

GARCIA RODRIGUES DE ALMEIDA

EFEITOS DA SIALOADENECTOMIA EM RATOS LACTENTES: SOBREVIVÊNCIA
E CRESCIMENTO.

Tese apresentada ao Instituto de
Biologia da Universidade de Cam-
pinas, para obtenção do título
de MESTRE em Biologia, na área
de Fisiologia e Biofísica

CAMPINAS - SP

1979

UNICAMP
BIBLIOTECA CENTRAL

ÍNDICE

INTRODUÇÃO	01
MATERIAL E MÉTODOS	11
RESULTADOS	18
DISCUSSÃO	30
RESUMO E CONCLUSÕES	40
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	43

À minha esposa, por sua dedicação
e amor.

Ao Júnior, razão de nossa existência,
por nos tornar felizes.

AGRADECIMENTOS

A DEUS, ser supremo, criador de todas as coisas, minha profunda gratidão por ter-me guiado, conduzido, amparado e protegido até aqui.

Ao Dr. ANTONIO CELSO RAMALHO, por ter-me aceito como seu orientado, pela sua orientação sempre segura e certa, pela sua paciência e tolerância; mostrando-se, acima de tudo, não apenas um orientador, mas um amigo; externo meus sinceros agradecimentos.

Externo meus sinceros agradecimentos aos:

Prof. Dr. CARLOS EDUARDO NEGREIROS DE PAIVA,
Professor Titular do Departamento de Fisiologia e Biofísica do Instituto de Biologia da Universidade Estadual de Campinas.

Prof. Dr. ERNESTO JOSÉ DOTTAVIANO,
Professor Adjunto do Departamento de Fisiologia e Biofísica.

Dr. ARMANDO FREITAS DA ROCHA,
Professor Assistente Doutor do Departamento de Fisiologia e Biofísica, ex-coordenador do Curso de Pós-Graduação.

Dr. OCTÁVIO DE QUEIROZ APRIGLIANO,
Professor Assistente Doutor do Departamento de Fisiologia e Biofísica, coordenador do Curso de Pós-Graduação,

porque sempre que necessitávamos de seus préstimos durante a realização do curso, fomos gentilmente atendidos.

Também colaboraram na realização deste trabalho, as seguintes pessoas, às quais externo meus sinceros agradecimentos:

Dr. CARLOS EDUARDO PINHEIRO,
pela sua colaboração prestada na orientação da parte experimental.

Dr. AQUILES PIEDRABUENA,
pela colaboração prestada na análise estatística dos resultados.

Prof. VALDIR NEGRELI,
pela revisão ortográfica e gramatical do texto.

Sra. ANNA GAGLIARDI,
pela revisão bibliográfica.

Srta. MARIA ELIDIA DOS SANTOS,
pelos serviços datilográficos.

Srs. DANILE LUIZ DE CARVALHO, DANIEL VICENTE DE FARIAS, HERVAL DE LARA ALMEIDA e JOSÉ RIBEIRO,
pela colaboração e assistência técnica prestadas na realização da parte experimental.

Administração do INSTITUTO ADVENTISTA SÃO PAULO,
por ter colocado seu laboratório à nossa disposição para complementação da parte experimental do trabalho.

INTRODUÇÃO

INTRODUÇÃO

A importância das glândulas salivares submandibulares e sublinguais na sobrevivência e crescimento de ratos recém-nascidos, tem sido amplamente discutida a partir do trabalho pioneiro de PLAGGE (1938). Segundo esse autor, a ablação das glândulas salivares submandibulares e sublinguais (sialoadenectomia) antes do décimo dia de vida leva, invariavelmente, o rato à morte. O autor afirma ainda que se a sialoadenectomia for realizada após o décimo dia de vida, o índice de sobrevivência aumenta, mas os animais mostram atraso no crescimento e menor ganho de peso que seus controles normais.

Numa tentativa de aclarar este fenômeno, surgiram outros trabalhos dando origem a diferentes interpretações quanto às suas causas; uns propondo serem elas de natureza puramente digestiva outros afirmando serem de ordem endócrina.

Ao estudarem o efeito da sialoadenectomia

sobre o crescimento de camundongos e ratos jovens, WASE & FENG (1956) não observaram diferenças no crescimento dos animais controles e sialoadenectomizados, quando os carboidratos da dieta eram constituídos de amido ou dextrose.

WAGNER *et alii*, (1960) também não observaram diferenças entre os ratos sialoadenectomizados e seus controles, quando se administrava a esses animais uma dieta líquida, através de sonda gástrica.

Por outro lado WYNN, HALDI & LAW (1961) e HALDI & WYNN (1963) alimentando ratos sialoadenectomizados, também por intubação gástrica, observaram que esses animais não apresentavam o mesmo desenvolvimento e ganho de peso que seus controles alimentados identicamente. Esses autores concluíram que o menor ganho de peso dos animais sialoadenectomizados foi devido a outros fatores e não a redução na ingestão ou absorção dos alimentos.

Determinando a ingestão diária de alimentos por ratos sialoadenectomizados, OSÓRIO & KRAEMER (1965), observaram que a despeito do menor índice de crescimento, esses animais ingerem mais alimentos que os animais controles. Este fato levou-os a pensar na possibilidade de profundas modificações da absorção e utilização dos alimentos em relação com a retirada das glândulas.

STRICKER (1970) observou, ao estudar a influência da saliva sobre o comportamento alimentar do rato, que os animais sialoadenectomizados ingeriam alimentos secos com mais dificuldade que seus controles, e que essa dificuldade era aumentada nos animais em que se fa-

zia apenas a ligadura dos ductos da parótida. Observou também que combinando sialoadenectomia e oclusão dos ductos parotídeos, esses animais tornavam-se incapazes de ingerir alimento seco, devido a ausência total de saliva.

EPSTEIN *et alii*, (1970) revisando o trabalho de PLAGGE (1938) observaram que ratos cujas glândulas salivares submandibulares e sublinguais eram removidas até o décimo dia de vida, época em que as parótidas ainda encontram-se imaturas, não sobrevivem, porque não conseguem sugar quantidade suficiente de leite devido a ausência total de saliva. Observaram também que se a sialoadenectomia fosse feita após o décimo terceiro dia de vida, época correspondente ao início da atividade secretória das parótidas, os filhotes sugam quantidade de leite suficiente para assegurar-lhes a sobrevivência. Concluíram que a saliva desempenha papel puramente mecânico selando os "lábios" dos filhotes às tetas maternas e que a sucção pode ser restaurada aplicando-se vaselina aos "lábios" dos animais sialoadenectomizados, possibilitando-lhes a sobrevivência.

Estudando a influência das glândulas submandibulares e sublinguais na ingestão láctea em ratos jovens, VILARINO (1976) observou que os animais sialoadenectomizados ingeriam quantidade de leite significativamente menor que os controles em todas as idades estudadas. Observou também que a aplicação de vaselina à rima oral dos animais sialoadenectomizados aumentava parcialmente a ingestão láctea, embora a quantidade do leite ingerido fosse significativamente menor que dos controles.

NARASIMHAN & GANLA (1968) trabalhando com

cães, gatos, macacos, camundongos e ratos, entre 8 e 13 dias de idade, não observaram nos animais em que realizaram apenas a ligadura dos ductos excretores das glândulas submandibulares, nenhum caso de morte ou atraso no crescimento, enquanto aqueles que tiveram essas glândulas removidas, apresentaram nítido atraso no crescimento. Esses autores concluíram que esse atraso no crescimento não foi devido a fatores nutricionais e sim a algum fator endócrino.

TEIXEIRA, NEGREIROS DE PAIVA & ALMEIDA COSTA (1970a e b) procurando analisar a *causa mortis* em ratos jovens sialoadenectomizados e relacionar a importância dessas glândulas em várias idades, verificaram que tanto a sialoadenectomia quanto o seccionamento dos ductos excretores das glândulas sublinguais e submandibulares levaram à morte todos os ratos operados até o décimo terceiro dia de vida. Após esta idade, a taxa de mortalidade diminuiu e a sobrevivência alcançou 100% nos ratos operados a partir do décimo sétimo dia de vida. Esses autores também observaram que os animais sobreviventes apresentaram menor índice de crescimento e ganho de peso, comparado com os controles. Por outro lado, TEIXEIRA E ALMEIDA COSTA (1970) também observaram, em ratos sialoadenectomizados no décimo segundo dia de vida, redução em 50% da taxa de mortalidade quando lhes era administrado diariamente por intubação gástrica, hormônio anabolizante associado a complexo vitamínico.

Por outro lado BARTHE *et alii* (1970) e BARTHE & DAVID (1971) ao fazerem ablação das glândulas sub -

mandibulares ou ligadura de seus canais excretores em ratos recém-nascidos, observaram que a sobrevivência é influenciada pela idade dos animais antes da ablação ou ligadura de seus canais excretores, pois conseguiram a taxa de 12% de sobrevivência para os animais operados com três dias de idade, 54% de sobreviventes para os operados de quatro a cinco dias de idade e 66% de sobreviventes para os operados com seis dias de idade. Concluíram também que tanto a ablação das glândulas submandibulares quanto a ligadura de seus canais excretores retardam ligeiramente o crescimento ponderal, sendo esse "déficit" igual para os dois tipos de intervenção. Afirmando eles que as glândulas submandibulares intactas são indispensáveis à sobrevivência e ao crescimento normal do rato recém-nascido, mas persiste a dúvida se essa necessidade é por razões puramente digestivas ou por causa de suas atividades endócrinas.

