

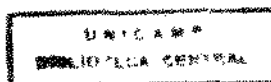
CÁSSIO ODNEI GARCIA MUNHOZ

Cirurgião Dentista

ESTUDO HISTOQUÍMICO COMPARATIVO (PROTEÍNAS E CARBOIDRATOS) DAS  
GLÂNDULAS SALIVARES MAIORES DE TRÊS ORDENS DE MAMÍFEROS (ARTIO-  
DÁCTILOS, CARNÍVOROS E ROEDORES.

Tese apresentada à Faculdade  
de Odontologia de Piracicaba da  
Universidade de Campinas, para a  
obtenção do grau de Doutor em  
Ciências (Morfologia)

PIRACICABA  
1967



A meus pais

A minha esposa Cecília e ao meu  
filho Erich.

## AGRADECIMENTOS

Ao Exmo. Sr. Prof. Dr. CARLOS HENRIQUE ROBERTSON LIBERAL LI, ilustre Diretor da Faculdade de Odontologia de Piracicaba, expressamos o nosso reconhecimento, pelo apoio que sempre tem dispensado àqueles que se dedicam ao ensino e à pesquisa.

Ao Prof. Dr. JOSÉ MERZEL, mestre e amigo, a quem muito devemos na nossa formação científica, externamos a nossa gratidão, pela confiança em nós depositada. A ele o nosso muito obrigado.

Ao Prof. Dr. WALTER AUGUST HADLER, pela sua segura orientação no desenvolvimento deste trabalho, os nossos sinceros agradecimentos.

Queremos, também, estender os nossos agradecimentos aos colegas da Cadeira de Morfologia, Prof. Assistente Dr. ANTONIO CARLOS FERRAZ CORRÊA e Instrutor MATHIAS VITTI pela colaboração prestada na elaboração desta tese e, ao Sr. PAULO DO AMARAL pelo desempenho da parte técnica.

Ao Dr. ANTONIO MESSIAS GALDINO pela correção do vernáculo; ao Sr. IVES ANTONIO CORAZZA pelo trabalho de datilografia; ao Sr. SIDNEY BARBOSA DE SOUZA pelo trabalho fotográfico e, ao Sr. SEBASTIÃO RODRIGUES DE BARROS pela impressão das matrizes.

Agradecemos, também, a todos aqueles que, de uma maneira ou de outra, colaboraram para que este trabalho se tornasse realidade.

\*

\* \*

## Í N D I C E

|                                                                                                                                                                                                    | pg. |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| 1 - INTRODUÇÃO . . . . .                                                                                                                                                                           | 6   |
| 2 - MATERIAL E MÉTODOS . . . . .                                                                                                                                                                   | 15  |
| 2.1 - Material . . . . .                                                                                                                                                                           | 15  |
| 2.2 - Métodos . . . . .                                                                                                                                                                            | 16  |
| A - Histoquímica de mucopolissacárides . . . . .                                                                                                                                                   | 16  |
| 1 - Mucopolissacárides neutros . . . . .                                                                                                                                                           | 16  |
| 2 - Mucopolissacárides ácidos . . . . .                                                                                                                                                            | 17  |
| B - Histoquímica de proteínas . . . . .                                                                                                                                                            | 18  |
| 3 - RESULTADOS . . . . .                                                                                                                                                                           | 20  |
| 3.1 - Tabelas dos resultados para glúcides obtidos nas glândulas Parótida, Submandibular e Sublingual de Artiodáctilos, Carnívoros e Roedores . . . . .                                            | 35  |
| 3.2 - Tabelas dos resultados dos grupos reativos de proteínas obtidos nas glândulas Parótida, Submandibular e Sublingual de Artiodáctilos, Carnívoros e Roedores . . . . .                         | 47  |
| 3.3 - Tabelas de síntese dos resultados de glúcides e de grupos reativos de proteínas obtidos nas glândulas Parótida, Submandibular e Sublingual de Artiodáctilos, Carnívoros e Roedores . . . . . | 58  |
| 3.4 - Documentação fotomicrográfica . . . . .                                                                                                                                                      | 63  |
| 4 - DISCUSSÃO . . . . .                                                                                                                                                                            | 66  |
| 5 - CONCLUSÕES . . . . .                                                                                                                                                                           | 94  |
| 6 - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS . . . . .                                                                                                                                                           | 98  |
| 7 - APÊNDICES I e II . . . . .                                                                                                                                                                     | 109 |

\*

\* \*

## 1 - INTRODUÇÃO

A parótida, a submandibular e a sublingual, constituem o grupo principal de glândulas anexas à cavidade bucal, as quais, em conjunto, secretam a saliva. Dessas três glândulas, a parótida é constituída por ácinos, morfológicamente considerados serosos, na maioria dos mamíferos, enquanto que, a submandibular e a sublingual são constituídas, predominantemente, por ácinos definidos como mucosos, com base em sua morfologia.

A classificação das glândulas salivares, em serosas e mucosas, data do século passado e foi feita, com base nos caracteres físicos da secreção, por A. HENDENHAIN (1870). Posteriormente, êsse conceito passou a ser adotado, também, pelos morfologistas, - que tentaram reconhecer a estrutura química e físico-química, do material contido nos ácinos serosos e mucosos, através de corantes ácidos e básicos. Foi verificada, com o emprêgo desses corantes, comportamento diferente entre êsses dois tipos de ácinos; os serosos apresentavam grânulos acidófilos que eram admitidos como de natureza proteínica; os mucosos coravam-se por certos corantes básicos (mucicarmim, muciemateína e hematoxilina férrica), basofilia compatível com a presença de mucinas.

As pesquisas que se desenvolveram, com o emprêgo desses corantes, permitiram verificar a existência de elementos serosos com afinidade tanto para corantes ácidos quanto básicos, e mostraram, também, que ácinos considerados mucosos, quanto aos caracteres morfológicos, não se coravam pelos corantes seletivos de muco. As células serosas com afinidade para corantes ácidos e básicos, foram denominadas tropocromas, por BENSLEY (1908) ou anfóteras, por SCHAFFER (1908), ou anfítropas, por M. HEINDENHAIN - (1920). As células mucosas, que não se coravam pelos corantes do muco, foram denominadas células mucóides (SCHAFFER - 1927).

Essas foram as primeiras tentativas efetuadas com a finalidade de definir as células serosas e mucosas cujo comportamento tintorial era diferente do apresentado pelos elementos típicos.

Posteriormente, STORMONT (1932), baseado em dados da literatura, classificou os ácinos glandulares, pelo seu aspecto morfológico e pelas características funcionais das células, em serosos e mucosos. Dentre os serosos, considerou dois tipos: o primeiro constituído por células serozimogênicas que apresentavam, morfológicamente, semelhanças com as células serosas do pâncreas e que, além disso, secretavam substâncias de natureza enzimica; o segundo, reunia as glândulas contendo ácinos serosos dotados de propriedades funcionais diferentes, as quais foram denominadas glândulas serosas especiais. As glândulas mucosas, foram definidas como aquelas que produziam substâncias de natureza glicoproteínica.

