e semelhante entre as glândulas submandibular e sublingual. Para estas duas últimas glândulas nos achados não confirmam o dimorfismo sexual a favor dos animais mais fêmeas descrito por Kronman (1963 b) nos componentes da glândula a partir de duas semanas de idade do animal.

O monoamino oxidases é enzima de grande importância no metabolismo das monoaminas, notadamente onde ocorrem terminações nervosas simpáticas, como é o caso das glândulas salivares.

Porém, Almgren, Andén, Jonason, Norberg e Olson (1966) demonstraram para a submandibular e sublingual do rato que

a atividade da monoamina oxidase é praticamente inalterada com denervação simpática e que sua localização principal está nas células dos ácinos e ductos. Os nossos resultados para o hamster foram os mesmos, exceto que os ácinos mucosos da sublingual apresentaram resultados negativos.

O significado funcional desta distribuição intracelular da monoamina oxidase nas células do parênquima salivar, segundo os autores acima citados, ainda não está perfeitamente esclarecido.

Os resultados positivos para fosfatase alcalina nas células mioepiteliais da submandibular concordam com os já obtidos por Devi e Jacoby (1966) e Jacoby e Rees (1969).

O resultado negativo para a fosfatase alcalina nas glândulas parótida e sublingual não significa ausência de células mioepiteliais. Conforme resultados de Garrett e Harrison (1970) estas células podem ser negativas para esta enzima e serem positivas para a ATPase. Aliás, com o microscópio eletrônico foi documentado e referido um maior número destas células na sublingual enquanto os resultados para a fosfatase alcalina foram negativos.

O estudo histoquímico da atividade das enzimas do parênquima glandular é, segundo Ohlin (1966), indispensável para a interpretação da atividade metabólica relacionada com a capacidade secretora que possuem.

Com as reações indicativas utilizadas, todos os componentes do parênquima das três glândulas salivares evidenciam presença de lípidos em geral.

A detecção de fosfolípidos foi positiva nos ácinos da parótida, submandibular e sublingual, como ainda nos ductos intercalares da parótida, estriados modificados da submandibular e semi-luas da sublingual.

Estes resultados concordam com Devi e Jacoby (1966) apenas no que refere a presença de lípidos em geral nos ductos estriados modificados da submandibular.

Metabolismo lipídico e presença de lipase na glândula submandibular do rato foi recentemente demonstrada por Pritchard (1970) e Pritchard Yamada e Cushmie (1971). Estes autores chamam a atenção para que, sendo mínima a atividade lipásica da saliva, sua presença na glândula não estaria envolvida no processo de salivação e sim num ativo metabolismo lipídico do parênquima.

O estudo da síntese protéica utilizando-se leucina- $H^3$  baseou-se no fato deste aminoácido ser um dos mais constantes nas moléculas de proteínas em geral (Cantarow e Schepartz, 1967).

Os resultados demonstram que a intensidade da síntese protéica é predominante na parótida, seguindo-se a submandibular e a sublingual, o que concorda plenamente com os resultados citofotométricos da concentração da basofilia citoplasmática, histoquímica de proteínas e dados estruturais.

Enquanto na submandibular e sublingual, o fenômeno ocorre predominantemente nos ácinos em relação aos ductos, na glândula parótida, os ácinos e os ductos intercalares apresentaram praticamente o mesmo índice de síntese protéica. A participação dos ductos intercalares da parótida demonstrou ser bastante relevante, fato que, segundo nosso conhecimento, ainda não foi descrito na literatura.

Deve-se salientar que, apesar dos ductos estriados modificados da submandibular apresentarem estrutural e histoquimicamente grande concentração de grânulos de secreção, a incorporação de leucina- $H^3$  não foi significativamente diferente daquela apresentada pelos ductos estriados das três glândulas salivares. Este resultado contradiz a interpretação de Tiber (1971) e concorda plenamente com a pequena quantidade de retículo endoplasmático granular que foi observado neste trabalho e também no de Shackelford e Schneyer (1964).

Importante porém, foi a possibilidade de se estabelecer que a cinética da secreção protéica variou marcadamente entre as três glândulas. Assim, a maior incorporação foi obtida na glândula parótida a 1,30 horas após a injeção do isótopo, ocorrendo

o mesmo somente após 3,00 horas na submandibular e após 7,00 horas na sublingual. Neste último tempo é evidente a diminuição do isótopo na parótida, tendo apenas se iniciado a incorporação na submandibular.

A análise dos radioautogramas demonstrou ainda que nos ácinos, ductos intercalares e ductos estriados modificados há nítida migração da radioatividade em direção apical como já descrito para muitas células secretoras, o mesmo não ocorrendo com a radioatividade dos ductos estriados, sugerindo aqui síntese de proteínas sedentárias e não de exportação.

Estes dados são fundamentais para a interpretação sobre a capacidade de síntese e secreção protéica nos componentes do parênquima entre as três glândulas salivares do hamster.

A incorporação de sulfato de sódio-S<sup>35</sup> é considerada por Dziewiatkowski (1958) como um dado específico na identificação da síntese de mucosubstâncias sulfatadas, pois não estaria vinculada à síntese de compostos de outra natureza química que contenham enxofre.

Sendo verdadeira tal premissa, todo o parênquima salivar das três glândulas está envolvido na síntese acima referida. A predominância na incorporação pelos ductos intercalares da parótida e ácinos da submandibular e sublingual, demonstra que estas estruturas são as mais envolvidas em cada uma das glândulas.

Considerando que na glândula parótida a síntese protéica nos ductos intercalares foi semelhante à dos ácinos, e que, na síntese das mucosubstâncias são mais ativos, estes ductos demonstram possuir histofisiologia de importância fundamental.

O índice de incorporação, ao contrário da síntese protéica, mostrou-se sempre maior 4,00 horas após a injeção do isótopo e a cinética da secreção foi do mesmo tipo nas três glândulas estudadas.

A maior incorporação do sulfato-S<sup>35</sup> na glândula submandibular dos animais machos em relação às fêmeas é ao contrário do obtido com a histoquímica para mucosubstâncias ácidas em



geral, fato que não pode ser explicado no momento. Entretanto, uma possibilidade seria a dos animais machos produzirem mais sulfomucinas e as fêmeas mais sialomucinas, fato já admitido por Spicer e Duvenci (1964) em relação às células mucosas da sublingual. Para esta glândula os nossos resultados sugeriram esta diferença, mas eles não foram estatisticamente significantes na contagem dos radioautogramas, apesar de ter sido detectável histoquimicamente.

O sistema de ductos das glândulas, exceto os intercalares da parótida, sempre apresentou incorporação moderada e, excluindo os ductos estriados modificados da submandibular, também não deve refletir síntese de mucosubstâncias sulfatadas exportáveis.

O fato dos ductos estriados e excretores incorporarem sulfato radioativo e terem sido negativos aos métodos histoquímicos para mucosubstâncias sulfatadas reflete, além da maior sensibilidade da radioautografia, que estas estruturas apresentam muito menor concentração destas substâncias.

Por comparação pode ser ainda concluído que a cinética da secreção das mucosubstâncias é mais lenta do que a da síntese de proteínas já descrita.

Deve ainda ser salientado que a participação da síntese de mucosubstâncias pelas três glândulas salivares do hamster, notadamente quanto à contribuição da parótida e da submandibular, colocam este roedor com maior destaque em relação a outros roedores, como por exemplo o rato e camundongo.

Também de particular interesse é o fato de que a síntese de mucosubstâncias sulfatadas é pouco comum, quando em glândulas salivares de roedores, embora seja quase uma constante entre carnívoros e primatas (Shackleford, 1963 e Leppi, Spicer, Henson e Fioravanti (1967).

A incorporação do sulfato- $S^{35}$  nos ácinos da sublingual, submandibular e ductos intercalares da parótida concorda com Spicer e Duvenci (1964), bem como com Bélanger (1954) para o ácino da sublingual.

Na interpretação destes resultados não podem ser desprezados entretanto, os achados de Pritchard (1967) que descreveu a incorporação de sulfato- $S^{35}$  inorgânico em sulfolipídeos pela submandibular do rato.

A quantidade do RNA e do DNA demonstrou que as glândulas salivares dos animais adultos possuem sempre maior concentração do que nos animais jovens.

Contudo, a análise da relação RNA/DNA indica que não há diferenças para as glândulas parótida e sublingual entre sexos e idades diferentes. Porém esta relação demonstra que a glândula submandibular dos animais adultos continua significativamente maior do que nos jovens.

Estes resultados indicam que houve aumento da população celular nas glândulas dos animais adultos, e que devido a maior relação RNA/DNA nesta fase apenas para a submandibular, fica demonstrado que provavelmente nesta glândula a síntese proteica é mais eficiente, quando comparada com a dos animais jovens.

A concentração do ácido siálico apresentou maiores valores entre os animais adultos, quando considerada a glândula parótida. Na submandibular foi significante entre animais adultos a maior concentração das fêmeas em relação aos machos, confirmando plenamente a histoquímica para polissacarídeos ácidos em geral. Por outro lado, corrobora a interpretação de que o predomínio na incorporação de sulfato- $S^{35}$  pelos animais machos seja devido às mucosubstâncias ácidas sulfatadas, enquanto os resultados histoquímicos estão mais relacionados ao ácido siálico. Aliás, bioquimicamente a maior concentração do ácido siálico na submandibular de hamster fêmea já foi relatada por Shackelford e Klapper (1962b).

A glândula sublingual demonstrou já aos 25-30 dias possuir a mesma concentração de ácido siálico obtida nos animais adultos. Esta glândula apresenta a maior concentração de ácido siálico seguida da submandibular e da parótida, confirmando o trabalho de Fava de Moraes e Nicolau (1965).

Quanto às hexosaminas, que refletem um maior contingente de substâncias carboidráticas, parece que as glândulas dos animais jovens apresentam maior concentração que a dos adultos. Este resultado coincide com a idéia geral de que durante a maturação das glândulas salivares as suas secreções são mais ricas em carboidratos do que em proteínas nas fases mais jovens, notadamente quando consideradas as glândulas parótida e submandibular (Junqueira e Fava de Moraes, 1965).

Favorece esta interpretação o fato de que, para as três glândulas salivares, a concentração de proteínas totais sempre foi maior entre animais adultos.

No que se refere ao estudo da atividade de enzimas presentes nas glândulas alguns comentários podem ser realizados.

A atividade específica da succino desidrogenase, enzima alostérica envolvida no ciclo do ácido tricarboxílico de Krebs, mostrou ser a mesma entre sexos e idades diferentes, exceto na submandibular em que os hamsters adultos predominaram em relação aos jovens.

Sendo uma enzima indicadora da atividade metabólica em geral, o resultado obtido demonstra que já aos 25-30 dias de vida as glândulas salivares do hamster apresentam comportamento semelhante às dos animais adultos, notadamente quando considerados os ductos estriados, estriados modificados e excretores, onde a enzima apresenta maior reatividade histoquímica.