Estudando os efeitos da sialoadenectomia sobre o crescimento de ratos jovens, LOUSSOUARN (1972) verificou que a ablação bilateral das glândulas submandibulares aos oito dias de idade causava considerável alteração no ganho de peso causando a morte do rato dentro de oito dias. Verificou também, em ratos com nove dias de idade, que a manutenção de um fragmento da glândula era suficiente para assegurar sua sobrevivência e seu crescimento normal em tamanho e peso. Tendo em vista que um fragmento da glândula é capaz de compensar os animais operados, este autor acredita que essas alterações não se devam a uma deficiência salivar, mas sim, ao fato de que durante o período de aleitamento, as submandibulares segregam substâncias in

dispensáveis à sobrevivência e desenvolvimento do filhote.

SHIBA, HAMADA & KAWAKATSU (1972) estudando os efeitos da ligação dos ductos excretores das glândulas submandibulares e sublinguais, concluíram que a ligação do ducto excretor principal leva a uma aguda atrofia de ambas as glândulas em poucos dias, bem como redução da atividade as enzimas oxidativas.

Em recente trabalho de revisão bibliográfica, LOPEZ-ARRANZ(1975) mostra que o inter-relacionamento das glândulas salivares com outros órgãos endócrinos é descrito há muito tempo. O fato de muitas parotidites originarem orquites parece ter sido a causa das primeiras suspeitas desse relacionamento.

OGATA (1934) estudando o possível relacionamento das glândulas submandibulares e parótidas com o diabetes, propôs que essas glândulas desempenham funções endócrinas. Partindo dessa hipótese, vários trabalhos foram desenvolvidos estudando-se as possíveis inter-relações das glândulas salivares com órgãos endócrinos. De parótida bovina, OGATA *et alii* (1944 e 1945) extraíram um princípio ativo e observaram que uma fração dele injetado em coelhos acelerava o crescimento dos tecidos duros e reduzia os níveis de cálcio do soro. Essa fração proteica recebeu o nome de "Parotin". Sua cristalização e descrição das características químicas foram realizadas por ITO & MIZUTANI (1952).

COHEN (1960) trabalhando com glândulas submandibulares de camundongos, purificou um fator de crescimento nervoso (NGF) semelhante aos isolados de sarcomas de ca

mundongos e de venenos de serpentes porém muito mais potente. Esse fator tem a propriedade de estimular o crescimento e diferenciação de células nervosas sensoriais e simpáticas. Ainda extraiu e também purificou, de glândulas submandibulares de camundongos, um segundo fator que denominou fator de crescimento epidermal (EGF). Esse fator, injetado diariamente em camundongos recém-nascidos, provocou abertura dos olhos, erupção e mineralização dos incisivos antes que dos seus controles (COHEN, 1962).

OSÓRIO & KRAEMER (1964) observaram, ao administrar Parotin a camundongos sialoadenectomizados, aumento significativo do peso corporal desses animais em relação a seus controles. Esses autores supõe que aumento do peso corporal verificado seja o resultado de uma ação direta do Parotin sobre os centros de crescimento ou por uma influência indireta dele sobre as glândulas endócrinas.

BARTHE *et alii* (1970) administrando Parotin a ratos sialoadenectomizados, observaram que o mesmo em diferentes doses, é incapaz de restabelecer a curva de crescimento normal, mas parece agir sobre a hipófise e o bloco prostato - vesicular aumentando o seu peso.

Posteriormente GUIMARÃES, BLUMEN & TEIXEIRA, (1977) administrando Parotin diariamente a ratos recém-nascidos, observaram, depois de vários dias de tratamento, que os ácinos serosos das glândulas salivares, principalmente os da parótida, estavam aumentados em volume e concluíram que existe alguma inter-relação entre o Parotin e o crescimento das glândulas salivares maiores, pelo menos na sua parte serosa.

Por outro lado, de grande importância são as observações de TEIXEIRA *et alii* (1970 e 1973) sobre o inter-relacionamento das glândulas submandibulares e sublinguais com o crescimento neuro-cranial e crânio-visceral em ratos jovens. Esses autores observaram, ao estudarem o efeito da sialoadenectomia sobre o crescimento neuro-cranial e crânio visceral em ratos jovens, que esses animais em todas as faixas etárias estudadas, apresentavam desenvolvimento crânio visceral e neuro-cranial, significativamente menor que seus controles.

A inter-relação das glândulas salivares com outros órgãos endócrinos é descrita por vários autores : hipófise (ALVAREZ-BUYLLA, MANDOKI & ALVAREZ-BUYLLA, 1970; LIS *et alii* 1977), hipotálamo (SAAD *et alii* , 1976), tireóide (OGATA, 1955; ITO, KAWADA & KURATA, 1960; SHAFER & MUHLER, 1956 e 1960; PINHEIRO, TÁRZIA & TAGA, 1972; SUAREZ-NUÑEZ, 1970), timo (MARTINEZ-HERNANDEZ, NAKANE & PIERCE, 1973), córtex suprarrenal (BIXLER, WEBSTER & MUHLER , 1956; KOSTULAK, 1977), pâncreas (OGATA, 1955; GODLOWSKI & CALANDRA, 1960; GODLOWSKI, 1962; LIU & LIN, 1969a; GARCIA, BLACKARD & TRAIL, 1971) e gônadas (SHAFER & MUHLER , 1953; OLIVER & GROSS, 1967; LIU & LIN, 1969b; HOUSSAY & HARFIN, 1973; LYON, HENDRY & SHORT, 1973; ZEBROWSKI, 1973, ROBERTS, 1974; LOPEZ-ARRANZ, 1975; MUDD & WHITE, 1975 e UTRILLA *et alii*, 1976; RAMALHO, 1979).

Através desta exposição pode-se perceber a grande controvérsia quanto ao verdadeiro papel das glândulas salivares na sobrevivência de ratos recém-nascidos , no ganho de peso, no crescimento corporal e suas possí -

veis relações com as glândulas endócrinas.

Dessa forma, propusemo-nos a realizar o presente trabalho com o objetivo de estudar:

1. A percentagem de sobrevivência dos ratos lactentes sialoadenectomizados e alimentados por intubação gástrica.
2. O ganho de peso corporal após a sialoadenectomia.

MATERIAL E MÉTODOS

MATERIAL E MÉTODOS

Foram usados neste experimento 40 ratos (*Rattus norvegicus*, albinos, linhagem Wistar) de ambos os sexos, com sete dias de idade.

As ratas, por ocasião do parto, foram colocadas em gaiolas individuais, alimentadas com ração balanceada* e água *ad libitum*.

Logo após o nascimento, as ninhadas foram restringidas a quatro animais do mesmo sexo e de pesos aproximadamente iguais. Aos sete dias de idade, 24 desses animais foram separados das mães e distribuídos em dois grupos e os 16 restantes, mantidos com as mães, constituíram um terceiro grupo experimental;

GRUPO I, formado por doze animais sendo seis machos com peso médio de $15,56 \pm 0,68$ gramas, e seis fêmeas com peso médio de $17,14 \pm 0,93$ gramas. Em todos os

* Ração Produtor (49) - Anderson & Clayton S.A.

animais deste grupo procedeu-se a ablação bilateral das glândulas submandibulares e sublinguais maiores (sialoadenectomia).

GRUPO II, formado por doze animais, sendo seis machos com peso médio de $18,06 \pm 1,66$ gramas, e seis fêmeas com peso médio de $17,15 \pm 0,39$ gramas. Os animais deste grupo não sofreram qualquer tipo de intervenção cirúrgica e foram usados como controle (controle tratado).

GRUPO III, formado por dezesseis animais, sendo oito machos com peso médio de $13,31 \pm 0,66$ gramas, e por oito fêmeas com peso médio de $14,31 \pm 0,30$ gramas. Os animais deste grupo foram mantidos com as mães até o vigésimo primeiro dia de vida, depois, desmamados e usados para a determinação da curva de crescimento padrão (controle normal).

A sialoadenectomia consistiu na ablação bilateral das glândulas submandibulares e sublinguais maiores e, para sua realização, usou-se como referência a anatomia cirúrgica de CHEYNE (1939). Os animais foram anestesiados com éter sulfúrico, e fixados em decúbito dorsal em placa cirúrgica. A seguir procedeu-se a antisepsia, e na linha mediana cervical, logo acima do manúbrio esternal, realizou-se uma pequena incisão sagital. A pele e o tecido subcutâneo foram afastados, exteriorizando-se o complexo submandibular - sublingual. Após a remoção da cápsula glandular, tomou-se o cuidado para não lesar os nódulos linfáticos e vasos sanguíneos, ligou-se o pedículo constituído pelo feixe neuromuscular e ductos excretorios. Em seguida, realizou-se a exérese das glândulas submandibulares e

sublinguais e suturou-se a ferida com fio de algodão.

Os animais dos grupos I e II foram colocados em gaiolas, contendo duas resistências emissoras de calor a fim de manter, no interior, a temperatura na faixa de 25 a 28°C. Essa faixa de temperatura era controlada, mediante contínuas observações, através de um termômetro colocado dentro da gaiola.