Embora, desde essa época se notassem diferenças quanto ao comportamento tintorial dos ácinos serosos e mucosos e, se verificassem, também, ácinos serosos que se coravam pelos "corantes do muco" e células mucosas não coradas pelos corantes seletivos, era difícil estabelecer as causas dessas diferenças. Essa situação, gradativamente, alterou-se com o desenvolvimento de novas técnicas de pesquisa, destacando-se o emprêgo de métodos histoquímicos para a demonstração de carboidratos e proteínas. Assim, a metacromasia, nos seus primórdios usada sem significação definida, foi empregada para caracterizar substâncias de alto peso molecular, contendo radicais sulfato (LISON - 1935). Uma vez estabelecido o significado da metacromasia, foi possível a interpretação dos resultados subsequentes, obtidos com tal método de coloração, aplicada no estudo das glândulas salivares. Assim, foi possível precisar a distinção entre células mucosas e mucóides (BIGNARDI - 1939 a, 1939 b, 1939 c, 1940 a, 1940 b, 1940 c, 1940 d). Este autor notou que as células caliciformes (mucosas) do intestino, se coravam metacromáticamente, enquanto que, as células mucóides das glândulas de Brünner, não se coravam. Contudo, o tratamento das células mucóides por ácido crômico ou sulfúrico, induzia metacromasia. Posteriormente, usando a reação de Bauer, BIGNARDI (1940) notou reação positiva nas células mucóides. Interpretou a metacromasia dos ácinos mucosos como devida à presença de mucopolissacá-

rides ácidos; admitiu que as células mucóides continham carboidratos não ácidos, que se tornavam metacromáticos após esterificação com o ácido sulfúrico, ou oxidação com o ácido crômico. Demonstrava-se, assim, que os elementos mucóides, não metacromáticos, secretavam um tipo de mucina cujas características histoquímicas diferiam do produto secretado pelas células mucosas.

Grande impulso sofreu a histoquímica dos carboidratos, com o aparecimento da reação do ácido periódico-reativo de Schiff, estabelecida por McMANUS (1946) e HOTCHKISS (1948). Com essa reação, LEBLOND (1950) demonstrou a presença de carboidratos nos ácinos serosos da parótida do rato, anteriormente considerados como "serosos puros". Tais ácinos, foram considerados pelo A. como intermediários entre os serosos puros (pâncreas exócrino) e os mucosos e, classificados como seromucóides. Outras observações histoquímicas, efetuadas com a reação do PAS, realizadas por LILLIE (1950), na parótida do homem, do cão, do coelho e do rato, por JUNQUEIRA e col. (1951), na parótida de vários mamíferos, por DEWEY (1958), na parótida do rato e por SHKLAR e col. (1958), na parótida do camundongo, confirmaram as observações de LEBLOND (1950).

Através do emprego da reação do PAS, LEBLOND (1950) observou a presença de mucoproteínas na submandibular e sublingual do rato. JUNQUEIRA (1949), com a reação de Bauer, efetuada na submandibular do camundongo, demonstrou a natureza mucoproteínica do material contido nos ácinos mucosos dessa glândula. MATERAZZI & TRAVAGLINI (1960) confirmaram as observações de LEBLOND (1950), na submandibular do rato. Contudo, ROSENMAN e col. (1960), verificaram que o material PAS positivo, contido nos ácinos da submandibular do rato, correlacionava-se com a presença do glicogênio.

Outras pesquisas histoquímicas, realizadas em glândulas salivares, possibilitavam melhor conhecimento das mucinas epiteliais, em várias espécies de animais, uma vez que, além da reação do PAS, foram empregados corantes básicos. Assim, nos roedores, os resultados histoquímicos, obtidos por BOERNER-PATZELT (1956), na parótida, submandibular e sublingual do hamster, por

JACOBY & LEESON (1959), na submandibular e sublingual do rato, por SEIFERT (1960), na parótida, submandibular e sublingual do rato e camundongo, por PARKS (1961), na parótida do rato e do camundongo, por BIGNARDI (1961), na parótida do camundongo e do rato e por LEESON & BOTH (1961), na sublingual do rato, evidenciaram, na parótida, a presença de apenas mucopolissacárides PAS positivos (neutros) e na sublingual e submandibular mucopolissacárides neutros e ácidos (basófilos). Convém frisar, no entanto, que a basofilia dos ácinos da submandibular dos roedores era sempre menos intensa do que a dos ácinos da sublingual. SEIFERT (1960), em virtude das características histoquímicas dos ácinos da submandibular do camundongo e do rato, considerou essas secreções como "semi-ácidas" e classificou esses ácinos como mucóides. QUINTARELLI & CHAUNCEY (1960) verificaram também, com a safranina O, que as células serosas especiais da submandibular do rato apresentavam metacromasia fraca e inconstante, enquanto que os ácinos mucosos da submandibular do boi, do cão e do porco, eram intensamente metacromáticos.

SPICER (1960) demonstrou, histoquimicamente, que a submandibular e a sublingual do rato e do camundongo continham mucopolissacárides ácidos, destituídos de radicais sulfato. Essa observação não concordava com a de BÉLANGER (1954), que havia demonstrado a incorporação de enxofre radioativo, na sublingual e submandibular de ratos, com 4 a 12 dias de idade. No entanto, confirmava as observações de CURRAN & KENNEDY (1955), relativamente à ausência de incorporação de enxofre radioativo nas glândulas salivares do camundongo e a de SPICER e col. (1961) na sublingual e submandibular do camundongo. Os grupos ácidos carboxílicos, presentes na submandibular e sublingual dos roedores, foram correlacionados com o ácido siálico por SPICER & WARREN (1960), WARREN & SPICER (1961), no rato e camundongo, QUINTARELLI e col. (1961) e TUROLLA & MARTINAZZI (1963) no rato e SPICER (1963), FAVA DE MORAES (1964) e SPICER & DUVENCI (1964), no rato, camundongo e hamster. Cumpre salientar que, no entanto, na sublingual do hamster, FAVA DE MORAES (1964) e SPICER & DUVENCI (1964), evidenciaram, além do ácido siálico, mucopolissacárides ácidos, contendo grupo

sulfato.

Embora a maioria dos AA. tenha demonstrado a presença do ácido siálico e considerado êsse ácido responsável pela basofilia dos ácinos da sublingual e submandibular do rato, FAVA DE MORAES & VILLA (1963), VILLA & FAVA DE MORAES (1964) e RAVETTO e col. (1966), demonstraram a presença de mucopolissacárides contendo grupos carboxílicos e sulfato na sublingual e submandibular do rato. Os grupos carboxílicos da sublingual do rato foram correlacionados com a presença do ácido hialurônico por FAVA DE MORAES & VILLA (1963). Convém lembrar, no entanto, que QUINTARELLI (1963) e FAVA DE MORAES (1964) não conseguiram demonstrar a presença do ácido hiálarônico nas secreções epiteliais. Da mesma forma, SPICER & col. (1964) e SPICER e DUVENCI (1964) não conseguiram incorporação do enxôfre radioativo na sublingual e submandibular de rato e camundongo adultos.