O fato da atividade na submandibular dos hamsters adultos ser superior à dos jovens, muito provavelmente está relacionada com o maior número de ductos estriados modificados.

A lisozima, embora não caracterizada como enzima digestiva e mesmo como não tendo síntese na própria glândula salivar, não foi demonstrada neste trabalho, embora Junqueira e Fava de Moraes (1965) e Fava de Moraes (1969) tenham obtido resultados positivos na glândula parótida. Esta glândula também foi a única que demonstrou atividade para a DNase, enzima esta que está presente também nos grânulos de secreção caracterizando-se como en

zima digestiva, confirmando resultados de Sreebny e col. (1967) e Fava de Moraes (1969).

A atividade proteolítica mostrou-se já definida entre animais jovens quando em relação aos adultos e sem dimorfismo sexual. Contudo, tanto entre animais jovens como adultos, a atividade proteolítica foi sempre maior na glândula parótida do que na submandibular, o que confirma os resultados de Schackelford e Klapper (1962 c). Sabendo-se que no rato e camundongo esta enzima está nos ductos estriados modificados da submandibular e com muito maior atividade do que na parótida, torna-se importante o resultado acima referido.

Considerando ainda o alto índice de especialização e a nítida característica secretora observada ao nível dos ductos intercalares da parótida, é desejável que se estabeleça no futuro se estes ductos são os responsáveis pela grande atividade proteolítica desta glândula no hamster.

De forma mais significativa, a glândula parótida apresenta maior atividade amilolítica do que a glândula submandibular. Nos animais adultos os machos apresentaram maior atividade do que nas fêmeas. A maior eficiência enzimática na parótida dos animais adultos está provavelmente relacionada com o nítido aumento dos grânulos de secreção que foi observado na análise estrutural da glândula, em relação à dos hamsters jovens.

A maior atividade da amilase na glândula parótida também já foi relatada por Schackelford e Schneyer (1964) e Fava de Moraes (1969), tendo este último autor referido que a atividade na parótida do hamster é maior do que no camundongo, mas inferior à do rato.

A localização da amilase tem sido admitida estar presente nos ácinos ou nos ductos estriados modificados de roedores que possuem esta última estrutura. No hamster, Smith e Frommer (1973) apresentaram recentemente evidências de que, em ambos os sexos, a amilase na submandibular está presente exclusivamente nos ductos estriados modificados.

## 6. RESUMO E CONCLUSÕES

O peso corporal e o peso glandular absoluto da parótida, submandibular e sublingual são 2,5 vezes maior nos hamsters adultos (90-100 dias) do que nos jovens (25-30 dias). O peso glandular relativo da submandibular e sublingual já está definido entre os animais jovens enquanto, para a parótida, é maior entre os adultos e também para as fêmeas, quando comparadas aos machos.

Considerando a variada metodologia empregada nesta tese, é apresentada em seguida a seguinte sinopse:

### ESTRUTURA

A parótida, submandibular e sublingual são glândulas mistas com predomínio seroso na primeira e mucoso nas demais.

O parênquima destas glândulas não apresentam dimorfismo sexual e já está definido nos hamsters com 25-30 dias de idade.

Histometricamente apenas os ductos intercalares da parótida, os ductos estriados modificados da submandibular e as semi-luas serosas da sublingual apresentam maiores proporções nos animais adultos.

A ultra-estrutura dos ácinos da parótida demonstra grande capacidade de síntese de proteínas exportáveis, ocorrendo grande polimorfismo nos grânulos de secreção.

Nos ácinos da submandibular o polimorfismo dos grânulos de secreção é menor e há evidências de síntese de mucinas.

Os ácinos mucosos da sublingual têm ultra-estrutura típica de células mucosas e as semi-luas de células secretoras de proteínas.

As células dos ductos intercalares, principalmente na parótida, apresentam estrutura típica de síntese de proteínas

exportáveis e grânulos de um só tipo com grande uniformidade. Os ductos estriados modificados da submandibular, embora com grande concentração de grânulos polimórficos, possuem discreta maquinaria de síntese protéica exportável.

Os ductos estriados nas três glândulas têm ultra-estrutura compatível com ativo transporte de íons e de água.

## HISTOQUÍMICA

Polissacarídeos: À exceção dos ductos estriados e excretores, os demais componentes do parênquima das três glândulas estão envolvidos na síntese de polissacarídeos neutros, e excluindo as semiluas da sublingual, também na de polissacarídeos ácidos.

Os dos tipos neutros são representados pelo glicogênio ou pelos polissacarídeos neutros propriamente ditos. O dos tipos ácidos representam uma associação de mucosubstâncias ácidas sulfatadas e de ácido siálico (exceto nos ductos intercalares da parótida).

Foi possível estabelecer nos animais adultos que os ácinos da submandibular e os da sublingual apresentam maior reatividade para os hamsters fêmeas e machos respectivamente.

Proteínas: A histoquímica de proteínas demonstrou que os ductos intercalares, os estriados modificados da submandibular e as semiluas da sublingual são as estruturas que mais sintetizam e/ou acumulam proteínas, considerando a forte positividade para radicais amino, arginina, lisina, histidina, tirosina, triptofano, cistina e cisteína.

Os ácinos da parótida foram moderadamente positivos enquanto os ácinos da sublingual negativos, e os da submandibular ocuparam posição intermediária, embora mais próximas da dos últimos citados.

Ácido ribonucléico (RNA): A citofotometria da basofilia ergastoplasmática demonstrou que sua concentração é maior nos animais adultos em relação aos jovens para a glândula parótida, sendo prati-

camente a mesma na submandibular e sublingual. Por outro lado, os ácidos da parótida de animais adultos são mais ricos do que os da submandibular e sublingual, semelhantes entre si.

Enzimas: Todos os parênquimas das três glândulas foram positivos para lacto, málico e succino desidrogenases, alfa-glican-fosforilase, fosfatase ácida e monoamino oxidase (exceto os ácidos mucosos da sublingual).

Com exceção da fosfatase ácida e monoamino oxidase as demais enzimas foram sempre mais positivas no sistema de ductos dos adenômeros.

A fosfatase alcalina foi positiva nas células mioepiteliais apenas na submandibular.

Lípides: Todos os componentes do adenômero das três glândulas contêm material lipídico.

Os fosfolípidos em especial, embora ausentes nos ductos estriados e excretores das três glândulas, foram positivos nos demais componentes, principalmente nos ácidos e ductos intercalares da parótida.

## RADIOAUTOGRAFIA

Incorporação de leucina- $H^3$ : Os ácidos da glândula parótida apresentaram nítido predomínio na incorporação do aminoácido quando comparado com os da submandibular e sublingual. O mesmo ocorreu com os ductos intercalares, sendo que na parótida estes ductos apresentaram resultados semelhantes aos dos ácidos.

A capacidade de síntese protéica e a cinética da secreção também foi maior e mais rápida na parótida, menor e mais lenta na sublingual e intermediária na submandibular.

A radioautografia evidenciou síntese de proteínas exportáveis nos ácidos, ductos intercalares e estriados modificados da submandibular, e síntese de proteínas sedentárias nos ductos estriados e excretores, considerando a migração ou não da radioatividade intracelular nos diferentes períodos após a injeção do isótopo.

Incorporação de sulfato de sódio-S<sup>35</sup>: A incorporação do isótopo e conseqüente síntese de sulfomucinas foi sempre predominante nos ácinos da sublingual e submandibular, e embora evidente nos ácinos da parótida foi ainda mais marcante nos ductos intercalares. Porém todos os componentes do parênquima das três glândulas estão envolvidos na síntese desta substância.

Nos ácinos da glândula sublingual e principalmente nos da submandibular há evidências de que nos animais machos ocorre maior síntese de sulfomucinas do que nas fêmeas.

A cinética da secreção mucosa demonstrou grande uniformidade nas três glândulas, porém é mais lenta do que a síntese protéica.

## BIOQUÍMICA

Bioquimicamente várias substâncias demonstraram estar em maior concentração ou possuir maior atividade nas glândulas dos animais adultos do que nos dos jovens. Isto ocorreu com: o ácido siálico, desoxiribonuclease e amilase na glândula parótida, e com a relação RNA/DNA e succino desidrogenase na submandibular.

A concentração de proteína total, RNA e DNA foi sempre maior nas três glândulas dos animais adultos que nas dos jovens, ocorrendo porém o inverso com as hexosaminas. Excluídas estas substâncias, as demais acima citadas que foram estudadas na sublingual não mostraram qualquer modificação.

As diferenças de concentração ou atividade, entre animais machos e fêmeas, foram consideradas relevantes apenas quando ocorrendo entre glândulas de animais adultos. Neste sentido, foi significativa apenas a maior atividade aminolítica da parótida dos animais machos e a maior concentração do ácido siálico na submandibular dos animais fêmeas.

Comparando os dados bioquímicos entre as três glândulas pode-se concluir que a parótida possui maior atividade para protease, amilase e DNase, do que a submandibular.



A parótida é semelhante à submandibular, e ambas predominam sobre a sublingual, no que se refere à concentração de RNA, DNA, proteína total e succino desidrogenase.

Por outro lado, a sublingual predominou sobre a submandibular e esta sobre a parótida na concentração do ácido siálico e das hexosaminas.

Deve ser finalmente salientado que, além das várias informações sobre o comportamento das glândulas salivares do hamster nos diversos setores pesquisados, o presente trabalho demonstra que os seus ductos intercalares, notadamente os da glândula parótida, apresentam uma especialização singular quando comparados aos existentes nas glândulas salivares da grande maioria de outras espécies animais.

## 7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ADAMS, C. W. M. - A stricter interpretation of the ferric ferricianide reaction with particular reference to the demonstration of protein-bound sulphhydryl and disulphide groups. J. Histochem. Cytochem., 4: 23-35, 1956.
- ALMGREN, O.; ANDÉN, N.-E.; JONASON, J.; NORBERG, K.-A. & OLSON, L. - Celular localization of moniamine oxidase in rat salivary glands. Acta physiol. scand., 67: 21-26, 1966.
- ALVARES, E. P. - Observações morfológicas e radioautográficas sobre citodiferenciação e proliferação celular na glândula submandibular do rato. São Paulo, 1972. [Tese de Doutorado. Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo]
- ANSON, M. L. - The estimation of pepsin, trypsin, papain and cathepsin with hemoglobin. J. gen. Physiol., 22: 79-89, 1938.
- ARVY, L. - "Histochemie des enzymes impliqués dans la digestion, dans la série animale". In: Graumann, W. & Neumann, K., ed. Handbuch der Histochemie. Stuttgart, Gustav Fischer, 1962. B. VII/2.
- BARKA, T. & ANDERSON, P. J. - Histochemistry: theory, practice and bibliography. 3rd ed. New York, Harper & Row, 1963.
- BAUER, J. A. - Contribuição para o estudo da hipertrofia compensatória da glândula submandibular remanescente do camundongo (Mus musculus) adulto macho, após sialoadenectomia unilateral. São Paulo, 1972. [Tese de Doutorado. Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo]
- BÉLANGER, L. F. - Autoradiographic visualization of  $S^{35}$  incorporation and turnover by the mucous glands of the gastrointestinal tract and other soft tissues of rat and hamster. Anat. Rec. 118: 755-771, 1954.
- BÉLANGER, L. F. - Comparisons between different histochemical and histophysical techniques as applied to mucus-secreting cells. Ann. N. Y. Acad. Sci., 106: 364-378, 1963.