A alimentação dos animais pertencentes aos grupos I e II era feita por intubação gástrica, sendo usado para administração da dieta, seringa de 1 ml e tubo de polítileno número 50*. A dieta administrada era constituída de leite fresco de vaca com o seguinte complexo vitamínico (0,03 ml/ml de leite) preconizado por MANNA & HAUGE (1955), modificado por BURINI (1973) e acrescido das vitaminas A, D e E.

Tiamina	0,6g
Riboflavina	0,6g
Piridoxina	0,6g
Pantotenato de Cálcio	2,0g
Ácido Nicotínico	1,0g
Colina	30,0g
Biotina	2,0mg
Ácido Fólico	4,0mg
Inositol	8,0g
Ácido p-Aminobenzóico	6,0g
Vitamina K	0,2g
Vitamina B ₁₂	0,6mg
Vitamina A	2.100 UI/l
Vitamina D ₃	300 UI/l

* Diâmetro externo 0,9651 mm e interno 0,5841 mm.

Vitamina E	50mg
Água Deionizada	1.000ml

Os volumes da dieta foram crescentes sendo 0,40 ml no primeiro dia, 0,50 ml no segundo dia e 0,60 ml no terceiro dia de tratamento. A partir daí, obedeceu-se esse limite até o final do período de tratamento. No dia em que os animais dos grupos I e II foram separados da mãe administrou-se apenas duas vezes a dieta, porque a separação foi feita no período da tarde. Do segundo ao nono dia de tratamento, à partir das seis horas, os animais receberam seis vezes a dieta a cada três horas. Do décimo dia de tratamento em diante, reduziu-se 0,60 ml da dieta a cada dia, aumentando-se o intervalo de acordo com as reduções, até o décimo quarto dia de tratamento, quando cada animal recebeu a dieta apenas uma vez (QUADRO 1).

Foram oferecidos aos animais dos grupos I e II, logo após o início da abertura dos olhos, polenta* enriquecida com farinha de carne e água *ad libitum*. Estes continuaram alimentando-se desta dieta, além da dieta líquida, até o vigésimo primeiro dia de vida do animal, época em que foram transferidos para gaiola de madeira, mantidos à temperatura ambiente e alimentados com ração balanceada** e água *ad libitum* até o final do experimento.

Como suplementação alimentar durante todo o período de tratamento, foram administrados, por intubação

* 2/3 de fubá, 1/3 de farinha de carne e óleo de milho

** Ração Produtor (49) - Anderson & Clayton S.A.

gástrica, 10 mg de ácido linoléico * /animal/dia.

O ganho de peso para os animais dos três grupos foi acompanhado diariamente através de pesagens em balança com 0,01 grama de precisão (E. METTLER H6T), até o vigésimo terceiro dia de tratamento, daí em diante, durante quinze dias, acompanhou-se o ganho de peso, a cada três dias empregando-se balança com 1,0g de precisão (IBC COZZOLINO). Tomou-se o cuidado para que as pesagens fossem realizadas sempre às mesmas horas do dia durante todo o experimento.

Os resultados foram analisados estatisticamente pelo teste de regressão linear.

* Ind. Quím. LECIEN Ltda. S.P.

QUADRO 1 - Esquema alimentar usado para os ratos, de ambos os sexos, pertencentes aos grupos I e II.

DIAS	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
Nº de vezes/dia da dieta administrada	2		6											
Intervalo alimentar (Hs)	3		4											
Volume da Dieta (ml)	0,40		0,50											
			0,60											

A dieta foi administrada 2 vezes no primeiro dia, 6 vezes do 2º ao 9º dia e suprimida 1 vez por dia a partir do 10º dia. O intervalo alimentar do 1º ao 9º dia foi de 3 horas e aumentado a partir do 10º dia. O volume da dieta administrada ao animal de cada vez foi 0,40 ml no 1º, 0,50 ml no 2º e 0,60 ml do 3º ao 14º dia de tratamento.

RESULTADOS

RESULTADOS

A TABELA 1 e o GRÁFICO 1 mostram os resultados referentes ao ganho de peso médio para os machos pertencentes aos grupos I, II e III durante todo o período experimental.

Verifica-se para os animais do grupo I, em média, ganho de peso no 1º, 2º e 4º dia e perdas no 3º, 5º e 7º dia de tratamento, enquanto para os ratos do grupo II, observa-se ganho de peso no 1º dia e, perdas de peso em relação ao peso inicial, do 2º ao 6º dia de tratamento.

Embora apresentando perdas em relação ao peso inicial, observa-se que os animais do grupo II começaram a ganhar peso médio entre o 5º e 6º dia, ao passo que os ratos do grupo I iniciaram seu ganho de peso mais tarde, situando-se entre o 6º e 7º dia de tratamento.

A partir daí, verifica-se ganho de peso para todos os grupos, durante todo período experimental.

A TABELA 1 mostra ainda que, excetuando-se o primeiro dia de tratamento, os animais dos grupos I e II apresentaram até o final do experimento, ganhos médios de peso sempre inferiores aos ratos do grupo III.

A análise estatística desses resultados (QUADRO 2 e GRÁFICO 3) revela que, ao final do período experimental, os ratos do grupo I apresentaram ganho de peso significativamente menor que os dos grupos II e III, enquanto que, os do grupo II mostraram ganho de peso maior que os do grupo III, porém estatisticamente não significativo.

Observou-se também que o tempo médio de abertura dos olhos dos ratos machos foi de 12,3 dias para os do grupo I, 12,2 dias para os do grupo II e 12,5 dias para os do grupo III.

A taxa de sobrevivência para os machos foi de 100% em todos os grupos experimentais.

A TABELA 2 e o GRÁFICO 2 mostram os resultados referentes aos ganhos de peso médio para as fêmeas dos grupos I, II e III, durante todo o período experimental.

Verifica-se tanto para os animais do grupo I quanto para os do grupo II, pequeno ganho de peso no 1º dia de tratamento e, do 2º ao 7º dia, perdas de peso em relação ao peso inicial. A partir dessa data verifica-se que os ratos desses dois grupos apresentaram ganho de peso durante toda fase experimental, porém, com valores inferiores aos do grupo III.

A análise estatística desses resultados (QUA

DRO 3 e GRÁFICO 4) mostra que não houve diferença significativa no ganho de peso entre os animais dos grupos I e II. Entretanto, o ganho de peso dos animais desses grupos foi significativamente menor que os do grupo III.

Observou-se também que o tempo médio para a abertura dos olhos nas fêmeas foi de 12 dias para o grupo I, 12,2 dias para o grupo II e 13 dias para o grupo III.

A taxa de sobrevivência para as fêmeas foi de 100% em todos os grupos experimentais.

TABELA 1 - Valores médios, em gramas, do ganho de peso dos machos dos três grupos experimentais.

MACHOS				
	Dias	Grupo I	Grupo II	Grupo III
Período de Sobrevivência	01	1,16	1,02	0,97
	02	0,39	- 0,09	2,94
	03	- 0,11	- 0,43	4,19
	04	0,09	- 0,32	5,59
	05	- 0,17	- 0,37	7,32
	06	- 0,35	- 0,06	8,94
	07	- 0,16	0,16	10,76
	08	0,17	0,90	12,40
	09	0,84	1,87	14,20
	10	0,83	2,47	16,06
	11	1,80	3,53	17,19
	12	2,94	5,63	18,64
	13	3,50	7,63	20,42
	14	4,92	10,53	23,32
Período de Crescimento	15	6,72	12,41	25,19
	16	8,50	16,51	28,94
	17	11,91	19,57	33,04
	18	14,72	22,90	36,69
	19	17,02	27,53	39,75
	20	19,88	32,28	44,71
	21	24,72	36,46	47,94
	22	28,07	39,66	51,57
	23	31,05	45,44	57,19
	26	41,75	61,56	72,94
	29	54,08	79,04	88,19
	32	66,50	96,56	101,94
	35	76,67	112,14	119,19
	38	91,83	127,64	135,94

Dias: 01 a 14 = período de sobrevivência: 15 a 38 = período de crescimento

Grupo I = Sialoadenectomizado: Grupo II = controle tratado e Grupo III = controle normal.