Na parótida dos roedores, a maioria das investigações de natureza histoquímica, demonstraram apenas a presença de mucopolissacárides neutros. Contudo, SPICER & DUVENCI (1964), na parótida do hamster e FAVA DE MORAES (1964), na parótida do camundongo, do rato e do hamster, demonstraram a presença, também, de ácido siálico. Na parótida dos carnívoros a presença de mucopolissacárides ácidos, foi demonstrada histoquimicamente através da basofilia por AURELI e col. (1960) na parótida do cão, por BIGNARDI (1961), SHACKLEFORD & KLAPPER (1962), na parótida do cão e gato. A basofilia foi considerada como dependente da presença do ácido siálico por BIGNARDI e col. (1962) e QUINTARELLI (1963) na parótida do cão, e por FAVA DE MORAES (1964), na parótida do cão e do gato. Êsses resultados histoquímicos, relativos à presença do ácido siálico na parótida, confirmam as observações de AURELI e col. (1960), os quais, através de métodos bioquímicos, determinaram que os mucopolissacárides ácidos, da parótida de vários mamíferos, continham ácido siálico.

Na parótida dos artiodáctilos (boi e porco), SHACKLEFORD & KLAPPER (1962) demonstraram a presença, apenas, de mucopolissacárides neutros, localizados nos ácinos. Contudo, entre as célu--

las de revestimento dos ductos interlobulares evidenciaram células caliciformes, dotadas tanto de mucopolissacárides ácidos quanto neutros. Ainda na parótida do boi, MORSELLI & PERUCCI (1963) e evidenciaram a presença de mucopolissacárides neutros e ácidos, associados; nos ductos interlobulares verificaram, também, a presença de células caliciformes com as mesmas propriedades histoquímicas.

Os resultados histoquímicos obtidos por AURELI & MATERAZZI (1960) na submandibular do cão, por SHACKLEFORD & KLAPPER (1962) na submandibular e sublingual do cão, gato, boi e porco, demonstram a presença de mucopolissacárides ácidos e neutros associados.

A presença de mucopolissacárides ácidos na submandibular do boi foi correlacionada com o ácido siálico por QUINTARELLI e col. (1961), da mesma forma QUINTARELLI (1963) demonstrou a presença desse ácido na submandibular do cão.

FAVA DE MORAES (1964), alicerçado em resultados histoquímicos, concluiu que as glândulas submandibular e sublingual dos carnívoros (cão e gato) secretam ácido siálico e mucopolissacárides neutros; a presença de mucopolissacárides ácidos sulfatados foi notada na glândula sublingual e submandibular do cão e do gato.

LEPPI & SPICER (1967) observaram que os ácinos mucosos da glândula submandibular do porco e sublingual do boi e do porco, perdem a basofilia após tratamento pela sialidase. Períodos maiores de tratamento eliminavam também a basofilia dos ácinos mucosos da submandibular do boi. Entretanto, alguns ácinos da glândula sublingual do porco, resistiram a esse tratamento, sugerindo a presença de sulfomucinas.

A determinação da presença de produtos de natureza proteínica, na secreção das glândulas salivares, outrora cogitada pela oxifilia de seus grânulos, pôde ser confirmada através de métodos histoquímicos.

Assim, em roedores, foi estabelecida a presença do grupo indol, nos ácinos e ductos da parótida do camundongo, por GLEN

NER & LILLIE (1957); do grupo fenol, nos grânulos de zimogênio da parótida do rato e do camundongo, por LILLIE (1957); de grupos sulfidril e dissulfeto, na parótida do rato, do camundongo e do hamster, por KAWAKATSU & col. (1962); de grupos sulfidril mais dissulfeto, nos ácidos da parótida do rato, por DEGUCHI (1964); e de grupos indol, fenol, sulfidril e dissulfeto, nos ácidos da parótida do hamster, por KRONMAN & CHAUNCEY (1965).

Nos ácidos da parótida do cão, a existência de grupos - sulfidril e dissulfeto foi demonstrada por KAWAKATSU e col. (1962) e a presença do grupo fenol por AURELI e col. (1960).

Ainda nos roedores, foi demonstrada a existência dos seguintes grupos reativos de proteínas: fenol e dissulfeto, nos ductos granulosos da submandibular do camundongo, por JUNQUEIRA (1949) e JUNQUEIRA e col. (1949); sulfidril e dissulfeto, nos ácidos e ductos granulosos da submandibular do rato e do hamster, por BARNETT & SELIGMAN (1954); indol, nos ductos granulosos da submandibular do rato e do camundongo, por GLENNER & LILLIE (1957); sulfidril e dissulfeto, nos ácidos e ductos granulosos da submandibular do rato, do camundongo e do hamster, por KAWAKATSU e col. (1962); sulfidril e dissulfeto, nos ductos granulosos da submandibular do rato, por TUROLLA & MARTINAZZI (1963); sulfidril, indol e fenol, nos ácidos, ductos granulosos e ductos intercalares da submandibular do rato, por KRONMAN (1963 a); fenol e indol, nos ductos da submandibular do hamster, por KRONMAN (1963 b) e por KRONMAN & CHAUNCEY (1965); indol e fenol, nos ductos granulosos da submandibular do rato, por KRONMAN & CHAUNCEY (1964); fenol, indol e sulfidril, nos ductos granulosos da submandibular do camundongo, por KRONMAN & SPINALE (1965) e KRONMAN & LEVENTHAL (1967).

Na glândula submandibular do cão, a existência de grupos sulfidril e dissulfeto, foi estabelecida por KAWAKATSU e col. (1962); nos ácidos, a reação foi fraca, porém, as células dos ductos estriados reagem fortemente. A presença de grupo fenol, também, na submandibular do cão, foi demonstrada por AURELI & MATE-RAZZI (1960), ao nível dos crescentes.

Na glândula sublingual do rato e do hamster, a presença

de grupos sulfidríla e dissulfeto foi estabelecida por BARNETT & SELIGMAN (1954), localizados na porção basal das células acinosas e nas células dos ductos. Contudo, KAWAKATSU e col. (1962) registraram a presença desses grupos, não apenas na porção basal das células acinosas, como, também, nos crescentes da sublingual do rato, do camundongo e do hamster.

KRONMAN & SPINALE (1965) verificaram, na glândula sublingual do camundongo, reação positiva aos testes indicativos de grupos indol, fenol e sulfidríla, na porção basal das células acinosas e nas células dos ductos.

Na sublingual do cão, a presença de grupos sulfidríla e dissulfeto foi observada nos ácinos serosos, por KAWAKATSU e col. (1962).

Depreende-se, dos dados histoquímicos referidos, que os estudos realizados em glândulas salivares, baseados no emprego de testes topoquímicos para a demonstração de mucopolissacarídes e na incorporação de isótopos radioativos, muito contribuíram para o conhecimento dos constituintes de natureza mucopolissacarídica da secreção. Não obstante, muitas dúvidas ainda persistem, notadamente, no que concerne à identificação dos grupos ácidos, responsáveis pela afinidade da secreção para os corantes básicos. Por outro lado, os estudos referentes às substâncias de natureza proteínica, contidas nos ácinos e ductos glandulares, proporcionaram dados histoquímicos, que complementam os resultados concernentes aos mucopolissacarídes, permitindo melhor caracterização das células glandulares.

Baseado nos resultados histoquímicos, foram efetuadas tentativas de classificação das glândulas salivares. Assim, SHACKLEFORD & KLAPPER (1962) e SHACKLEFORD (1963) consideraram três tipos de glândulas salivares, que são: mucosas, serosas e seromucosas. Estes três tipos foram definidos com base na reação do PAS, na captura do ferro coloidal e na basofilia ao azul de alcian. - MUNGER (1964), usando critério semelhante, classificou, também, as glândulas salivares nos três tipos assinalados.