- BENSLEY, R.R. & GERSH, I. - Studies on cell structure by the freezing drying method: II - The nature of the mitochondria in the hepatic cell of Amblystoma. Anat. Rec., 57: 217-233, 1953.
- BLOOM, G.D.; CARLSÖÖ, B. & KUMLIEN, A. - Cytochemical localization of peroxidase activity in the submandibular salivary gland of the hamster. Histochemie, 22: 294-301, 1970.
- BOAS, N.F. - Method for the determination of hexosamines in tissues. J. Biol. Chem., 204: 553-563, 1953.
- BOERNER-PATZEL, T.D. - Die Mundspeicheldrüsen des Goldhamsters. Anat. Anz., 102: 317-332, 1956.
- BRACCO, M. & CURTI, P.C. - Una nuova reazione istochimica per l'evidenziazione delle solfomucine. Biol. Lat., 6: 412-416, 1953.
- CANTAROW, A. & SCHEPARTZ, B. - Biochemistry. 4th ed. Philadelphia London, Saunders, 1967.
- CARAMIA, F. - Ultrastructure of mouse submaxillary gland. I. Sexual differences. J. Ultrast. Res., 16: 505-523, 1966.
- CARLSÖÖ, B.; KUMLIEN, A. & BLOOM, G.D. - A comparative histochemical study of peroxidase activity in the submandibular glands of five mammalian species including man. Histochemie, 26: 80-88, 1971.
- CHAUNCEY, H.H. & KRONMAN, J.H. Presence of "mucous alveoli" in the serous salivary glands of the golden hamster (Cricetus auratus). J. dent. Res., 43: 1252, 1964.
- CODE, D.F. - "Alimentary canal - salivary secretion". In: ——— Handbook of Physiology, Washington, American Physiological Society, 1967. V.2, section 6.
- DEITCH, A.D. & TERNER, J.Y. - Effect of acetylation on acid dye binding and the Sakaguchi reaction. J. Histochem. Cytochem., 13: 15-16, 1965.
- DEVI, N.S. & JACOBY, F. - The post-natal development of the submaxillary gland of the golden hamster. J. Anat., 97: 154, 1963.

- DEVI, N.S. & JACOBY, F. - The submaxillary gland of the golden hamster and its post-natal development. J. Anat., 100: 269-285, 1966.
- DOREY, G. & BHOOLA, K.D. - I. Ultrastructure of acinar cell granules in mammalian submaxillary glands. Z. Zellforsch., 126: 320-334, 1972 a.
- DOREY, G. & BHOOLA, K.D. - II. Ultrastructure of duct cell granules in mammalian submaxillary glands. Z. Zellforsch., 126: 335-347, 1972 b.
- DUNNIGAN, M.G. - The use of Nile blue sulphate in the histochemical identification of phospholipids. Stain Technol., 43: 249-256, 1968.
- DZIEWIATKOWSKI, D.D. - Autoradiographic studies with  $S^{35}$ -sulphate. Int. Rev. Cytol., 7: 159-193, 1958.
- EMMELIN, N. & ZOTTERMAN, Y. - Oral Physiology. Oxford, Pergamon, 1972.
- FAVA DE MORAES, F. - Alguns dados morfológicos, associados ao estudo histoquímico dos polissacarídeos em glândulas salivares de animais pertencentes às seguintes ordens: Marsupialia, Chiroptera, Primates, Edentata, Lagomorpha, Rodentia, Carnivora e Artiodactyla (Mammalia). Rev. Fac. Odont. S. Paulo, 3: 231-290, 1965.
- FAVA DE MORAES, F. - Contribuição para o estudo estrutural, histoquímico e bioquímico das glândulas salivares maiores de roedores pertencentes às sub-ordens: Hystricomorpha, Myomorpha e Sciuromorpha (Rodentia, Mammalia). São Paulo, 1969. [Tese de Docência Livre. Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo]
- FAVA DE MORAES, F.; GIUFFRIDA, R. & JUNQUEIRA, L.C.U. - Action of carbamylcholine on the striated ducts glycogen in mammalian salivary glands. Acta Histochem., 27: 1-8, 1967.
- FAVA DE MORAES, F. & NICOLAU, J. - Quantitative studies of sialic acids in salivary glands of laboratory animals. I. Correlation with histochemistry. Rev. brasil. Biol., 25: 395-400, 1965.

- FLON, H. - Fine structure of salivary gland secretory cells of the golden hamster. Mesocricetus auratus. Anat. Rec., 175: 320-321, 1973.
- FLON, H. & GERSTNER, R. - Salivary glands of the hamster. I. The submandibular gland: A histochemical study after preservation with various fixatives. Acta Histochem., 31: 234-253, 1968.
- FLORES-VEAS, G. - Contribution à l'étude de la glande salivaire des Rongeurs. Étude histologique et expérimentale chez le Rat albinos. Z. Mikrosk. Anat. Forsch., 71: 364-411, 1964.
- GABE, M. - Contribution à l'histogénèse des glandes salivaire chez la souris albinos. Zeit. Zellf., 45: 74-95, 1956.
- GARRETT, J.R. & HARRISON, J.D. - Alkaline-phosphatase and adenosine-triphosphatase histochemical reactions in the salivary glands of cat, dog and man, with particular reference to the myoepithelial cells. Histochemie, 24: 214-229, 1970.
- GLENNER, G.G.; BURTNER, H.J. & BROWN, G.W. - The histochemical demonstration of monoamine oxydase activity by tetrazolium salts. J. Histochem. Cytochem., 5: 591-600, 1957.
- GRAUMANN, W. - "Polysaccharide. Ergebnisse der polysaccharidhistochemie: Mensch und Säugetiere". In: Graumann, W.<sup>2</sup> Neumann, K., ed. Handbuch der Histochemie, Stuttgart, Gustav Fischer, 1964. Bd. II/2.
- GOLDMAN, J.; ROSALES, F.; VILLAVICENCIO, M. & GUERRA, R. - Pathways of glucose metabolism in rat submaxillary gland. Biochim. biophys. Acta, 82: 303-312, 1964.
- GOMORI, G. - Microscopic histochemistry, principles and practice. Chicago, University of Chicago Press, 1952. p.175-186.
- HENNIG, A. - Kritische Betrachtung zur Volumen-und Oberflächenmessung in der Mikroskopie. Zeiss Werkz. Schr., 6: 78-86, 1958.

- HOLT, S.J. & HICKS, R.M. - The localization of acid phosphatase in rat liver cells as revealed by combined cytochemical staining and electron microscopy. J. Biphys. Biochem. Cytol., 11: 47-66, 1961.
- JAKOWSKA, S. - Mucous Secretions. Ann. N.Y. Acad. Sci., 106: 157-809, 1963.
- JACOBY, F. & REES, P.G. - The alkaline phosphatase reaction given by the myo-epithelial cells of rodent's submaxillary gland. Fact or fiction? J. Anat., 105: 199, 1969.
- JUNQUEIRA, L.C.U. & FAVA DE MORAES, F. - "Comparative aspects of the vertebrate major salivary glands biology". In: Bothermann, W., ed. Sekretion und Exkretion. Berlin, Springer, 1965. p. 36-48.
- KAWAKATSU, K.; DEGUCHI, Y.; OKA, R. & TAKITA, Y. - Histochemical study of protein-bound sulphhydryl and disulfide groups in normal salivary glands. J. dent. Res., 41: 104-111, 1962.
- KAWAKATSU, K.; MORI, M.; MIZUSHIMA, T. & MAKINO, H. - Histochemical localization of cytochrome oxidase in salivary glands. Arch. Histol. Jap., 24: 427-433, 1964.
- KIM, S.K.; NASJLETI, C.E. & HAN, S.S. - The secretion processes in mucous and serous secretory cells of the rat sublingual gland. J. Ultrast. Res., 38: 371-389, 1972.
- KRONMAN, J.H. - Hamster salivary gland sexual dimorphism. I. Protein histochemical study. J. dent. Res., 42: 123-127, 1963 a.
- KRONMAN, J.H. - Hamster salivary gland sexual dimorphism. II. A histochemical study of acid phosphatase. J. dent. Res., 42: 825-830, 1963 b.
- KRONMAN, J.H. & CHAUNCEY, H.H. - Testosterone-induced changes in salivary gland histochemistry in the female golden hamster. J. oral Therap. Pharm., 1: 392-405, 1965.
- KRONMAN, J.H.; DONNELL, L.J.O. & CHAUNCEY, H.H. - Morphologic and histochemical comparison of the zygomatic, lacrimal, and sublingual glands in the female golden hamster. J. dent. Res., 47: 207-213, 1968.

- KUN, E. & ABOOD, L.G. - Colorimetric estimation of succinic dehydrogenase by triphenyltetrazolium chloride. Science, 109: 144-146, 1949.
- KURNICK, N.B. - Desoxyribonuclease activity of sera of man and some other species. Arch. Biochem. Biophys., 43:97-107, 1953.
- LEESON, C.R. & BOOTH, W.G. - Histological, histochemical and electronmicroscopic observations on the post-natal development of the major sublingual gland of the rat. J. dent. Res., 40: 838-845, 1961.
- LEPPI, T.J.; SPICER, S.S.; HENSON, J.G. & FIORAVANTI, J. - Correlated histochemical staining and  $S^{35}O_4$  labeling of salivary gland mucosubstances. J. Histochem. Cytochem., 15: 745-751, 1967.
- LILLIE, R.D. - Acetylation and nitrosation of tissue amines in histochemistry. J. Histochem. Cytochem., 6: 352-362, 1958.
- LISON, L. - Statistique appliquée a la biologie expérimentale. La planification de l'expérience et l'analyse des résultats. Paris, Gauthiers-Villars, 1958.
- LISON, L. - Histochimie et cytochimie animales. Principes et méthodes. 3<sup>e</sup> éd. Paris, Gauthiers-Villars, 1960. 2 V.
- LISON, L. & PINHEIRO, P. - apud LISON, L.
- LOWRY, O.H.; ROSEBOUGH, N.J.; FARR, A.L. RANDALL, R. J. - Protein measurement with the folin phenol reagent, J. biol. Chem., 193: 265-275, 1951.
- LUZZATO, A.C.; PROCICCHIANI, G. & ROSATI, G. - Rat submaxillary gland: an electron microscope study of the secretory granules of the acinus. J. Ultrastr. Res., 22: 185-194, 1968.
- McMANUS, J.F.A. - Histological demonstration of mucin after periodic acid. Nature, 158: 202, 1946.
- McMANUS, J.F.A. & CASON, J.E. - Carbohydrate histochemistry studied by acetylation techniques. I. Periodic acid methods. J. exp. Med., 91: 651-654, 1950.