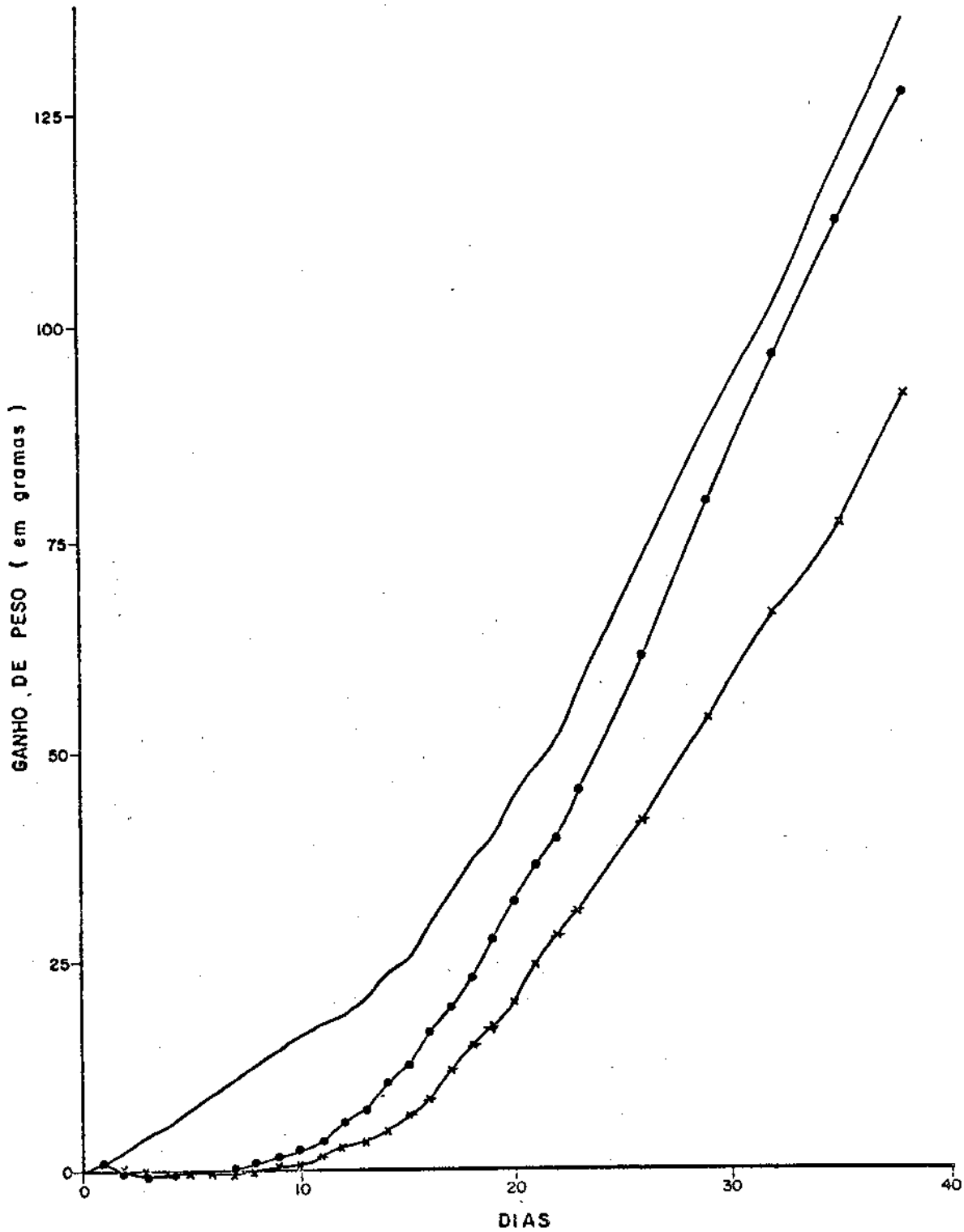


GRÁFICO 1 - Ganho de peso para os machos dos três grupos experimentais. De 1 a 14 dias (período de sobrevivência). De 15 a 38 dias (período de crescimento).

(—x—x—) = grupo I
 (—●—●—) = grupo II
 (— — —) = grupo III

TABELA 2 - Valores médios, em gramas, do ganho de peso das fêmeas dos três grupos experimentais.

F Ê M E A S				
Dias	Grupo I	Grupo II	Grupo III	
Período de Sobrevivência	01	0,57	0,97	1,86
	02	- 0,18	- 0,06	3,28
	03	- 0,59	- 0,26	5,60
	04	- 0,91	- 0,36	6,99
	05	- 1,35	- 0,38	8,70
	06	- 1,38	- 0,68	10,42
	07	- 0,92	- 0,39	11,81
	08	0,02	0,32	13,38
	09	0,10	1,01	15,02
	10	0,61	1,67	16,81
	11	0,83	2,68	18,97
	12	1,61	3,41	20,77
	13	3,69	5,57	23,37
	14	6,55	6,12	26,56
Período de Crescimento	15	8,16	7,90	29,56
	16	11,29	10,15	32,81
	17	14,21	13,71	36,68
	18	15,49	17,20	39,81
	19	18,85	20,39	43,43
	20	21,78	22,46	47,22
	21	24,14	25,09	52,06
	22	27,37	28,56	55,81
	23	31,62	33,54	58,93
	26	42,95	41,96	72,43
	29	53,95	54,79	85,06
	32	67,87	67,96	98,18
	35	79,62	76,96	108,18
	38	86,12	87,29	119,06

Dias: 01 a 14 = período de sobrevivência; 15 a 38 = período de crescimento.

Grupo I = Sialoadenectomizado. Grupo II = Controle tratado
Grupo III = Controle normal.

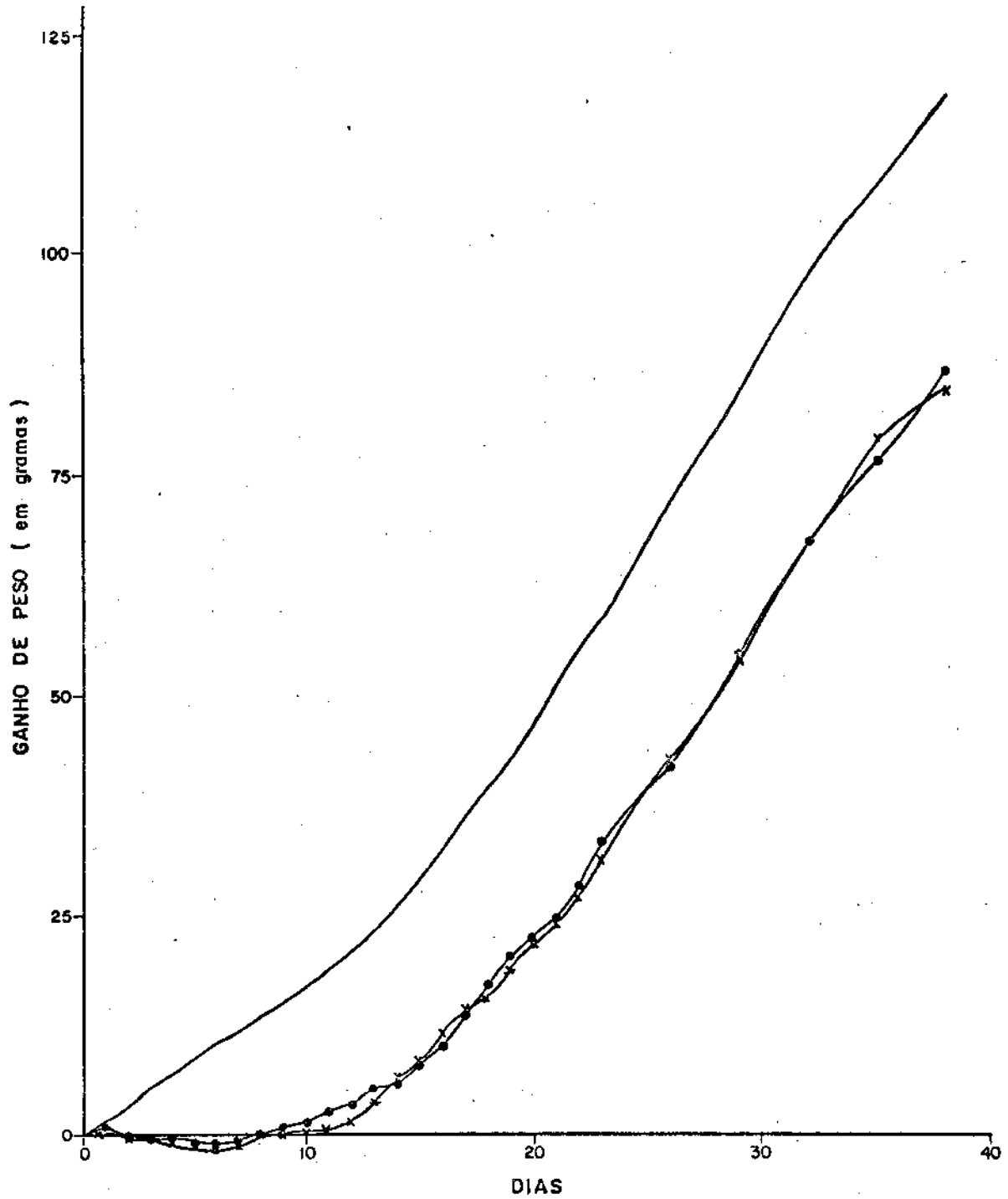


GRÁFICO 2 - Ganho de peso para as fêmeas dos três grupos experimentais. De 1 a 14 dias (período de sobrevivência). De 15 a 38 dias (período de crescimento).