Ao julgar pela classificação proposta pelos AA. ante-

riormente referidos, a utilização de dados que permitem caracterizar histoquimicamente as glândulas salivares, pouco contribuiu para ampliar a classificação dessas glândulas, efetuada através da caracterização morfológica. O critério histoquímico empregado, no entanto, permitiu conceituar melhor, as classificações propostas com base nos caracteres histológicos e funcionais, uma vez que, estabeleceu a natureza dos mucopolissacárides responsáveis pela reatividade histoquímica; permitiu, além disso, demonstrar que as classificações baseadas no critério morfológico, nem sempre coincidem com as estabelecidas sob fundamento histoquímico, o que, aliás, foi assinalado por FAVA DE MORAES (1964). No entanto, as diferenças quanto à reatividade histoquímica dos diversos tipos de glândulas salivares, nas várias espécies de animais estudadas pelos autores citados, sugerem a possibilidade de se estabelecer - uma classificação destas glândulas, que inclua tanto as diferenças decorrentes do tipo glandular, quanto da espécie animal. Esta é uma das finalidades do presente trabalho, no qual será dada - igual importância ao estudo histoquímico dos mucopolissacárides e das proteínas, estudo este que será efetuado comparativamente nas glândulas salivares maiores de espécies pertencentes a três Ordens de mamíferos.

\*

\* \*

## 2 - MATERIAL E MÉTODOS

### 2.1 - MATERIAL

As glândulas salivares maiores - Parótida, Submandibular e Sublingual - de três Ordens de mamíferos (Artiodáctilos, Carnívoros e Roedores), constitui o material empregado neste trabalho. No quadro I procuramos, para facilidade de apresentação, agrupar os animais segundo a Ordem, Gênero e Espécie, assinalando o número de animais sacrificados e a forma pela qual foram sacrificados.

QUADRO I

| ORDEM               | GÊNERO E ESPÉCIE                       | Nº | TIPO DE SACRIFÍCIO   |
|---------------------|----------------------------------------|----|----------------------|
| <u>ARTIODACTYLA</u> | <u>Bos taurus</u> * e **               | 3  | Golpe occipital      |
|                     | <u>Sus scrofa</u> * e **               | 3  | Golpe frontal        |
| <u>CARNIVORA</u>    | <u>Canis familiaris</u>                | 3  | Nembutal(endovenosa) |
|                     | <u>Felis(Felis)domesticus</u>          | 3  | Anestesia com éter   |
| <u>RODENTIA</u>     | <u>Mus masculus (var.albinus)</u>      | 12 | Anestesia com éter   |
|                     | <u>Rattus norvergicus(var.albinus)</u> | 12 | Anestesia com éter   |
|                     | <u>Cricetus auratus</u>                | 12 | Anestesia com éter   |

\* - Animais gonadectomizados

\*\* - A morfologia das glândulas sublingual dos artiodáctilos é bastante confusa, uma vez que são formadas por diversos tipos de lóbulos, uns mais desenvolvidos e outros menos. Os lóbulos maiores são formados por ácinos, que contêm crescentes situados na sua porção basal; tais lóbulos se assemelham à glândula sublingual menor dos carnívoros. Os lóbulos menores são constituídos por ácinos de aspecto tubuloso (contendo crescentes na sua porção basal) e por ácinos serosos; êsses lóbulos se assemelham à glândula sublingual maior dos carnívoros. Os lóbulos menores foram considerados, por nós, como a glândula sublingual maior dos artiodáctilos.

Êsses animais, todos machos e adultos, foram alimentados da seguinte maneira: os artiodáctilos e os carnívoros conforme o hábito; os roedores, com ração balanceada "ad libitum". As glândulas salivares foram removidas imediatamente após o sacrifício, reduzidas a fragmentos e fixadas, durante 24 horas, em: a) formol-salino (formalina a 10% em solução de cloreto de sódio a 0,9%); formol-cálcio (formalina a 10% adicionada de 1% de cloreto de cálcio anidro); c) Alfac (álcool 95% - 85 ml; formalina - 10 ml; ácido acético - 5 ml). Outros fragmentos foram fixados durante 6 a 8 horas, no líquido de Helly. A fixação em formol-salino e em alfac foi efetuada a 4°C; os demais fixadores foram utilizados em temperatura ambiente. Após a fixação, os fragmentos foram incluídos em parafina, rotineiramente.

O material fixado em formol-salino foi usado para o estudo histoquímico das proteínas; para o estudo histoquímico dos mucopolissacárides, usou-se material fixado em formol cálcio, alfac e Helly. Além das glândulas salivares, fragmentos de língua, pâncreas, intestino delgado e grosso, de camundongo, foram também fixados e incluídos, com as glândulas salivares; serviram para controle das reações.

A microtomia foi realizada com espessura aproximada de 7 micra.

## 2.2 - MÉTODOS

Além dos métodos rotineiros de coloração (H.E. e tricrômico), que foram utilizados para orientação geral, várias técnicas histoquímicas foram empregadas.

### A - HISTOQUÍMICA DE MUCOPOLISSACÁRIDES

#### 1 - Mucopolissacárides neutros

Para a investigação de mucopolissacárides contendo grupos 1-2 glicol, utilizamos a reação do ácido periódico - reativo de Schiff, segundo McMANUS (1946), modificada por HOTCHKISS (1948). Esta reação foi empregada, também, em cortes previamente acetilados (esterificados), e em cortes acetilados e saponificados (McMA

NUS & CASON - 1950)(tratamento dos cortes acetilados por solução de KOH a 1%, em etanol a 80%). Além disso, a reação do PAS foi efetuada em cortes previamente tratados pela amilase salivar.

Com a finalidade de verificar se a reação positiva PAS decorria da presença de lípidos, essa reação foi também efetuada em cortes previamente tratados por metanol-clorofórmio (1:1), a 60°C, durante 2 horas; os resultados foram comparados com os obtidos em cortes não submetidos a êsse tratamento. Outros cortes foram submetidos ao reativo de Schiff, sem oxidação prévia pelo ácido periódico, para controle da reação do PAS.

## 2 - Mucopolissacárides ácidos

Para demonstração histoquímica dos mucopolissacárides - com grupos ácidos, usamos os seguintes corantes básicos: Azul de alcian em pH 1,0 (LEV & SPICER - 1964) e pH 2,5 (LISON - 1954); Safranina O a 0,1% em solução aquosa (LILLIE - 1954); Aldeído fucsina, segundo GABE (1953); reação da captura do ferro (MÜLLER-1955); solução de Azul de toluidina, em tampão citrato, pH 1,5 e em tampão fosfato, pH 2,2-3,4 e 5,6 (SASSO - 1961). Estas colorações foram usadas antes e após metilação (a metilação foi efetuada segundo FISCHER & LILLIE - 1954); foram empregadas, também, após metilação seguida de saponificação (esta última efetuada através do tratamento dos cortes metilados por solução de KOH a 1%, em etanol a 80% (SPICER & LILLIE - 1957)).

Além disso, os corantes básicos assinalados, foram usados após os cortes terem sofrido hidrólise ácida (QUINTARELLI e col. - 1961).

Cortes tratados por solução concentrada de ácido sulfúrico, a 0°C, durante 30 a 60 segundos (sulfatação, segundo BIGNARDI-1940) foram também corados por solução de azul de toluidina a 0,01%, nos seguintes pH: 1,5 - 2,2 - 3,4 e 5,6.