- MUNHOZ, C.O.G. - Estudo histoquímico comparativo (proteínas e carboidratos) das glândulas salivares maiores de três ordens de mamíferos (Artiodáctilos, Carnívoros e Roedores). Piracicaba, S.P., 1967. [Tese de Doutorado. Faculdade de Odontologia]
- MUSIL, A. & KITTEL, R. - Histologische Untersuchungen über die Sekretionstätigkeit der Glandula submandibularis des Feldhamsters (Cricetus cricetus L.) während der sommerlichen Aktivitätsperiode und des Winterschlafes. Gegenbaurs morph. Jahrb., 112: 1-14, 1968.
- NACHLAS, M.M.; TSOU, K.C.; SOUZA, E.; CHENG, C.S. & SELIGMAN, A.M. - Cytochemical demonstration of succinic dehydrogenase by the use of a new p-nitrophenyl substituted ditetrazole. J. Histochem. Cytochem., 5: 420-436, 1957.
- NICOLAU, J.; LANSAC, M.C.; ROSA, R.; PEDROSO, F.I. & LEAL, A. - Activities of some glycolytic enzymes in the major salivary glands of some laboratory animals. Com. Biochem. Physiol., 47A: 399-402, 1974.
- OHLIN, P. - Effects of isoprenaline treatment on secretory responses and respiratory enzymes of the submaxillary gland of the rat. J. oral. Therap. Pharm., 3: 190-193, 1966.
- PEARSE, A.G.E. - Histochemistry: theoretical and applied. 3rd ed. London, Churchill, 1968/1972. 2 V.
- PEREC, C.J.; HOUSSAY, A.B.; PERONACE, A.A.A.V. & HARFIN, J.F. - Submaxillary and retrolingual gland hypertrophy by different incisor amputations in the rat. J. dent. Res., 44: 683-689, 1965.
- PRITCHARD, E.T. - A study on the incorporation of inorganic ( $S^{35}$ )-sulphate into sulpholipids during stimulated secretion by rat submandibular salivary gland slices. Arch. oral Biol., 12: 1437-1444, 1967.
- PRITCHARD, E.T. - Submandibular salivary gland lipid metabolism in the rat: Incorporation of  $C^{14}$ -labelled fatty acid into lipids of slice and homogenate systems. Arch. oral Biol., 15: 879-891, 1970.



- PRITCHARD, E.T.; YAMADA, J.A. & CUSHNIE, J.E. - Lipase activity of rat submandibular salivary glands. Arch. oral Biol., 16: 981-983, 1971.
- QUINTARELLI, G. - Histochemical identification of salivary mucin. Ann. N.Y. Acad. Sci., 106: 339-363, 1963.
- QUINTARELLI, G.; TSUIKI, S.; HASHIMOTO, Y. & PIGMAN, W. - Studies of sialic acid-containing mucins in bovine submaxillary and rat sublingual glands. J. Histochem. Cytochem., 9: 176-183, 1961.
- REYNOLDS, E.S. - The use of lead citrat at high pH as an electron opaque stain in electron microscopy. J. Cell Biol., 17: 208-212, 1963.
- RICHARDSON, K.C.; JARETT, L. & FINKE, E.H. - Embedding in epoxy resins for ultrathin sectioning in electron microscopy. Stain Technol., 35: 313-319, 1960.
- RUTBERG, U. - Ultrastructure and secretory mechanism of the parotid gland. Acta odontol. Scand., 19 (Suppl. 30): 1-69, 1961.
- SAKAGUCHI, S. - Über eine Farbenreaktion von Protein und Argini. J. Biochem., 5: 25-31, 1925.
- SCHMIDT, O. & THANNHAUSER, S.J. - A method for the determination of desoxyribonucleic acid, ribonucleic acid, and phospho proteins in animal tissues. J. biol. Chem., 161: 83-89, 1945.
- SCHNEIDER, A. - Funktionsentwicklung der Speicheldrüsen. Prog. Histochem. Cytochem., 3: 1-57, 1971.
- SCHNEIDER, R.M. & PEARSON, P. - The isolation of submaxillary gland acini and duct segment. Exp. Cell Res., 20: 627-629, 1960.
- SCHNEIDER, W.C. - Phosphorus compounds in animal tissues. I. Extraction and estimation of desoxypentose nucleic acid and of pentose nucleic acid. J. biol. Chem., 161: 293-303, 1945.
- SCHNEYER, L.H. & SCHNEYER, C.A. - Secretory mechanisms of salivary glands. New York, Academic Press, 1967.

- SHAPIRO, B.L. - A morphologic and histochemical study of three oxidative enzymes in the hamster submandibular gland. Arch. oral Biol., 12: 1053-1061, 1967.
- SHAPIRO, B.; WATTENBERG, L.W. & GORLIN, R.J. - A histochemical study of hamster submandibular lesions. J. dent. Res., 45: 169-177, 1966.
- SHACKLEFORD, J.M. - Histochemical comparison of mucous secretions in rodent, carnivore, ungulate, and primate major salivary glands. Ann. N.Y. Acad. Sci., 106: 572-582, 1963.
- SHACKLEFORD, J.M. & KLAPPER, C.E. - Structure and carbohydrate histochemistry of mammalian salivary glands. Am. J. Anat., 111: 25-48, 1962 a.
- SHACKLEFORD, J.M. & KLAPPER, C.E. - A sexual dimorphism of hamster submaxillary mucin. Anat. Rec., 142: 495-503, 1962 b.
- SHACKLEFORD, J.M. & KLAPPER, C.E. - Casein degrading ability of hamster, rat and mouse salivary glands. Arch. oral Biol., 7: 337-342, 1962 c.
- SHACKLEFORD, J.M. & SCHNEYER, C.A. Structural and functional aspects of rodent salivary glands including two desert species. Am. J. Anat., 115: 279-308, 1964.
- SHACKLEFORD, J.M. & WILBORN, W.H. - Structural and histochemical diversity in mammalian salivary glands. Alabama J. Med. Sci., 5: 180-203, 1968.
- SCHÄTZLE, W. - Histochemie der Speicheldrüsen. Acta Histochem., 13: 62-112, 1962.
- SHUGAR, D. - The measurement of lysozyme activity and the ultraviolet inactivation of lysozyme. Biochim. Biophys. Acta., 8: 302-309, 1952.
- SORVARI, T.E. & STOWARD, P.J. - Some investigations of the mechanism of the so-called "methylation" reactions used in mucosubstance histochemistry. I. "Methyladiazomethane", with methyl iodide, diazomethane, and various organic solvents containing either hydrogen chlorid or thionyl chlorid. Histochemie., 24: 106-113, 1970.

- SPICER, S.S. - Histochemical differentiation of sulfated rodent mucins. Ann. Histochem., 7: 23-28, 1962.
- SPICER, S.S. & DUVENCI, J. - Histochemical characteristics of mucopolysaccharides in salivary and exorbital lacrimal glands. Anat. Rec., 149: 333-358, 1964.
- SREEBNY, L.M. & MEYER, J. - Salivary glands and their Secretions. New York, Pergamon, 1964.
- SREEBNY, L.M.; MEYER, J.; BACHEM, E. & WEINMANN, J.P. - Post-natal changes in proteolytic activity and in the morphology of the submaxillary gland in male and female albino rats. Growth, 19: 57-74, 1955.
- SREEBNY, L.M.; RUARK, G.W. & TAMARIN, A. - The distribution of deoxyribonuclease in the salivary glands and pancreas of various mammals. Archs. oral Biol., 12: 777-781, 1967.
- STOWARD, P.J. - The histochemical properties of some periodate-reactive mucosubstances of the pregnant Syrian hamster before and after methylation with methanolic thionyl chlorid. J. roy. microsc. Soc., 87: 77-103, 1967.
- SUMNER, J.B. & HOWELL, S.F. - "Amylases, alfa end beta". In: Colowick, S.P. & Kaplan, N.O. ed. Methods in Enzymology. New York, Academic Press, 1955. V. 1 p. 149.
- SUMI, K. - On the special structure of the salivary glands in the golden hamster. I. Cell structure and secretory function. Arch. Histol. Jap., 20: 413-434, 1960.
- TAMARIN, A. & SREEBNY, L.M. - The rat submaxillary salivary gland. A correlative study by light and electron microscopy. J. Morph., 117: 295-352, 1965.
- TANDLER, E. - Ultrastructure of the human submaxillary gland. II. The base of the striated duct cells. J. Ultrastr. Res., 9: 65-75, 1963.
- TERNER, J.Y. & LEV, R. - Lactone formation in the histochemical evaluation of acid mucopolysaccharides: mucin. J. Histochem. Cytochem., 11: 804-811, 1963.

- TIBER, A. - Radioautographic and histochemical study of protein synthesis in the hamster submandibular gland. J. dent. Res., 50: 837-845, 1971.
- TOENNIES, G. - The oxidative conversion of casein into protein free of methionine and tryptophane. J. biol. Chem., 145: 667-670, 1942.
- VACER, Z. & NOVOTNÝ, J. - Fettablagerung in leber und speichel drüsen der mit einer Kariogenen purifizierten zuckerdiät gefüt terten versuchsratten und hamster. Z. Zellforsch., 49: 541-554, 1959.
- VENDRELY, C. - Acides nucléiques et sécrétion. Biol. Méd., 53: 629-640, 1964.
- VIALLI, M. - Tecnica per l'uso contemporaneo in istochimica dell' alcian blue e della reazione di Hotchkiss. Arch. Zool. Ital., 40: 399-407, 1955.
- VILLA, N. - Alguns dados histológicos e histoautorradiográficos da glândula parótida do rato (Rattus norvegicus albinus, Rodentia, Mammalia) durante o desenvolvimento pós-natal. São Paulo, 1968. [Tese de Doutorado. Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo]
- WARREN, L. - The thiobarbituric acid assay of sialic acids. J. biol. Chem., 234: 1971-1975, 1959.
- WATSON, M.L. - Staining of tissue sections for electron microscopy with heavy metals. J. Biophys. Biochem. Cytol., 4: 475-478, 1958.
- WEGMANN, R. & BANKOWSKI, Z. - Différenciation histochimiques de quatre groupes d'adénosine triphosphatases selon slater. Ann. Histochem., 5: 121-141, 1960.
- WEGMANN, R. & SOTELO, C. - Aspects cytoenzymologiques du métabolisme des glucides de la cellule de Purkinje. Ann. Histochem., 7: 65-81, 1962.