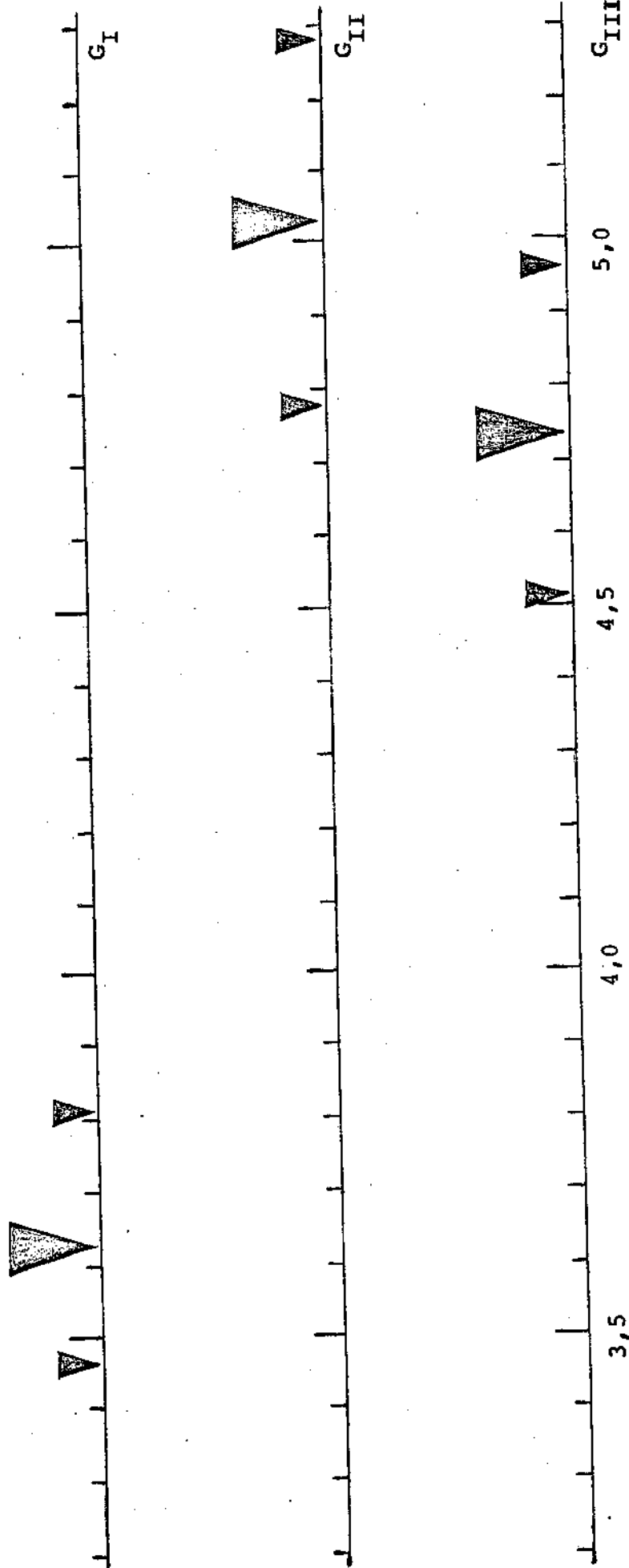
(— x — x —) = grupo I
 (— ● — ● —) = grupo II
 (— — —) = grupo III

QUADRO 2 - Quadro demonstrativo da análise estatística, mostrando os valores de F (FISHER) encontrados na análise de regressão linear para os machos dos grupos I, II e III. Para 1 e 13 graus de liberdade e P (Probabilidade) igual a 0,001 F é igual a 17,81 e, portanto P é menor que 0,001.

MACHOS

GRUPOS	F ENCONTRADO	SIGNIFICÂNCIA
I	1.979,720	P < 0,001
II	1.862,185	P < 0,001
III	2.048,074	P < 0,001

GRÁFICO 3 - Representação gráfica do intervalo de confiança da análise de regressão linear para ganho de peso dos machos pertencentes aos grupos I, II e III. O grupo I difere significativamente dos grupos II e III, enquanto que, o grupo II difere do grupo III com tendência estatística não significativa. $G_I = 3,63832 \pm 0,17663$; $G_{II} = 5,03482 \pm 0,25202$ e $G_{III} = 4,74165 \pm 0,22631$.

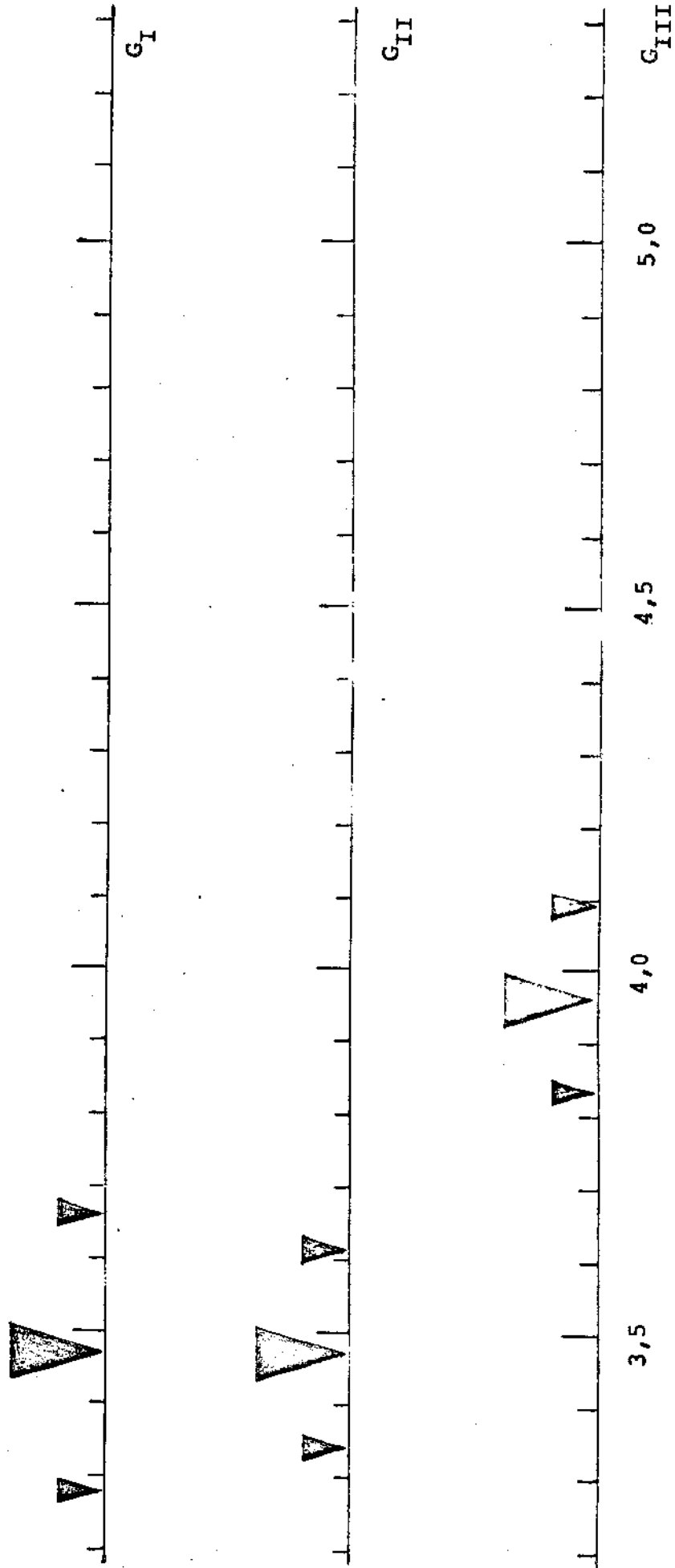


QUADRO 3 - Quadro demonstrativo da análise estatística, mostrando os valores de F (FISHER) encontrados na análise de regressão linear para as fêmeas dos grupos I, II e III. Para 1 e 13 graus de liberdade e P (Probabilidade) igual a 0,001 e F é igual a 17,81 e, portanto P é menor que 0,001.

FÊMEAS

GRUPOS	F ENCONTRADO	SIGNIFICÂNCIA
I	1.565,247	P < 0,001
II	3.096,940	P < 0,001
III	4.448,954	P < 0,001

GRÁFICO 4 - Representação gráfica do intervalo de confiança da análise de regressão linear para o ganho de peso das fêmeas pertencentes aos grupos I, II e III. Os grupos I e II diferem significativamente do grupo III, contudo entre si, os grupos I e II não apresentaram diferença significativa no ganho de peso. $G_I = 3,47854 \pm 0,18991$;
 $G_{II} = 3,47931 \pm 0,13505$ e $G_{III} = 3,96701 \pm 0,12848$.



DISCUSSÃO

DISCUSSÃO

Tendo em vista as observações feitas por PLAGGE (1938), EPSTEIN *et alii* (1970), TEIXEIRA & ALMEIDA COSTA (1970), TEIXEIRA *et alii* (1970a) e LOUSSOUARN (1972) que ratos sialoadenectomizados antes do décimo primeiro dia de vida não sobrevivem, do décimo primeiro ao décimo sexto a sobrevivência aumenta, mas só atinge 100% a partir do décimo sétimo dia de vida, escolhemos trabalhar com ratos lactentes sialoadenectomizados e normais com a idade de sete dias. Assim sendo, a idade que escolhemos para os animais usados neste trabalho era bem inferior ao limite de idade para sobrevivência observado pelos autores acima.

Pelo fato de que os animais nessa idade, foram separados da mãe, tornou-se necessário alimentá-los com uma dieta substitutiva. Com a finalidade de determinar essa dieta, realizamos previamente alguns experimentos, os quais mostraram não ser o leite fresco de vaca suficiente para assegurar a sobrevivência de animais normais tratados

por intubação gástrica. Por essa razão, procuramos administrar, juntamente com o leite, outras substâncias com a finalidade de melhorar as condições nutritivas da dieta.