Outros cortes foram tratados por sialidase do *Vibrio colerae* (\*) QUINTARELLI e col. 1961), ou por solução de KOH a 1%,  
(\*) Sigma Chemical Company - Missouri - U.S.A.

em etanol a 80%, seguida de sialidase (SPICER & DUVENCI-1964) e, posteriormente, corados pela Aldeído fucsina (GABE-1953), ou por solução de azul de alcian em pH 2,5 (LISON-1954).

Finalmente, cortes previamente tratados pela hialuronidase testicular (\*\*)(LEPPI & STOWARD -1965), foram corados por solução de azul de alcian a 0,5%, em pH 2,5.

Para controle da basofilia ribonuclêica, cortes tratados previamente pela ribonuclease (LISON-1960), foram corados por solução a 0,1% de Azul de toluidina, em pH 4,5.

Para a investigação conjunta de mucopolissacárides ácidos e neutros, foi empregada a coloração pelo azul de alcian, seguida da reação do ácido periódico-reativo de Schiff, segundo McMANUS & MOWRY (1960).

Com a finalidade de complementar a tentativa de identificação dos grupos carboxílico e sulfato, foi feita a coloração com o Azul de alcian, seguida da coloração pela Aldeído fucsina, nesta sequência ou na sequência inversa (Aldeído fucsina-Azul de alcian), segundo SPICER & MEYER (1960).

## B - HISTOQUÍMICA DE PROTEÍNAS

Foram investigados seis diferentes grupos reativos de aminoácidos, através das técnicas que serão citadas em seguida; além disso, essas mesmas técnicas foram efetuadas após conveniente bloqueio dos grupos reativos. As reações empregadas foram as seguintes: 1) Ninhidrina-Schiff (YASUMA & ITCHIKAWA - 1953), para grupos  $\text{NH}_2$ ; 2) p-dimetilaminobenzaldeído-nitrito (ADAMS-1957), para grupos indol (triptofano); 3) ferricianeto férrico (ADAMS - 1956), para grupos SH; 4) ácido tioglicólico-ferricianeto férrico (ADAMS - 1956), para grupos SH e SS; 5) reação de Millon (BAKER - 1956), para o radical fenol (fenilalanina); 6) reação de Sakaguchi (modificada por BAKER - 1947), para o radical guanidil da arginina.

---

(\*\*) Wydase da Fontoura-Wyeth S/A

Os bloqueios foram feitos da seguinte maneira: 1) ácido nitroso (PEARSE - 1960), para grupos  $\text{NH}_2$ ; 2) ácido perfórmico (ADAMS - 1957), para grupos indol; 3) peróxido de hidrogênio (ENGEL & ZERLLOTI - 1964), acetato de fenil mercúrio (PEARSE - 1960), oxidação pelo iodo (BARNETT & SELIGMAN - 1954) e bicloreto de mercúrio (YAO - 1949), para grupo SH; 4) iodação (PEARSE - 1960), para grupo fenol; 5) benzoilação (PEARSE - 1960), para o radical guanidil da arginina.

As técnicas empregadas neste trabalho constam dos apêndices I e II, onde estão descritas minuciosamente.

\*  
\*   \*

### 3 - RESULTADOS

As tabelas de 1 a 18 contêm os resultados obtidos com o material estudado, expostos sob forma analítica. No entanto, procurou-se efetuar, também, uma síntese dos resultados, que consta das tabelas 19, 20 e 21. Essa forma de exposição teve como finalidade facilitar a comparação dos resultados.

O estudo histoquímico efetuado, foi orientado no sentido de permitir a evidenciação tanto de produtos de natureza proteínica, quanto glucídica, contidos nos ácinos e ductos glandulares. No que se refere aos produtos proteínicos, tentou-se estabelecer diferenças através da demonstração de vários grupos reativos contidos nas proteínas. No que respeita aos produtos glucídicos, procurou-se separar os mucopolissacárides neutros, dos ácidos. Nestes últimos, através de testes histoquímicos, procurou-se evidenciar o grupo ácido responsável pelo caráter ácido do mucopolissacáride.

Os resultados referentes a grupos contidos em produtos de natureza glucídica foram analisados, separadamente, dos concernentes a grupos reativos de proteínas. Os primeiros, por sua vez, foram subdivididos de acordo com a natureza do glúcido (definida através da reatividade às técnicas histoquímicas empregadas) em:

a - Mucopolissacárides neutros contendo grupos 1-2 glicol. Foram definidos com base na positividade da reação do PAS, no efeito da acetilação e da acetilação mais saponificação, sobre a referida reação e no efeito da sulfatação. O glicogênio foi separado do grupo, uma vez que sua demonstração baseou-se no teste da amilase salivar.

b - Mucopolissacárides ácidos dotados de grupos carboxílicos. A presença de mucopolissacárides com grupos carboxílicos - foi indicada pela basofilia (diversos corantes básicos, em vários pH), pela captura do ferro coloidal e pela ação da metilação, e da metilação mais saponificação, sobre a basofilia e sobre a captura do ferro coloidal (tabelas de 1 a 9). Cumpre assinalar que somente foi considerada, nos resultados, a basofilia não ribonu-

clêica, ou seja, a basofilia resistente à ribonuclease. Procurou-se verificar a presença do ácido hialurônico, através do teste da hialuronidase; o ácido siálico foi revelado através do teste da sialidase e da hidrólise ácida, seguidos da coloração por corantes básicos; com a mesma finalidade, foi empregado o tratamento - pelo hidróxido de potássio, seguido do teste da sialidase.

Com o intuito de verificar a presença simultânea de mucopolissacárides ácidos carboxílicos e neutros, foi empregada a coloração pelo azul de alcian, seguida da reação do PAS. Estes resultados estão indicados nas tabelas 1 a 9, da seguinte maneira: a coloração vermelha revela positividade ao PAS; a coloração violeta mostra que, além da positividade ao PAS, a estrutura tem afinidade pelo azul de alcian; a coloração azul mostra afinidade apenas pelo azul de alcian.

c - Mucopolissacárides contendo grupo sulfato. Foi considerada, como indicativo da presença de grupo sulfato, a basofilia em pH 1,0 e 1,5, assim como a basofilia em pH mais alto, quando abolida pela metilação e não revertida pela saponificação. As colorações combinadas (azul de alcian-aldeído fucsina e aldeído fucsina-azul de alcian) foram, também, empregadas para indicar a presença do grupo sulfato. Nas tabelas 1 a 9, os resultados obtidos após o emprego das colorações combinadas, foram expostos da seguinte maneira: azul significa que as estruturas se coraram pelo azul de alcian; azul púrpura revela que a estrutura se corou, simultaneamente, pelo azul de alcian e pela aldeído fucsina, predominando a coloração azul; púrpura-azulado indica afinidade da estrutura aos dois corantes, com predomínio da coloração pela aldeído fucsina; púrpura significa coloração apenas pela aldeído fucsina.

A síntese dos resultados, que consta das tabelas 19, 20 e 21, permite comparar a reatividade histoquímica das glândulas salivares nas espécies animais estudadas. Esta comparação mostra a existência de diferenças qualitativas nas glândulas salivares - maiores, nas espécies estudadas. Dentre essas diferenças, algumas dependem do tipo da glândula salivar e, portanto, ocorrem dentro

de uma mesma espécie animal; outras relacionam-se com a espécie.