YASUMA, A. & ICHIKAWA, T. - Nynhidrin-Schiff and alloxan-Schiff staining method for protein. J. Lab. clin. Med., 41: 296-299, 1953.

YOSHIMURA, Y.; KAWANO, T.; KUROI, M.; MORISHITA, M.; MORI, M. & KAWAKATSU, K. - Zymographic demonstration of lactate and malate dehydrogenases isoenzymes in the rodent salivary glands. Histochemie, 22: 337-346, 1970.

## 8 - DOCUMENTAÇÃO FOTOGRÁFICA

**Figura 1**

Glândula de hamster fêmea adulta, onde se observam os ácinos (AS), ducto estriado (DE) e ductos intercalares (DI) com grande concentração de grânulos de secreção no citoplasma das células. Corte em parafina; coloração: hematoxilina fosfotúnstica de Mallory; aumento aprox.: 170 X.

**Figura 2**

Glândula parótida de hamster macho adulto. Observar os ácinos serosos (AS) e ducto intercalares (DI). Corte em parafina; coloração: hematoxilina fosfotúnstica de Mallory; aumento aprox.: 420 X.

**Figura 3**

Glândula parótida de hamster macho adulto. Observar os ácinos (AS) com numerosos grânulos de secreção no citoplasma e a estrutura do ducto estriado (DE). Corte em parafina; coloração: hematoxilina fosfotúnstica de Mallory; aumento aprox.: 420 X.

**Figura 4**

Glândula submandibular de hamster macho adulto. Observar os ácinos mucosos (AM) e os ductos estriados modificados (DEM). Corte em parafina; coloração: hematoxilina-eosina; aumento aprox.: 240 X.

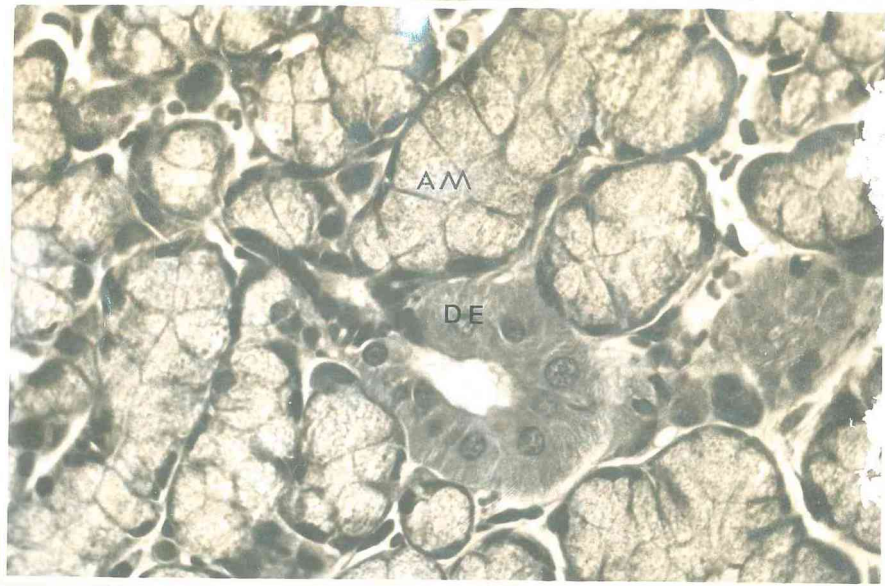


**Figura 5**

Glândula submandibular de hamster macho adulto. Verificar os ácinos (AM) e ductos estriados modificados (DEM). Corte em parafina; coloração: hematoxilina fosfotúnstica de Mallory; aumento aprox.: 240 X.

**Figura 6**

Glândula submandibular de hamster macho adulto. Observar em maiores aumentos a alta concentração de grânulos de secreção no ducto estriado modificado (DEM). Coloração: hematoxilina fosfotúnstica de Mallory; aumento aprox.: 420 X.

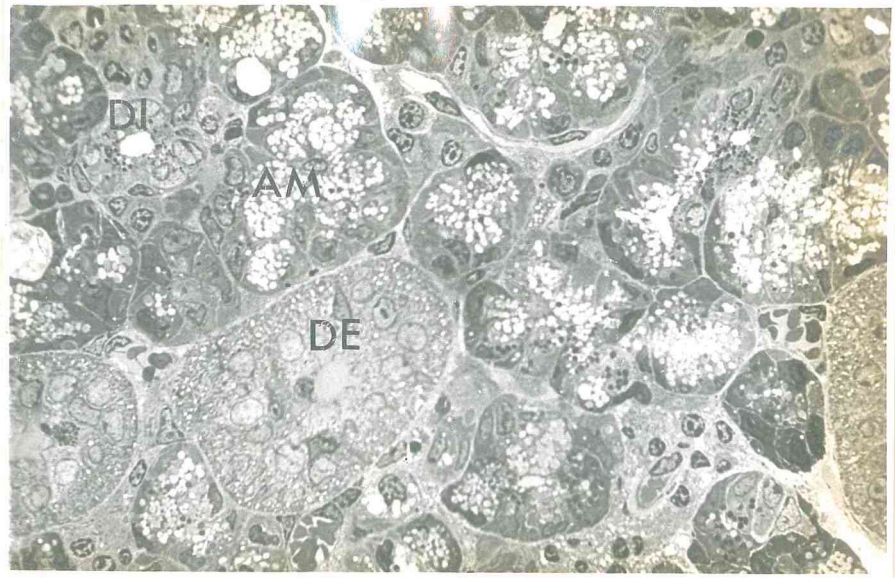


**Figura 7**

Glândula sublingual de hamster macho adulto. Observar os ácinos mucosos (AM) volumosos com núcleos achatados na bases das células e ducto estriado (DE). Corte em parafina; coloração: hematoxilina-eosina; aumento aprox.: 240 X.

**Figura 8**

Glândula parótida de hamster macho jovem. Observar os ácinos (AS) e os ductos intercalares (DI) com numerosos grânulos de secreção no citoplasma. Células claras e escuras no ducto estriado (DE) são também observadas. Corte em araldite; coloração: azul de metileno e azur II; aumento aprox.: 170 X.



**Figura 9**

Glândula submandibular de hamster fêmea jovem. Observar os ácinos mucosos (AM) com numerosos vacúolos de secreção, ductos intercalares (DI) com grânulos de secreção e os ductos estriados (DE). Corte em araldite; coloração: azul de metileno e azur II; aumento aprox.: 170 X.

**Figura 10**

Glândula submandibular de hamster fêmea adulta. Observar a estrutura do ducto estriado modificado (DEM) no animal adulto, destacando-se alta concentração de grânulos citoplasmáticos que também são visualizados nos ácinos (AM). Corte em araldite; coloração: azul de metileno e azur II; aumento aprox.: 420 X.

**Figura 11**

Glândula sublingual de hamster fêmea jovem. Observar a flagrante vacuolização citoplasmática dos ácinos mucosos (AM); semi-luas serosa (SLS), ducto intercalar (DI) e ducto estriado (DE). Corte em araldite; coloração: azul de metileno e azur II; aumento aprox.: 170 X.

**Figura 12**

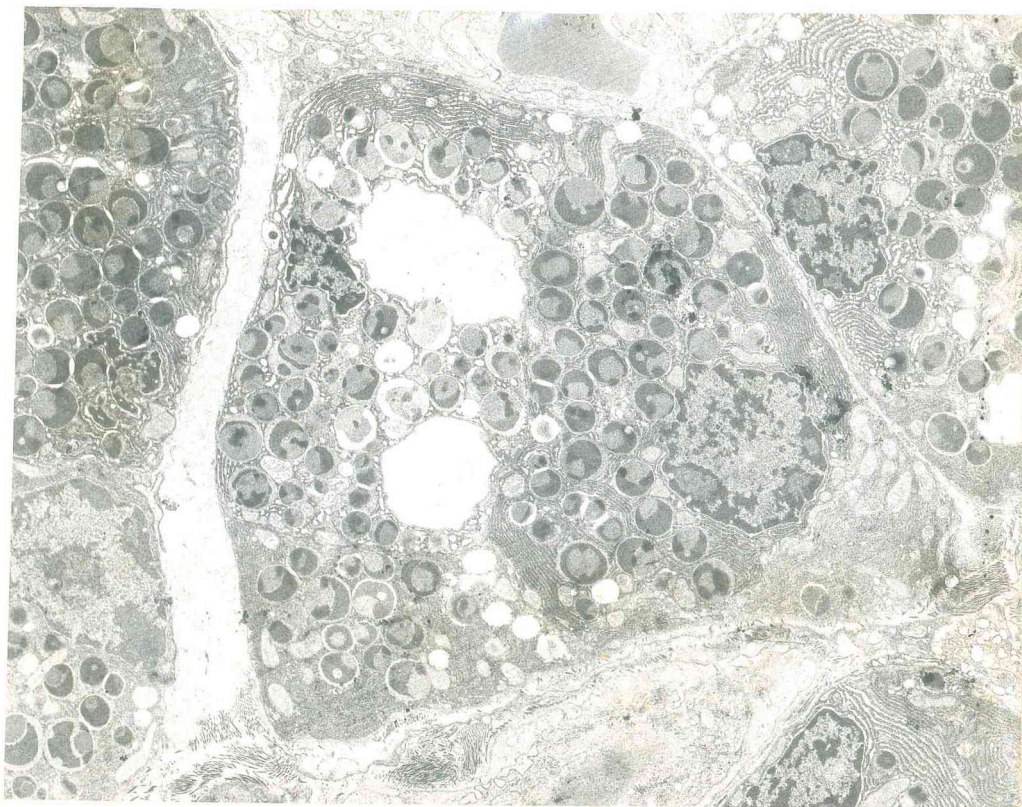
Acino de parótida de hamster macho adulto. Observar os grânulos de secreção (S) com diferentes eletrondensidade. Aumento aprox.: 5.250 X.

**Figura 13**

Células acinosas de parótida de hamster macho adulto. Observar além dos grânulos tipo S-3, notadamente os desmosossomos (D), complexo unitivo (CU), retículo endoplasmático granular (REG) e microvilos (Mv). Aumento aprox.: 21.000 X.

**Figura 14**

Células acinosas de parótida de hamster macho adulto. Observar os grânulos do tipo S-3, além das características do núcleo (N), retículo endoplasmático granuladar (REG) e complexo de Golgi (G). Aumento aprox.: 21.000 X.



**Figura 15**

Acino de glândula parótida de hamster fêmea jovem com células exibindo grânulos de secreção (S) com diferente eletrondensidade. Aumento aprox.: 5.250 X.

**Figura 16**

Grânulos de secreção dos tipos S-1 e S-2 em célula acinosa de parótida de hamster macho jovem. Aumento aprox.: 15.000 X.