Um fato bem conhecido é que uma dieta pobre em vitaminas impede o desenvolvimento normal do rato podendo mesmo levá-lo à morte. Assim sendo, procuramos suprir essa deficiência da dieta acrescentando ao leite um complexo vitamínico, contendo todas as vitaminas necessárias ao desenvolvimento normal do rato tratado. Esse complexo vitamínico foi preparado em nosso laboratório segundo MANNA & HAUGE (1956), modificado por BURINI (1973) e acrescido das vitaminas A, D e E. Outro fato, também conhecido, é que a carência de ácidos graxos essenciais (Ácidos araquidônico, linoleico e linolênico) na dieta de ratos jovens atrasa seu crescimento, bem como, favorece o aparecimento de dermatite escamosa, necrose da cauda, degeneração testicular, alterações no metabolismo da água e aumento do metabolismo basal (LEHNINGER, 1977; VILLELA, BACILA & TASTALDI, 1976), enquanto a sua adição à dieta, ainda que em pequenas quantidades, é capaz de sanar tais transtornos. Dentre esses ácidos graxos, o único de fato essencial é o ácido linoleico, porque os outros dois podem formar-se a partir dele (VILLELA *et alii*, 1976). Dessa forma, com a finalidade de prevenir a possibilidade de tais transtornos, acrescentamos também, à dieta dos nossos ratos em tratamento, o ácido linoleico.

Os animais que nos experimentos prévios receberam por intubação gástrica a dieta contendo leite fresco de vaca, complexo vitamínico (0,03 ml/ml de leite) e ácido

linolêico (10 mg/animal/dia), administrada em volumes crescentes de 0,40 ml no primeiro, 0,50 ml no segundo e 0,60ml no terceiro dia de tratamento, espaçados a cada três horas, durante dezoito horas por dia, sobreviveram e apresentaram significativo ganho de peso. Volumes maiores que 0,60 ml da dieta, se administrados, sempre causavam diarreia nos animais. Em virtude desse fato não ultrapassamos esse limite até o final do período de tratamento.

Diante dessas observações preliminares, essa dieta passou a ser usada como dieta padrão, administrada por intubação gástrica aos animais sialoadenectomizados e normais tratados, durante todo o período de tratamento.

Pelo fato de que nossos animais em tratamento iniciavam a ingestão de alimento sólido (polenta) que lhes era oferecido em suas gaiolas, logo após a abertura dos olhos, diminuimos a cada dia, partindo do décimo dia de tratamento, 0,60 ml do volume diário da dieta líquida administrada até o décimo quarto dia, data que se encerrou o tratamento.

Com base nos resultados que obtivemos neste trabalho somos levados a discordar das afirmações de PLAGGE (1938), EPSTEIN *et alii* (1970), TEIXEIRA & ALMEIDA COSTA (1970), TEIXEIRA *et alii* (1970a) e LOUSSOUARN (1972) de que ratos sialoadenectomizados antes do décimo dia de vida não sobrevivem; pois todos os ratos, em que realizamos a sialoadenectomia, com idade inferior à proposta por eles como limite para sobrevivência, sobreviveram e apresentaram significativo ganho de peso.

Acreditamos sim, como BARTHE & DAVID (1971) e LOUSSOUARN (1972), que as glândulas submandibulares e sub-

linguais intactas sejam indispensáveis à sobrevivência de ratos recém-nascidos, mas que se removidas, antes do décimo dia de vida, e estes alimentados com dieta substitutiva podem apresentar um índice de sobrevivência de 100%, como mostrado pelos nossos resultados.

De fato, ficou bem demonstrado que a ausência das glândulas submandibulares e sublinguais em ratos lactentes, dificulta a sucção, provocando alterações na ingestão láctea, podendo causar a morte por inanição (PLAGGE, 1938; EPSTEIN *et alii*, 1970 e VILARINO, 1976).

Entretanto a metodologia empregada na execução deste trabalho, administrando-se por intubação gástrica uma dieta enriquecida com complexo vitamínico e ácido graxo indispensável, foi capaz de manter vivos todos os animais sialoadenectomizados e normais tratados até serem capazes de ingerir alimento sólido. Desde então, o ganho de peso foi evidente, porém não o suficiente para compensar o atraso inicial e se igualarem aos seus controles normais durante todo o período de tratamento.

Devemos ressaltar ainda, que embora a dieta administrada tenha sido eficiente para sobrevivência, não foi capaz de impedir que os animais tivessem perdas de peso em alguns dias do tratamento, fato, que determinou o atraso inicial no ganho de peso dos grupos tratados.

Segundo as observações de JACOBY & LEESON, (1959), LESSON & JACOBY (1959), SCHNEYER & SCHNEYER (1961), SCHNEYER & SCHAKLEFORD (1963), FUKUDA (1967) e SCHNEYER & HALL (1969), as glândulas submandibulares, sublinguais e parótidas do rato não estão completamente de-

envolvidas no nascimento e a diferenciação e crescimento celular destas continuam por várias semanas e, entre elas, as parótidas tem desenvolvimento ainda mais lento (LAWSON, 1970), e até o décimo sexto dia de vida pós-natal muitas de suas células permanecem indiferenciadas (SCHNEYER & SCHNEYER, 1961; SCHNEYER & SCHAKLEFORD, 1963 e SCHNEYER & HALL, 1968).

Segundo EPSTEIN *et alii* (1970), a sobrevivência de ratos sialoadenectomizados após o décimo primeiro dia de vida, deve-se ao fato de que a partir dessa data as parótidas iniciam sua atividade secretória as quais substituem a secreção salivar das sublinguais e submandibulares.

Para STRICKER (1970), a secreção salivar das parótidas está mais relacionada com a ingestão de alimento sólido. Esse autor estudando a influência da saliva sobre o comportamento alimentar, observou que ratos parotidectomizados consumiam alimentos secos com mais dificuldade do que aqueles cujas glândulas salivares submandibulares e sublinguais haviam sido removidas. Em ruminantes as glândulas salivares parótidas estão imaturas no período pós-natal, entrando em atividade a partir do início da ingestão de alimentos sólido (KAY, 1960; WILSON, 1963).

Por outro lado VILARINO (1976) ao determinar a ingestão láctea por ratos sialoadenectomizados, não observou modificação na ingestão láctea nos animais sialoadenectomizados a partir do décimo primeiro dia de vida, pois em todas as idades estudadas, a obtenção do leite por parte desses animais foi sempre significativamente menor que a obtida pelos controles.

Segundo as observações desse autor, ratos sia loadenectomizados a partir do décimo quarto dia de vida apresentam ingestão de alimento sólido diferente dos seus controles e submetidos à cirurgia simulada. Acredita-se que esta ingestão precoce, provavelmente forçada pela dificuldade de obtenção de leite materno, seja de grande valor no aumento da taxa de sobrevivência.

Por outro lado, levando-se em conta que nossos animais foram submetidos a tratamento com a idade de sete dias e, somando-se a essa idade o número de dias de tratamento que perderam peso, observamos então que os machos do grupo II começaram seu ganho de peso a partir do décimo segundo dia de tratamento, enquanto que os machos e as fêmeas do grupo I e as fêmeas do grupo II começaram seu ganho de peso a partir do décimo terceiro dia de tratamento. O início do ganho de peso desses animais ocorreu logo após a abertura dos olhos, época em que lhes era oferecido alimento sólido (polenta) e água *ad libitum* em suas gaiolas.

Vale a pena ressaltar também que houve certa precocidade no tempo de abertura dos olhos nos animais dos grupos I e II em relação aos do grupo III. Acreditamos que a abertura dos olhos, talvez provocada pela dieta administrada, sem dúvida, muito contribuiu para o início da ingestão do alimento sólido.

Essa precocidade na ingestão de alimento sólido por parte de nossos animais, em caráter bem mais acen-

tuado que os referido por VILARINO (1976), possivelmente ocorreu por causa da ausência total da alimentação materna. Chamou-nos ainda a atenção o fato de que, tanto os animais do grupo I quanto os do grupo II, de ambos os sexos, procuravam encontrar alimento dentro da gaiola nos espaços inter-alimentares, já antes do tempo de abertura dos olhos. Dessa forma, acreditamos que essa precocidade na ingestão de alimento sólido muito tenha contribuído para a sobrevivência de todos os animais submetidos ao tratamento.

Para fins de análise estatística dividimos nosso trabalho em dois períodos.

O primeiro abrangeu toda fase de tratamento com duração de quatorze dias e o chamamos "período de sobrevivência". Os resultados obtidos nesse período não foram submetidos a nenhum tratamento estatístico tendo em vista tratar-se de um período de adaptação para os animais em tratamento.

O segundo abrangeu todo período experimental pós-tratamento, com duração de vinte e quatro dias, e o chamamos "período de crescimento". Durante esse período, os machos pertencentes ao grupo I mostraram ganho médio de peso igual a $3,42 \pm 0,89$ gramas/dia, os do grupo II $4,64 \pm 0,96$ gramas/dia e os do grupo III $4,48 \pm 0,92$ gramas/dia, enquanto que entre as fêmeas o ganho de peso foi $3,20 \pm 0,86$ gramas/dia para as do grupo I, $3,34 \pm 0,80$ gramas/dia para as do grupo II e $3,78 \pm 0,50$ gramas/dia para as do grupo III.