### 1-Diferenças relacionadas com o tipo de glândula salivar

Tanto os ácinos, quanto os ductos glandulares, mostraram diferenças de reatividade histoquímica; através dessas diferenças foi possível caracterizar, histoquimicamente, os diversos tipos de glândulas salivares. Para facilitar a exposição, serão considerados, separadamente, os ácinos e os ductos glandulares.

#### A - Ácinos

As tabelas 19, 20 e 21, mostram que as características histoquímicas dos ácinos da parótida, diferem das apresentadas pelos da sublingual e submandibular. Na parótida, há predomínio de produtos de natureza proteínica, sobre os de natureza glucídica; - este tipo de ácino foi denominado seroso (AS). Na submandibular, - ao contrário, predominam as substâncias de natureza glucídica, sobre as de natureza proteínica; os ácinos deste tipo foram designados mucosos (AM). A sublingual dos roedores, se assemelha à submandibular dos outros mamíferos estudados; no entanto, na sublingual dos carnívoros e artiodáctilos, há os tipos de ácinos, AS (serosos) e AM (mucosos); os ácinos AM são comparáveis aos ácinos da submandibular, enquanto os AS se assemelham aos ácinos da parótida.

Baseado na positividade das reações que caracterizam - grupos reativos das proteínas, verifica-se que as células acinosas AS, reagem positivamente para os seguintes grupos: amino, guanidil, indol e fenol. Essa reatividade é observada na generalidade dos ácinos AS; todavia, há algumas exceções, quais sejam:

1) nos ácinos AS da parótida do hamster e da sublingual do boi, a reação para grupos guanidil é negativa;

2) nos ácinos AS da parótida do cão, do gato e do boi, e nos da sublingual do cão, do boi e do porco, verifica-se positividade das reações que indicam a presença dos radicais SS e SH.

Baseado nos caracteres histoquímicos, os crescentes, encontrados tanto na sublingual quanto na submandibular, se comportam da mesma maneira que as células AS, no tocante aos grupos reativos de proteínas demonstráveis histoquimicamente. Convém frisar que a reatividade histoquímica das células AS e dos crescêntes de uma mesma glândula, numa mesma espécie animal, são muito semelhantes (tabelas 20 e 21).

Nos ácinos mucosos, ao contrário do que acontece com os ácinos serosos, a reatividade aos testes histoquímicos que revelam os grupos reativos das proteínas, ocorre, principalmente, na porção basal das células; faz exceção a reatividade para os grupos SS e SH, nos ácinos AM da sublingual e da submandibular - do cão e do gato (tabelas 14 e 15, figura 19), e nos ácinos mucos da parótida do cão (tabela 13); em todos êstes casos, a porção apical das células reage positivamente. Êstes resultados sugerem que, nos ácinos AM a reatividade aos testes que mostram radicais proteínicos não é, na maioria das vezes, devida aos produtos de secreção celular, pois êstes produtos se localizam, de preferência, na porção apical das células.

## B - Ductos

### 1 - Ductos intercalares

Os ductos intercalares da parótida e da submandibular apresentam, em geral, pequena reatividade histoquímica (tabelas 19 e 20); reagem negativamente aos testes histoquímicos indicativos de produtos de natureza glucídica e proteínica, na maioria das espécies estudadas; apenas nos ductos intercalares da parótida dos carnívoros há reatividade a algumas técnicas que revelam grupos reativos de proteínas (tabela 13).

No que se refere aos produtos de natureza glucídica, os ductos intercalares da parótida e da submandibular dos roedores apresentam comportamento diferente dos encontrados nessas - glândulas das outras espécies animais estudadas. Reagem positi-

vamente ao PAS e aos testes que revelam grupos reativos de proteínas; constituem exceção, os ductos intercalares da submandibular do camundongo (tabelas 19 e 20), que reagem negativamente a ambos.

## 2 - Ductos estriados

Na parótida, em todas as espécies estudadas, os testes usados para identificação de grupos reativos de proteínas são positivos; em algumas espécies há, além disso, glicogênio e, em outras, mucopolissacárides neutros.

Os ductos estriados da sublingual apresentam reações positivas para os testes indicativos de grupos reativos de proteínas; no entanto, os testes para mucopolissacárides neutros e ácidos são negativos.

Os ductos estriados da submandibular se comportam de maneira semelhante aos da sublingual, se bem que, por vezes, apresentam glicogênio (artiodáctilos).

## 3 - Ductos granulosos da submandibular dos roedores

Estes ductos se comportam de maneira semelhante aos ductos estriados das outras espécies; porém, além da alta reatividade para grupos reativos das proteínas, apresentam, também, material PAS positivo (tabelas 8 e 17).

## 2 - Diferenças relacionadas com a espécie animal

Os resultados permitem estabelecer diferenças histoquímicas quando as glândulas salivares, dos representantes das três Ordens estudadas, são comparadas entre si. Essas diferenças são mais acentuadas entre as Ordens do que entre os representantes de uma mesma Ordem, o que permite agrupar os resultados, de acordo com as Ordens a que pertencem os animais.

## A - Artiodáctilos

### 1 - Parótida

Nos animais desta Ordem, a parótida é constituída por ácinos do tipo AS; os ductos estriados se caracterizam pela presença de glicogênio. Nos ácinos da parótida, tanto do boi quanto do porco, verifica-se a presença de granulações, situadas no citoplasma das células acinosas, as quais apresentam particularidades histoquímicas que julgamos conveniente assinalar. Estas granulações ocorrem apenas em material fixado em formol cálcio; são PAS fortemente positivas (figura 11) e são removidas pelo tratamento com metanol-clorofórmio, o que sugere conterem lípides insaturados. Em uma das espécies estudadas (boi), são encontradas células com as características morfológicas e histoquímicas dos mastócitos, situadas no tecido conjuntivo peri-tubular e entre as células epiteliais que revestem os ductos estriados (figura 13). Outra particularidade da parótida dos animais desta Ordem, consiste na presença de células caliciformes, cujo produto de secreção é PAS fortemente positivo e basófilo (basofilia parcialmente removida pela sialidase e cujas características histoquímicas indicam também a presença de grupos sulfato); estas células estão situadas entre as de revestimento dos ductos interlobulares (tabela 1).

### 2 - Submandibular

A submandibular dos Artiodáctilos é constituída por ácinos do tipo AM, os quais se caracterizam, histoquimicamente, por:

- a) apresentarem material PAS positivo, não sensível à amilase salivar;
- b) conterem produtos basófilos sensíveis à sialidase;
- c) reagirem negativamente aos testes para grupos reativos de proteínas (tabelas 2 e 11).

Os ácinos da submandibular apresentam crescentes, situados na porção basal, cujas células reagem fortemente aos tes-

tes usados para evidenciar grupos reativos das proteínas (tabela 11 e figura 16); são PAS fracamente positivos e basófilos, sendo a basofilia insensível ao tratamento pela sialidase, no boi, e sensível à sialidase, após tratamento por solução KOH, no porco. - Os ductos estriados desta glândula, nas duas espécies estudadas, - se caracterizam pela presença de glicogênio (tabela 2).