**Figura 17**

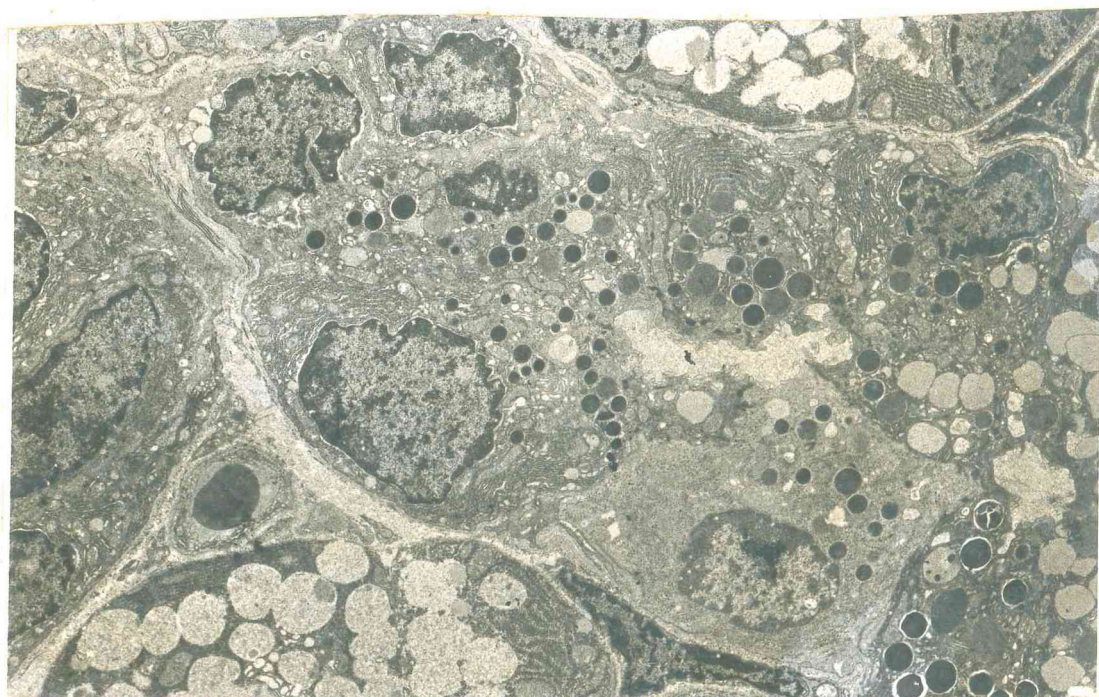
Partes de células acinosas de parótida de hamster fêmea jovem, mostrando grânulos de secreção do tipo S-4. Aumento aprox.: 21.000 X.

**Figura 18**

Partes de células acinosas de parótida de hamster fêmea jovem, mostrando grânulos de secreção do tipo S-5. Aumento aprox.: 14.100 X.

**Figura 19**

Célula acinosa de parótida de hamster fêmea adulta. Presença do grânulo de secreção tipo S-6. Aumento aprox.: 21.000 X.



**Figura 20**

Ducto intercalar de parótida de hamster fêmea jovem. Observar a sua estrutura geral com a presença de células escuras (CE) e clara (CC). Aumento aprox.: 5.250 X.





Figura 21

Parte de um ducto intercalar de parótida de hamster fêmea adulta mostrando grânulos esféricos eletrondensos (S), desmossomos (D), interdigitação da membrana (I) e retículo endoplasmático granular (REG). Aumento aprox.: 36.000 X.

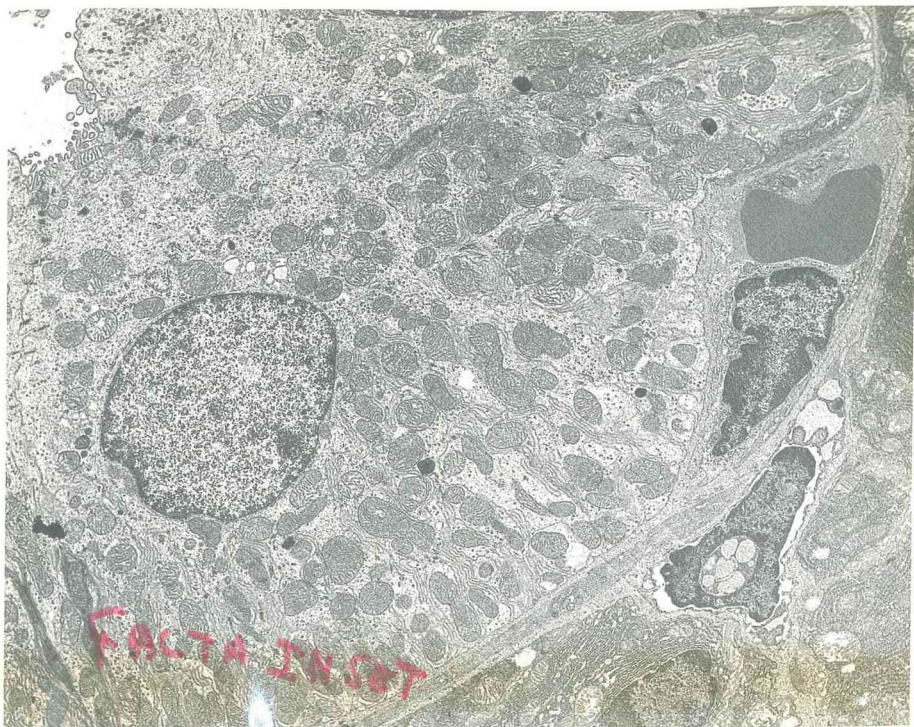


Figura 22

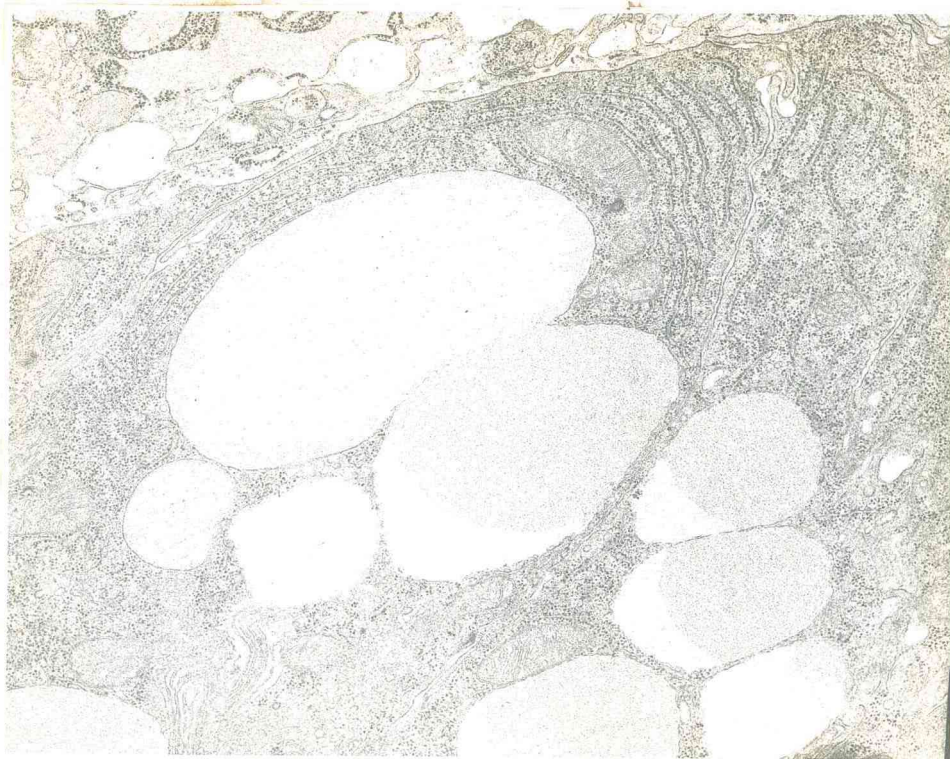
Parte de um ducto estriado de parótida de hamster fêmea adulta. Observar: microvilos (Mv), grânulos de reabsorção apicais (R), desmossomos (D) e riqueza de mitocôndrias (M). Aprox.: 15.000 X. "Inset": detalhe da invaginação da membrana basal (seta). Aumento aprox.: 25.000 X.

**Figura 23**

Ácino de glândula submandibular de hamster macho adulto. Observar: grânulos de secreção (S), características do núcleo (N), microvilos (Mv), complexo de Golgi (G) e segmento de uma célula mioepitelial (CM). Aumento aprox.: 5.250 X.

**Figura 24**

Partes de células acinosas de submandibular de hamster fêmea jovem mostrando interdigitações da membrana plasmática (I), núcleos (N), mitocôndrias (M), grânulos de secreção (S) e retículo endoplasmático granular (REG). Aumento aprox.: 21.000 X.



**Figura 25**

Parte de uma célula acinosa de submandibular de hamster fêmea jovem exibindo os dois tipos de grânulos de secreção (S), retículo endoplasmático granular e mitocôndrias. Aumento aprox.: 21.000 X.

**Figura 26**

Corte longitudinal de um ducto intercalares de submandibular de hamster macho jovem. Observar células claras (CC) e escura (CE), características do núcleo (N), grânulos de secreção (S) e a transição com a célula acinosa (CA). Aumento aprox.: 5.250 X.

Figura 27

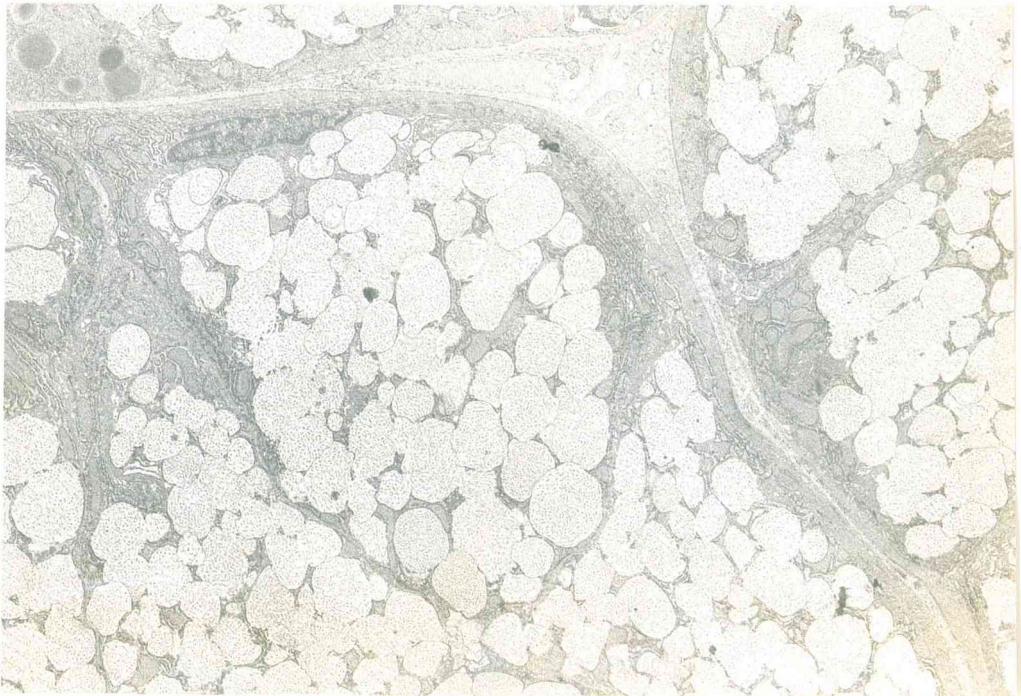
Ducto intercaler de submandibular de hamster macho adulto. Destaque para os grânulos de secreção (S), microvilos (Mv) desmosomas (D) e complexo unitivo (CU). Aumento aprox.: 21.000 X.