Os dados obtidos nesse período foram anali-

sados estatisticamente e mostraram haver ganho de peso significativamente menor por parte dos animais dos grupos I e II em relação a seus controles normais, exceto os machos do grupo II que mostraram ganho de peso um pouco maior que seus controles, porém com tendência estatística não significativa.

Por outro lado, entre os animais que foram submetidos ao tratamento, não se observou diferença significativa no ganho de peso entre as fêmeas dos grupos I e II, ao passo que entre os machos, o ganho de peso dos animais do grupo I foi significativamente menor que os do grupo II.

Segundo PLAGGE (1938), WYNN *et alii* (1961), HALDI & WYNN (1963), OSÓRIO & KRAEMER (1965) e NARASIMHAN & GANLA (1968) a ablação das glândulas salivares submandibulares e sublinguais de ratos jovens leva a redução do crescimento e ganho de peso desses animais em relação a seus controles normais.

Está bem elucidado que em ratos, a sialoadenectomia determina redução no ganho de peso em relação aos controles normais. Além disso, parece também evidente que a sialoadenectomia atua diferentemente em relação ao sexo, determinando que os machos tenham ganho de peso ainda menor que o das fêmeas.

HALDI & WINN (1963) e DOTTAVIANO *et alii* (1974) observaram que em ratos sialoadenectomizados, além da redução no ganho de peso em relação aos controles, os machos apresentaram menor ganho de peso que as fêmeas.

Em nosso trabalho, observamos ao final do ex-

perimento, que os ratos machos do grupo I apresentaram diferença de 35,81 g de peso a menos que os do grupo II e 44,11 g a menos que os do grupo III. Entre as fêmeas, observamos que as do grupo I apresentaram diferença de 1,17g de peso a menos que os do grupo II e 32,94 g a menos que os do grupo III.

Esses resultados confirmam as observações de HALDI & WYNN (1963) e DOTTAVIANO *et alii* (1974), mostrando que os ratos machos sialoadenectomizados realmente ganham menos peso que as fêmeas sialoadenectomizadas, em relação aos seus controles.

RESUMO E CONCLUSÕES

RESUMO E CONCLUSÕES

Usamos no presente trabalho 40 ratos (*Rattus norvegicus albinos*, linhagem Wistar) lactentes de ambos os sexos, para estudar os efeitos da sialoadenectomia (ablação das glândulas submandibulares e sublinguais) sobre a sobrevivência e o crescimento, durante trinta e oito dias.

Os animais foram distribuídos em três grupos: grupo I - sialoadenectomizados; grupo II - normal - tratado e grupo III - controle normal. Todos os animais dos grupos I e II foram separados da mãe aos sete dias de idade e, receberam durante quatorze dias consecutivos, a dieta substitutiva do leite materno, por intubação gástrica e, depois foram alimentados *ad libitum*. Os animais do grupo III foram mantidos com a mãe.

Pelos resultados obtidos nos experimentos realizados concluímos que:

1. A taxa de sobrevivência dos ratos sialoa-

denectomizados, normais tratados e controles normais, de ambos os sexos, foi de 100%.

2. Os machos sialoadenectomizados apresentaram estatisticamente menor ganho de peso que os normais tratados e normais controle, enquanto entre esses últimos houve diferença porém, estatisticamente não significativa.

3. As fêmeas sialoadenectomizadas e normais tratadas não apresentaram diferença significativa de ganho de peso, porém, esses dois grupos tiveram ganho de peso inferior ao dos normais controle.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

01. ALVAREZ-BUYLLA, R.; MANDOKI, J. & ALVAREZ BUYLLA, E.
R. de. Survival comparison between totally hypophysectomized dogs and dogs with a transplant of salivary gland in the place of the extirpated hypophysis. Acta physiol. latinoam., 20: 24 - 27, 1970.
02. BARTHE, D.; CHATELUT, J.; DARNAULT, J.; DUBOSCQ, Y. & DAVID, J.F. Effects de l'ablation des glandes sous-maxillaires et de l'administration de "Parotine" sur la croissance du jeune rat. C. r. Séanc. Soc. Biol., 164 (8-9): 1680-1684, 1970.
03. BARTHE, D. & DAVID, J.F. Effets de l'ablation des glandes sous-maxillaires et de la destruction de leurs canaux excréteurs sur la survie et la croissance du rat nouveau-né. C. r. Séanc. Soc. Biol., 165: 570-574, 1971.

04. BIXLER, D.; WEBSTER, R.C. & MUHLER, J.C. The histochemistry of the adrenal cortex following removal of the major salivary glands. J. dent. Res., 35: 547-554, 1956.
05. BURINI, R.C. Influência da carência dietética de potássio, provocada em ratos jovens, sobre o ganho de peso e o metabolismo de nitrogênio, sódio e potássio; estudo de balanço de metabólico, plasma e músculo esquelético; teor muscular de ácidos nucleicos. Botucatu, 1973. (Tese - Faculdade de Ciências Médicas e Biológicas).
06. CHEYNE, D. A description of the salivary gland of the rat a procedure for their extirpation. J. dent. Res., 18: 457-468, 1939.
07. COHEN, S. Purification of a nerve-growth promoting protein from the mouse salivary gland and its neuro-cytotoxic antiserum. Proc. natn. Acad. Sci. U.S.A., 46(3): 302-311, 1960.
08. COHEN, S. Isolation of a mouse submaxillary gland protein accelerating incisor eruption and eyelid opening in the new-born animal. J. biol. Chem., 237: 1555-1562, 1962.
09. DOTTAVIANO, E.J.; RAMALHO, A.C.; PAIVA, C.E.N. & BOSCHERO, A.C. Sialoadenectomia, crescimento ponde -

- ral e dimorfismo sexual em ratos. Ciênc. Cult., São Paulo, 26: 324-325, 1974. (Suplemento).
10. EPSTEIN, A.N.; BLASS, E.M.; BATSHAW, M.L. & PARKS, A.D. The vital role of saliva as a mechanical sealant for suckling in the rat. Physiol. Behav. 5: 1395-1398, 1970.
11. FUKUDA, M. Histochemical studies on the rat submaxillary gland during post-natal development. Histochemie, 8: 342-354, 1967.
12. GARCIA, A.R.; BLACKARD, W.G. & TRAIL, M.L. Submaxillary gland removal; effects on glucose and insulin homeostasis. Archs. Otolar., 93: 597-598, 1971.
13. GODLOWSKI, Z.Z. Endocrine function of submaxillary gland. Archs. otolar., 75: 346-363, 1962.
14. GODLOWSKI, Z.Z. & CALANDRA, J.C. Salivary glands as endocrine organs. J. Appl. Physiol., 15: 101 - 105, 1960.
15. GUIMARAES, A.; BLUMEN, G. & TEIXEIRA, D. Observações preliminares sobre o efeito do parotin e o crescimento das glândulas salivares maiores de ratos. Ciênc. Cult., S. Paulo, 29: 579, 1977. (Suplemento).

16. HALDI, J. & WYNN, W. Effects of sialoadenectomy on weight gain and body composition of albino rats. J. dent. Res., 42(1): 11-15, 1963.
17. HOUSSAY, A.B. & HARFIN, J.F. Effects of estrogens on submaxillary glands in mice. J. dent. Res., 52: 1051-1053, 1973.
18. ITO, Y.; KAWADA, J. & KURATA, M. Studies on the physiological chemistry of the salivary glands XLVI , on the functional correlation between salivary glands and other endocrine organs II; The effects of some antithyroid drugs on the salivary glands of rats. Endocr. jap., 7(2): 157-166, 1960.
19. ITO, Y. & MIZUTANI, A. Studies on the salivary gland hormones. Report XIII: Purification of parotin, the pH 5,4 precipitate from bovine parotid glands by fractional precipitation with sodium sulfate. J. Pharm. Soc. Japan, 72: 239-248, 1952. Apud Oga-ta, T. 1955.
20. JACOBY, F. & LEESON, C.R. The post-natal development of the rat submaxillary gland. J. Anat., 93: 201 - 216, 1959.
21. KAY, R.N.B. The development of parotid salivary secretion in young goats. J. Physiol., 150: 538-545 , 1960.