### 3 - Sublingual

A glândula sublingual, nas duas espécies de Artiodáctilos apresenta ácinos do tipo AM e AS, com predomínio dos últimos. Os ácinos do tipo AM são fortemente reativos ao PAS e basófilos - (basofilia não removida pela sialidase); na coloração pela sequência aldeído fucsina-azul de alcian, a maioria das células se cora pelo azul de alcian e poucas são coradas pela aldeído fucsina. Os ácinos do tipo AS são positivos à reação do PAS, nas duas espécies e fracamente basófilos, apenas na glândula do porco (tabela 3). Estes ácinos, além disso, reagem fortemente aos testes indicativos de grupos reativos das proteínas (tabela 12).

Os ductos estriados da sublingual dos Artiodáctilos, apresentam reatividade fraca para os grupos reativos das proteínas, não são basófilos, nem PAS positivos.

Os crescentes, situados na porção basal dos ácinos do tipo AM da sublingual dos Artiodáctilos, são fortemente reativos ao PAS e apresentam basofilia fraca, ou moderada, que não é removida pela sialidase (semelhante aos ácinos AS). Na sequência aldeído fucsina - azul de alcian, os crescentes da sublingual do boi se coram pela aldeído fucsina; inversamente, os crescentes da sublingual do porco se coram pelo azul de alcian.

## B - Carnívoros

### 1 - Parótida

A parótida dos carnívoros é constituída apenas por ácinos AS, no gato; no cão, ao contrário, ocorrem tanto ácinos do ti

po AM quanto do tipo AS (figura 8), com predominância destes últimos; nas espécies das outras Ordens estudadas há apenas ácinos do tipo AS, na parótida.

Os ácinos AS, da parótida do cão, reagem aos métodos - que revelam radicais reativos de proteínas (tabela 13); são fortemente positivos à reação do PAS (positividade insensível à amilase) e possuem basofilia moderada (sialidase suscetível, após tratamento prévio com solução de KOH). Os ácinos do tipo AM são fortemente positivos ao PAS (não sensíveis à amilase) e intensamente basófilos; a basofilia não é removida pela sialidase (mesmo após tratamento pelo KOH), nem pela hidrólise ácida. Coram-se pelo azul de alcian, em pH 1,0 e assumem coloração azul nas duas sequências dos corantes básicos (aldeído fucsina e azul de alcian - tabela 4).

Os crescentes dos ácinos AM, da parótida do cão, são moderadamente positivos ao PAS, não são basófilos e reagem aos testes indicativos dos seguintes grupos reativos de proteínas: amino, indol e fenol (tabela 13).

No gato, os ácinos da parótida, apresentam uma particularidade, qual seja, a presença de grânulos intracitoplasmáticos, envolvidos por halo perigranular (figura 12). Há diferenças quanto ao comportamento histoquímico dos grânulos e do halo. Os grânulos são fortemente positivos ao PAS (amilase resistentes), positivos aos testes indicativos de grupos reativos de proteínas (figura 23) e não se coram pelos corantes básicos usados (tabelas 4 e 13); o halo perigranular se mostra, também, positivo ao PAS (amilase resistente), mas é negativo aos testes para radicais reativos das proteínas; apresenta basofilia moderada (basofilia resistente à sialidase e à hidrólise ácida). O halo perigranular não se cora pelo azul de alcian, em pH 1,0. Quando corado pela sequência aldeído fucsina - azul de alcian, apresentam comportamento variável; por vezes cora-se pela aldeído fucsina, outras vezes tem afinidade pelos dois corantes e, na maioria das vezes, cora-se pelo azul de alcian (tabela 4).

Os ductos estriados e intercalares da parótida das duas

espécies de carnívoros não reagem aos testes histoquímicos para glúcides, mas reagem aos testes para grupos reativos de proteínas. Os radicais proteínicos reativos, encontrados no citoplasma das células dos ductos estriados, foram: guanidil e SS e SH, no cão; guanidil e fenol no gato. Nas células dos ductos intercalares da parótida do cão, verifica-se apenas a presença do radical guanidil; nas dos ductos intercalares da parótida do gato, ocorrem radicais guanidil e fenol (tabelas 13 e 19).

## 2 - Submandibular

A glândula submandibular, nas duas espécies de carnívoros estudadas, é constituída por ácinos do tipo AM. Todavia, diferenças de comportamento histoquímico são observadas entre os ácinos das duas espécies; no cão, são fortemente positivos ao PAS (amilase resistentes), enquanto que, no gato, são fracamente positivos (positividade também resistente à amilase). Apesar dos ácinos serem fortemente basófilos (figura 7) nas duas espécies, a basofilia é insensível ao tratamento pela sialidase e à hidrólise ácida, nos ácinos da submandibular do gato; ao contrário, nos ácinos da submandibular do cão, o tratamento pela sialidase, e subsequente coloração pelos corantes básicos, revela perda total da basofilia, na maioria das células (sialidase suscetível), perda parcial da basofilia em algumas células (sialidase parcialmente suscetível)-e, além disso, persistência da basofilia em outras células (sialidase resistentes)(tabela 5). Os ácinos da submandibular, nas duas espécies, apresentam basofilia quando corados pelo azul de alcian, em pH 1,0 (figura 9). No entanto, a basofilia não é uniforme, em todos os ácinos e, nem em tôdas as células de um mesmo ácino; ao lado de ácinos, ou de células, fortemente basófilos, há ácinos (ou células) não basófilas; entre êsses dois limites ocorrem graus intermediários. Esse resultado sugere a presença, nas células que constituem os ácinos glandulares, de produtos basófilos, cuja basofilia depende de grupos ácidos diferentes. A basofilia do azul de alcian em pH 1,0, que ocorre apenas em algumas cé-

lulas ou ácidos, seria decorrente da presença de grupos sulfato; a basofilia, em pH 2,5, apresentada pela maioria dos ácidos, nas duas espécies animais, indicaria a presença do grupo carboxílico. Este grupo, por sua vez, está relacionado com o ácido siálico, no cão. Este assunto será discutido oportunamente.

O uso da sequência de corantes básicos (azul de alcian - aldeído fucsina e aldeído fucsina - azul de alcian), revela que os ácidos da submandibular do cão, se coram pelo azul de alcian - nas duas sequências, enquanto que os ácidos da glândula do gato, - coram-se pelo azul de alcian, apenas na primeira sequência (azul de alcian - aldeído fucsina); na segunda sequência (aldeído fucsina - azul de alcian), a maioria das células se cora em azul (azul de alcian positivas), mas há células coradas em púrpura-azulado - (aldeído fucsina e azul de alcian positivas), ou em púrpura (aldeído fucsina positivas). Estes resultados sugerem, também, a presença de diferentes grupos ácidos responsáveis pela basofilia das células acinosas da submandibular do cão e do gato, conforme será discutido posteriormente.

Nos ácidos AM (mucosos) da glândula submandibular dos carnívoros, foi verificada a presença de radicais SS e SH, nas duas espécies estudadas (tabela 14 e figura 19).

Os ductos estriados, da submandibular das duas espécies de carnívoros estudadas, apresentam reatividade para alguns grupos reativos das proteínas (guanidil, SS e SH, fenol e indol no cão, e amino, SS e SH, fenol no gato); além disso, reação moderada ao PAS foi observada nos ductos estriados da submandibular do gato (tabelas 5 e 14).