Figura 28

Ducto estriado modificado de submandibular de hamster macho jovem. Observar o aspecto geral, destacando-se os microvilos apicais (Mv) e grande quantidade de grânulos de secreção. Aprox.: 21.000 X. "Inset" da mesma estrutura, porém em hamster fêmea adulta. Verificar os grânulos de secreção (S) com alta eletrondensidade e polimorfismo. São evidentes as interdigitações de membrana (I) e desmosomas (D). Aumento aprox.: 28.000 X.

**Figura 29**

Ducto estriado de submandibular de hamster macho adulto. Observar os grânulos de reabsorção (R), microvilos (Mv), desmossomos (D) e as mitocôndrias (M). Aumento aprox.: 14.100 X.



**Figura 30**

Células acinosas de sublingual de hamster fêmea adulta. Observar o núcleo elipsóide basal (N), grânulos de secreção (S) individualizados ou coalescidos. Aumento aprox.: 5.250 X.

**Figura 31**

Parte de uma célula acinosa de sublingual de hamster fêmea jovem mostrando grânulos de secreção (S) de baixa eletrondensidade. Na sua intimidade podem ser observadas estruturas filamentosas (F) possuindo um arranjo característico. Aumento aprox.: 21.000 X.

**Figura 32**

Mostrando parte da célula de uma semi-lua de glândula sublingual de hamster fêmea jovem, com núcleo (N), grânulos de secreção (S) de diferente densidade eletrônica, mitocôndrias (M) e complexo de Golgi (G). Observar no canto superior direito da figura o citoplasma de uma célula mioepitelial (CM). Aumento aprox.: 21.000 X.



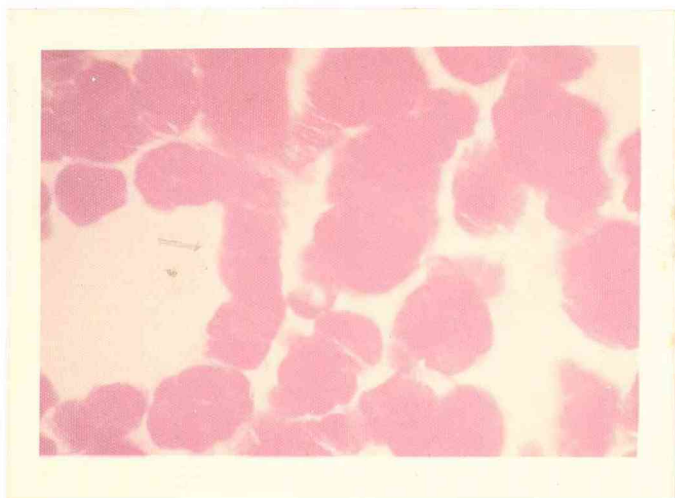
**Figura 33**

Método do PAS. Glândula submandibular de hamster macho adulto. Observar a nítida positividade para polissacarídeos neutros nos ácinos e notadamente nos ductos estriados modificados. Aumento aprox.: 530 X.



**Figura 34**

Método do PAS. Glândula submandibular de hamster fêmea adulta. Comparar com a figura 33 e notar a menor positividade para polissacarídeos neutros nos ductos estriados modificados. Aumento aprox.: 530 X.



**Figura 35**

Método do PAS. Glândula sublingual de hamster macho adulto. Observar a intensa positividade para polissacarídeos neutros demonstrada pelos ácinos mucosos. Aumento aprox.: 530 X.



**Figura 36**

Método do PAS. Glândula sublingual de hamster fêmea adulta. Comparar com a figura anterior observando-se menor positividade demonstrada pelos ácinos. Aumento aprox.: 530 X.





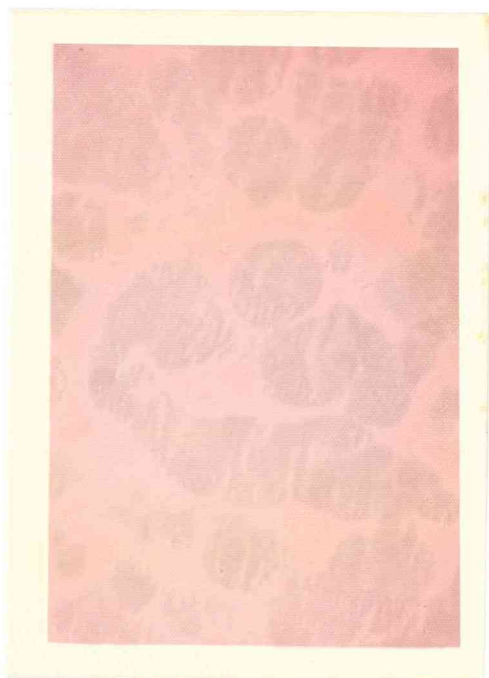
**Figura 37**

Método alcian blue pH 2,5. Glândula submandibular de hamster macho adulto. Os ácinos apresentam positividade para polissacarídeos ácidos. Aumento aprox.: 530 X.



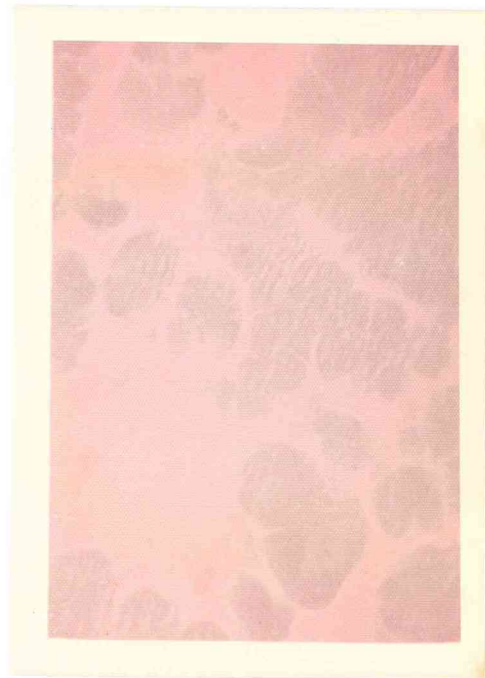
**Figura 38**

Método do alcian blue pH 2,5. Glândula submandibular de hamster fêmea adulta. Notar a maior positividade dos ácinos quando comparada com a da figura anterior. Aumento aprox.: 530 X.



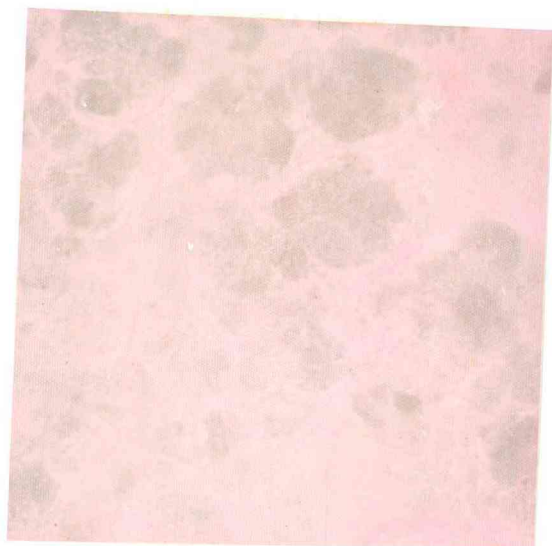
**Figura 39**

Método do alcian blue pH 2,5. Glândula sublingual de hamster macho adulto. Observar a intensa positividade dos ácinos mucosos para polissacarídeos ácidos. Aumento aprox.: 530 X.



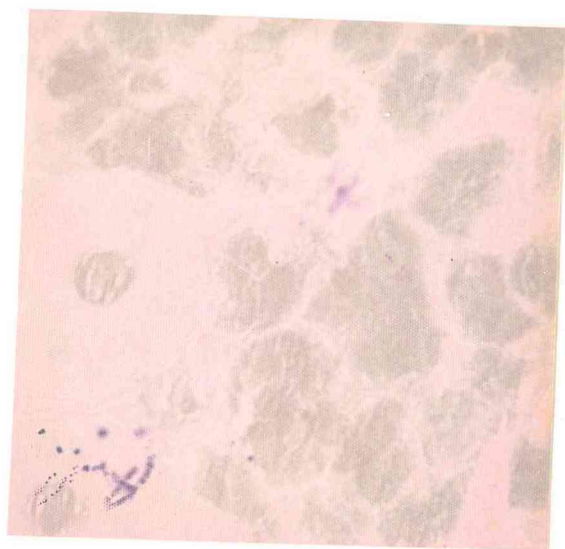
**Figura 40**

Método do alcian blue pH 2,5. Glândula sublingual de hamster fêmea adulta. Notar a menor positividade dos ácinos mucosos quando comparada com a da figura anterior. Aumento aprox.: 530 X.



**Figura 41**

Método do alcian blue pH 2,5. Glândula submandibular de hamster macho jovem. Observar a positividade dos ácinos para polissacarídeos ácidos. Aumento aprox.: 530 X.



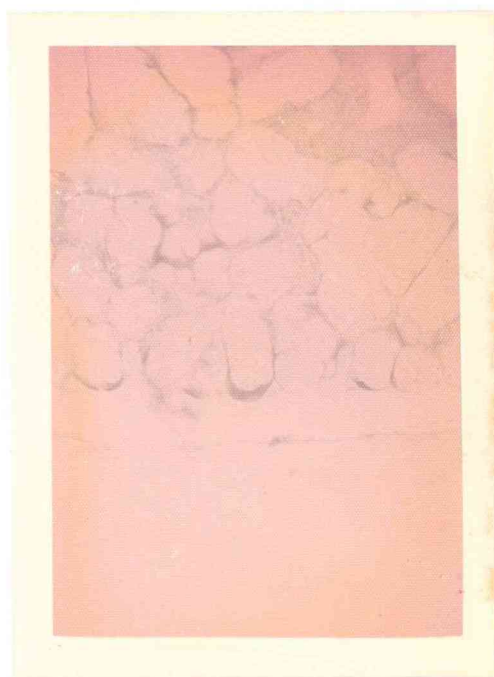
**Figura 42**

Método do alcian blue pH 2,5. Glândula submandibular de hamster fêmea jovem. Comparar com a figura anterior e notar a maior positividade demonstrada pelos ácinos. Aumento aprox.: 530 X.