22. KOSTULAK, A. The effects of ACTH and cortisone on the behaviour of arylsulphatases in the salivary glands of white rat. Acta histochem., 58: 63-67, 1977.
23. LAWSON, K.A. Morphogenesis and functional differentiation of the rat parotid gland "in vivo" and "in vitro". J. Embryol. exp. Morph., 24: 411-424, 1970.
24. LEESON, C.E. & JACOBY, F. An electron microscopic study on the rat submaxillary gland during its post-natal development and in the adult. J. Anat., 93: 287-293, 1959.
25. LEHNINGER, A.L. Lipids, lipoproteins, and membranes . In: _____. Biochemistry. The molecular basis of cell structure and function. 2.ed. New York, Worth Publishers, 1976. cap. 11, p.281-282.
26. LIS, M.; BOUCHER, R.; CHRETIEN, M. & GENEST, J. Dependence of tonin activity in rat submaxillary gland on growth hormone and testosterone. Am. J. Physiol., 232(5): E522-E525, 1977.
27. LIU, F.T.Y. & LIN, H.S. Role of insulin in body growth and the growth of salivary and endocrine glands in rats. J. dent. Res., 48: 559-567, 1969a.
28. LIU, F.T.Y. & LIN, H.S. Effect of progesterone on growth and development of submandibular glands in

- female rats. J. dent. Res., 48: 943-946, 1969b.
29. LOPEZ ARRANZ, I. Correlacion endocrina glandulas salivales-testiculos. An. Esp. Odontostom., 34(3): 215-226, 1975.
30. LOUSSOUARN, D. Effets de l'exérèse des glandes sous-maxillaires sur la croissance du jeune rat mâle. Revue Stomat., 73(8): 627-631, 1972.
31. LYON, M.F.; HENDRY, I. & SHORT, R.V. The submaxillary glands as test organs for response to androgen in mice with testicular feminization. J. Endocr., 58: 357-362, 1973.
32. MANNA, L. & HAUGE, S.M. A possible relationship of vitamina B₁₃ to orotic acid. J. Biol. Chem., 202: 91-96, 1953. Apud Burini, R.C., 1973.
33. MARTINEZ-HERNANDEZ, A.; NAKANE, P.K. & PIERCE, G. B. Relationships between the submaxillary gland and the thymus. Lab. Invest., 29: 266-271, 1973.
34. MUDD, B.D. & WHITE, S.C. Sexual dimorphism in the rat submandibular gland. J. dent. Res., 54(1):193, 1975.
35. NARASIMHAN Jr., M.J. & GANLA, V.G. The regulatory influence of the submandibular salivary gland on

- growth. Annals Endocr., 29(5): 513-522, 1968.
36. OGATA, A.; ITO, Y.; NOZAKI, Y. & OKABE, S. Studies on the salivary gland hormone. Report I-XII. J. pharm. Soc. Japan, 64: 79-88, 114-126, 146-153, 325-349, 1944; Ibid, 65: 9-47, 1945. Apud Ogata, T. 1945.
37. OGATA, T. The internal secretion of salivary gland. Endocr. jap., 2(4): 247-261, 1955.
38. OGATA, T. Ueber die innere sekretion der mundspeicheldrüsen. In: Transaction of the 99 Congress Farm. Eastern Assoc. of Tropical Medical Nanking, 2: 709-712, 1934. Apud Ogata, T. 1955.
39. OLIVER, W.J. & GROSS, F. Effect of testosterone and duct ligation on submaxillary renin-like principle. Am. J. Physiol., 213: 341-346, 1967.
40. OSÓRIO, J.A. & KRAEMER, A. Effect of parotin on mice body weight. Rev. Bras. Biol., 24(4): 451-453, 1964.
41. OSÓRIO, J.A. & KRAEMER, A. Stimulative effect of parotin on the body weight of sialoadenectomized rats. Rev. bras. Biol., 25(3): 233-236, 1965.
42. PATTERSON, J.; LLOYD, L.C. & TITCHEN, D.A. Secretory and structural changes in the parotid salivary

- gland of sheep and lambs after parasympathetic denervation. Quart. J. Exp. Physiol., 60: 223-232, 1975.
43. PINHEIRO, C.E.; TÁRZIA, O. & TAGA, E.M. The influence of thyroid gland on carbonic anhydrase activity of mouse submandibular gland. Rev. bras. pesq. Méd. Biol., 5: 7-10, 1972.
44. PLAGGE, J.C. The vital importance of salivary gland to new-born rats. Am. J. Physiol., 124: 612-619, 1938.
45. RAMALHO, A.C. Alterações testiculares em ratos siadenectomizados. Campinas, UNICAMP, 1979. (Tese de Livre Docência). Instituto de Biologia da UNICAMP.
46. ROBERTS, M.L. Testosterone-induced accumulation of epidermal growth factor in the submandibular salivary glands of mice assessed by radioimmunoassay. Biochem. Pharmacol., 23: 3305-3308, 1974.
47. SAAD, W.A.; UTRILLA, L.S.; SABBAG, Y. & CAMARGO, L.A.A. Efeito de lesões hipotalâmicas sobre as glândulas salivares; estudo histoquímico. Ciências Cult., S. Paulo, 28: 387, 1976. (Suplemento).

48. SCHNEYER, C.A. & SCHNEYER, L.H. Secretion by salivary glands deficient in acini. Am. J. Physiol., 201: 939-942, 1961.
49. SCHNEYER, C.A. & SHACKLEFORD, J.M. Accelerated development of salivary glands of early postnatal rats following isoproterenol. Proc. Soc. exp. Biol. Med., 112: 320-324, 1963.
50. SCHNEYER, C.A. & HALL, H.D. Time course and autonomic regulation of development of secretory function of rat parotid. Am. J. Physiol., 214: 808-813, 1968.
51. SCHNEYER, C.A. & HALL, H.D. Growth pattern of postnatally developing rat parotid gland. Proc. Soc. exp. Biol. Med., 130: 603-607, 1969.
52. SHAFER, W.G. & MUHLER, J.C. Effect of gonadectomy and sex hormones on the structure of the rat salivary glands. J. dent. Res., 32: 262-268, 1953.
53. SHAFER, W.G. & MUHLER, J.C. The effect of desiccated thyroid, propylthiouracil, testosterone and fluorine, on the submaxillary glands of the rat. J. dent. Res., 35: 922-929, 1956.
54. SHAFER, W.G. & MUHLER, J.C. Endocrine influences upon the salivary glands. Ann. N. Y. Acad. Sci., 35: 215-227, 1960.

55. SHIBA, R.; HAMADA, T. & KAWAKTSU, K. Histochemical and electron microscopical studies on the effect of duct ligation of rat salivary glands. Archs. oral Biol., 17: 299-309, 1972.
56. STRICKER, E.M. Influence of saliva on feeding behavior in the rat. J. Comp. Physiol. Psychol., 70: 103-112, 1970.
57. SUAREZ-NUÑEZ, J.M. Effect of removal of submaxillary glands on the thyroid gland. J. dent. Res., 49: 454, 1970.
58. TEIXEIRA, D. & ALMEIDA COSTA, D.A. de. Efeitos da administração de hormônios anabolizantes e vitaminas em ratos jovens sialoadenectomizados. Ciên. Cult., São Paulo, 22: 345, 1970. (Suplemento).
59. TEIXEIRA, D.; PAIVA, C.E.N. de & ALMEIDA COSTA, D. A. de. Glândulas salivares; sua necessidade à sobrevivência de ratos jovens. Ciên. Cult., S. Paulo, 22: 344, 1970a. (Suplemento).
60. TEIXEIRA, D.; PAIVA, C.E.N. de & ALMEIDA COSTA, D. A. de. Efeitos do seccionamento dos ductos das glândulas submandibulares e sublinguais em ratos jovens. Ciên. Cult., S. Paulo, 22: 344, 1970b. (Suplemento).

61. TEIXEIRA, D.; RAMALHO, A.C.; DOTTAVIDIANO, E.J. & BUENO, R.D.P. Influência das glândulas salivares no crescimento neuro-cranial de ratos jovens. Ciê. Cult., S. Paulo, 22: 346, 1970. (Suplemento).
62. TEIXEIRA, D.; RAMALHO, A.C.; BUENO, R.D.P. & PAIVA, C. E. N. Alterações do crescimento crânio visceral em ratos jovens sialoadenectomizados. Revta. bras. pesq. Méd. Biol., 6: 149-157, 1973.
63. UTRILLA, L.S.; SAAD, W.A.; SABBAG, Y.; CAMARGO, L. A. A. & ROSLINDO, N.C. Estudo comparativo entre a vesícula seminal e as glândulas salivares de ratos castrados e castrados tratados com o propionato de testosterona. Ciê. Cult., S. Paulo, 28: 386-387, 1976. (Suplemento).
64. VILARINO, J.F. Influência das glândulas salivares submandibulares e sublinguais na ingestão láctea em ratos. Campinas, 1976. (Tese - UNICAMP, Instituto de Biologia).
65. VILLELA, G.G.; BACILA, M. & TASTALDI, H. Bioquímica da vida vegetativa. In: _____. Bioquímica. 3.ed. Rio de Janeiro, Guanabara Koogan, 1976. Cap. 11, p. 543.
66. VAGNER, E.M.; BIXLER, D.; MUHLER, J.C. & SHAFER, W.G. Nutritional studies on desalivated rats. J. Dent. Res., 39(4): 689-690, 1960.

67. WASE, A.W. & FENG, Y.S.L. Effect of sialoadenectomy on growth. Fed. Proc., 15: 379-380, 1956.
68. WILSON, A.D. The influence of diet on the development of parotid salivation and the rumen of lamb. Aust. J. agric. Res., 14: 226-238, 1963. Apud Patterson, J. et alii, 1975.
69. WYNN, W.; HALDI, J. & LAW, M.L. Effect of sialoadenectomy on growth and body composition of rats. J. dent. Res., 40(4): 688-689, 1961.
70. ZEBROWSKI, E.J. Effect of castration and androgen supplementation on sialic acid levels in rat submandibular gland. Archs. oral Biol., 18: 567-570, 1973.