**Figura 43**

Método de Millon para tirosina. Glândula parótida de hamster fêmea adulta. Observar intensa positividade dos ductos intercalares. Aumento aprox.: 530 X.



**Figura 44**

Método de Adams para cistina. Glândula sublingual de hamster macho adulto. Observar intensa positividade nas semi-luas. Aumento aprox.: 530 X.



**Figura 45**

Método de Lison e Pinheiro para triptofano. Glândula submandibular de hamster fêmea jovem. Observar intensa positividade nos ductos estriados modificados. Aumento aprox.: 210 X.

**Figura 46**

Método para alfa-glican-fosforilase. Glândula submandibular de hamster fêmea adulta. Notar intensa positividade para esta enzima ao nível dos ductos estriados modificados. Aumento aprox.: 90 X.

**Figura 47**

Método para succino desidrogenase. Glândula sublingual de hamster macho jovem. Intensa positividade é demonstrada pelos ductos estriados. Aumento aprox.: 130 X.



**Figura 48**

Método para succino desidrogenase. Glândula parótida de hamster macho jovem. Como na foto anterior, notar a intensa positividade da enzima predominantemente nos ductos estriados. Aumento aprox.: 130 X.



**Figura 49**

Método do sudan IV. Glândula sublingual de hamster fêmea jovem. Observar positividade para lípidos no ducto estriado e na semi-lua (seta). Aumento aprox.: 210 X.



**Figura 50**

Método do sulfato azul do Nilo ácido. Glândula parótida de hamster macho adulto. Notar forte positividade para fosfolípidos nos ácinos e ductos intercalares (DI). Aumento aprox.: 530 X.

Figuras 51, 52, 53

Radiografias obtidas após a injeção de L-leucina-H<sup>3</sup>. Exposição: 41 dias; coloração: hematoxilina-eosina; aumento aprox. : 640 X.

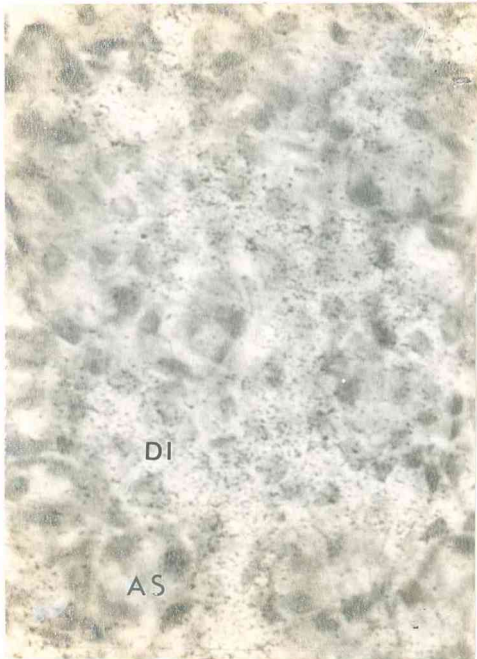


Figura 51

Glândula parótida de hamster macho adulto. Observar a flagrante incorporação 1,30 horas após a injeção do isótopo, tanto pelos ácinos (AS) quanto pelos ductos intercalares (DI).

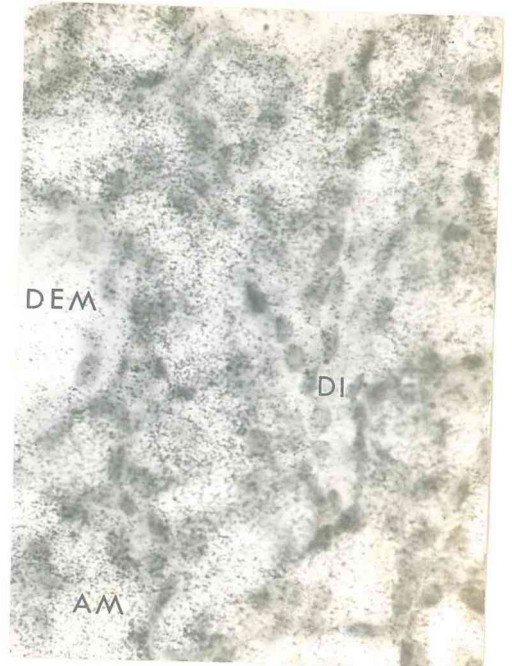


Figura 52

Glândula submandibular de hamster fêmea adulta. Observar o máximo de incorporação na porção acinosa (AM) 3,00 horas após a injeção do isótopo e menor incorporação nos ductos intercalares (DI) e estriados modificados (DEM).

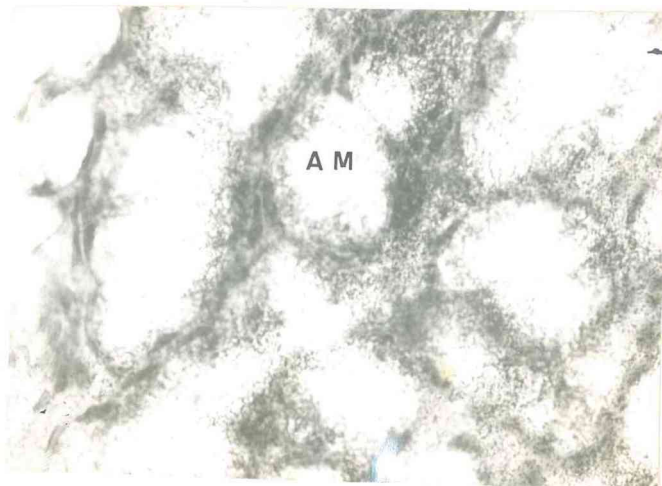


Figura 53

Glândula sublingual de hamster fêmea adulta. 7,00 horas após a injeção do isótopo. Nota-se o máximo de incorporação nos ácinos mucosos (AM).

Figura 54

Figura 55

Figura 56

Figuras 54, 55 e 56

Radiografias obtidas após a injeção de sulfato de sódio-S35. Exposição: 28 dias; coloração: hematoxilina-eosina; aumento aprox.: 640 X.

Glândulas parótidas de hamsters machos adultos. Observar que os ductos intercalares (DI) apresentam maior incorporação do isótopo do que os ácinos serosos (AS) às 0,30 e 4,00 horas (figs. 54 e 55). Verifica-se ainda que praticamente não é observada nenhuma incorporação às 24,00 horas (fig. 56). Notar, nesta última foto, a presença de um ácino mucoso especial (AME).

**Figura 57**

**Figura 58**

**Figura 59**

**Figura 60**

**Figuras 57, 58, 59 e 60**

Radiautografias obtidas após a injeção de sulfato de sódio-S35. Exposição: 28 dias; coloração: hematoxilina-eosina; aumento aprox.: 640 X.

As figs. 57, 58 e 59 apresentam a incorporação obtida, respectivamente, 0,30, 4,00 e 24,00 horas após a injeção do isótopo, na glândula submandibular de hamster macho adulto. Observar que a maior incorporação ocorreu no período de 4,00 horas (fig. 58) e principalmente nos ácinos (AM) em relação aos ductos estriados (DE) ou estriados modificados (DEM).

As figs. 58 e 60 demonstram o dimorfismo ocorrido pela predominância na incorporação acinosa do isótopo pela submandibular do hamster macho (fig. 58), em relação à mesma glândula do animal fêmea (fig. 60).

A fig. 59 documenta ainda a presença dos ácinos mucosos especiais (AME).



Figura 61

Figura 62

Figura 63

Figuras 61, 62 e 63

Radiautografias obtidas após a injeção de sulfato de sódio-S35. Exposição: 28 dias; coloração: hematoxilina-eosina; aumento aprox.: 640 X. Glândulas sublinguais de hamsters machos adultos. Observar que os ácinos mucosos (AM) apresentam sempre maior incorporação que os ductos estriados (DE) e que a maior concentração do isótopo ocorreu no período de 4,00 horas (fig. 62), quando comparada com os períodos de 0,30 (fig. 61) e 24,00 horas (fig. 63).

## E R R A I A

- Pág. 3 - 4a. linha do 5º parágrafo. Onde se lê: 1962b, leia-se 1962a.
- " 4 - 5a. linha do último parágrafo. Onde se lê: 1962b, leia-se 1962a.
- " 14 - 7a. e 8a. linhas do 2º parágrafo. Onde se lê: 1968, leia-se 1972.
- " 36 - Tabela 2. Probabilidade (p). Onde se lê: ns, S, S, ns, correspondente a DEX da parótida, leia-se S, S, S, S.
- " 52 - 6a. linha. Onde se lê: é a mesma, leia-se é semelhante.
- " 53 - Tabela 11. Última coluna vertical. Onde se lê: ASxDI (g), leia-se AS x DI (h).
- " 57 - Tabela 12. Última coluna vertical (AS x DI f) da submandibular. Onde se lê: S, leia-se ns.
- " 62 - Tabela 13. Proteína total. Coluna vertical 11. Parótida de fêmea adulta. Onde se lê: 16,74, leia-se 18,74.
- " 64 - 4a. linha do 2º parágrafo. Onde se lê: animais jovens, leia-se animais adultos.
- " " - 3a. linha do 6º parágrafo. Onde se lê: com predomínio dos primeiros, leia-se com predomínio das últimas.
- " 65 - 4a. linha do último parágrafo. Onde se lê: 1962b, leia-se 1963.
- " 72 - 7a. linha. Onde se lê: pág. 61, leia-se pág. 66.
- " 80 - 3a. linha. Onde se lê: iniciado a incorporação, leia-se iniciado a queda da incorporação.
- " 85 - 5a. linha. Onde se lê: entre <sup>os</sup> adultos, leia-se entre os jovens.
- " 93 - Graumann, W. - deveria estar colocado depois de Gomeri, G.
- " 94 - Jacoby, F. & Rees, P.G. - deveriam estar referidos antes de Jakowska, S.
- " 95 - Acrescentar 1960 no final da citação Lison, L & Pinheiro, P. - apud Lison, L.
- " 98 - Schätzle, W. - deveria estar citado na pág. 97 depois de Sakaguchi, S.
- " " - Faltou ser citado depois de Shugar, B.: SMITH, R.J. & FRÖMMER, J. - Amylase localization in hamster submandibular gland. J. dent. Res., 52:395, 1973.
- " " - Shapiro, B.L. e Shapiro e col. deveriam estar citados depois dos trabalhos de Shackelford.
- " 103 - Fig. 1 - Onde se lê: glândula de..., leia-se glândula parótida de...