Os crescentes, situados na porção basal dos ácidos mucosos da submandibular das duas espécies, são fortemente reativos - ao PAS e basófilos (basofilia moderada no cão, e forte no gato); a basofilia é insensível ao tratamento pela sialidase. Os testes histoquímicos, que indicam radicais reativos das proteínas, permitem verificar a presença dos radicais guanidil, indol e fenol, ao nível dos crescentes da submandibular do gato; nos crescentes da glândula submandibular do cão, além dos grupos reativos encontra-

dos nos crescentes da submandibular do gato, há, ainda, os radicais amino, SS e SH.

### 3 - Sublingual

Como ocorre com os artiodáctilos, a glândula sublingual dos carnívoros é, também, constituída por ácinos do tipo AM (mucoso) e AS (serosos). Os ácinos AM, nas duas espécies, são PAS positivos (positividade forte, no cão, e fraca, no gato) e resistem à ação da amilase salivar. Nas duas espécies, há forte basofilia - nos ácinos AM; esta basofilia é parcialmente removida pela ação - da sialidase, após tratamento alcalino, nos ácinos da glândula do cão; ao contrário, os ácinos da sublingual do gato, resistem a êsse tratamento. O azul de alcian, em pH 1,0, cora os ácinos AM das glândulas das duas espécies, sugerindo a presença de radical sulfato. Nas seqüências de corantes básicos (azul de alcian - aldeído fucsina e aldeído fucsina - azul de alcian), os ácinos AM da glândula sublingual do cão, coram-se pelo azul de alcian, nas duas seqüências; os ácinos AM da sublingual do gato coram-se pelo azul de alcian, na primeira seqüência (azul de alcian - aldeído fucsina), porém, na segunda (aldeído fucsina - azul de alcian), - são observadas células coradas em azul-púrpura (azul de alcian - aldeído fucsina positivas) e células coradas em púrpura-azulado - (aldeído fucsina - azul de alcian positivas)(tabela 6). Quanto à reatividade às técnicas histoquímicas que revelam grupos reativos de proteínas, os ácinos AM da sublingual, das duas espécies estudadas, reagem apenas aos testes que indicam a presença de radicais SS e SH (tabela 15).

Os ácinos AS da sublingual, são fortemente positivos ao PAS (positividade resistente à ação da amilase), nas duas espécies estudadas; no cão, ainda ocorre basofilia sensível à sialidase. Os testes histoquímicos para grupos reativos de proteínas, revelam a presença de proteínas nos ácinos AS das duas espécies animais. Os grupos reativos revelados, histoquimicamente, foram: amino, guanidil, indol e fenol, nos ácinos da glândula do gato; no

cão, além desses radicais, há, ainda, a presença de grupos SS e SH (tabela 15). Os ácinos AS da sublingual do cão se comportam, - histoquímicamente, de modo semelhante aos ácinos AS da parótida - dos carnívoros.

Os ductos estriados da sublingual, das duas espécies de carnívoros, são negativos aos testes histoquímicos que revelam - glúcides e, positivos aos que revelam grupos reativos de proteínas (guanidil, amino e fenol, nos ductos do cão, e guanidil, indol e fenol, nos do gato)(tabelas 15 e 21).

Os crescentes da sublingual, nas duas espécies, apresen tam positividade ao PAS (não sensíveis à amilase); basofilia fra- ca, sensível à sialidase, ocorre apenas nos crescentes da sublin- gual do cão. Os crescentes dos ácinos mucosos, da sublingual do gato, são reativos para os seguintes radicais de proteínas: amino, guanidil, indol e fenol; os da sublingual do cão são, também, rea- tivos para êstes radicais e, além disso, reagem com a técnica que indica a presença de radicais SS e SH (tabela 15).

## C - Roedores

### 1 - Parótida

Nos roedores, a parótida apresenta ácinos, cuja reativi dade histoquímica indica predomínio de proteínas sôbre os mucopo- lissacárides (tabela 16). Nas três espécies estudadas (rato, ca- mundongo e hamster), os ácinos mostram positividade de grau variável, frente à reação do PAS (forte no camundongo e no hamster, mo- derada no rato); além disso, e como particularidade da espécie, é observada basofilia fraca (sialidase suscetível após tratamento - com solução de KOH), apenas nas células acinosas da parótida do hamster (tabela 7).

Os ácinos da parótida do rato e camundongo reagem posi- tivamente para os grupos: amino, guanidil, indol e fenol (figura 15) e SS e SH; enquanto que, os ácinos da parótida do hamster reagem apenas para os grupos amino, indol e fenol.

Os ductos estriados da parótida do hamster são negativos à reação do PAS, enquanto que os do rato e do camundongo são positivos (positividade moderada no camundongo e fraca no rato). Além disso ocorre positividade do citoplasma das células de revestimento dos ductos estriados, para os testes que revelam radicais indol e guanidil, na parótida do rato, e radical fenol na parótida do camundongo e do hamster (tabelas 7 e 16).

Os ductos intercalares da parótida, nas três espécies estudadas, apresentam-se fortemente reativos ao PAS; coram-se metacromaticamente com o azul de toluidina, após sulfatação (tabela 7 e figuras 5 e 6). A presença de proteínas, nas células que os revestem, é mostrada pela positividade aos métodos histoquímicos indicativos dos seguintes grupos: guanidil, indol e fenol, nos ductos da parótida do rato; indol e fenol, nos da glândula do camundongo; amino, guanidil, SS e SH, fenol e indol (figuras 20 e 21), nos da glândula do hamster.

Os ácinos da parótida do rato e do camundongo, assim como os ductos dessa glândula, nas três espécies de roedores estudadas, apresentam caracteres histoquímicos semelhantes aos ácinos AS da sublingual do gato e do boi. Os ácinos da parótida do hamster guardam relações histoquímicas com os ácinos do tipo AS da parótida dos carnívoros.

## 2 - Submandibular

A glândula submandibular dos roedores é formada por ácinos, cujas células se caracterizam, histoquimicamente, pela pequena proporção de produtos de natureza proteínica e predomínio de mucopolissacárides, contendo grupos 1-2 glicol além de mucopolissacárides ácidos. Estes últimos, contêm ácido siálico, na glândula do hamster e do camundongo, uma vez que são sialidase sensíveis; na submandibular do rato, a basofilia é resistente à sialidase.

Nos ductos granuloso da submandibular, nas três espécies estudadas, as células de revestimento são moderadamente positivas ao PAS (figura 14); reagem intensamente aos métodos que re-

velam a presença de grupos reativos de proteínas, sugerindo que - substâncias de natureza proteínica, predominem sôbre os componentes glúcídicos. Nos ductos granulosos da submandibular, a porção apical das células de revestimento reage aos testes histoquímicos indicativos dos seguintes grupos reativos de proteínas: amino, SS e SH, indol e fenol (tabela 17 e figuras 17, 18 e 24), no hamster e no rato; nos ductos da submandibular do camundongo, além desses grupos, há, também, reatividade para a técnica que evidencia o radical guanidil.

Nos ductos intercalares da submandibular, a reação do PAS é forte na glândula do hamster e fraca na do rato. Em ambas as espécies, a reação do PAS, tanto nos ductos intercalares como nos granulosos, não foi influenciada pelo tratamento com a amilase salivar. No hamster, as células de revestimento dos ductos intercalares, após sulfatação, se tornam fortemente metacromáticas (figura 4). Os ductos intercalares da submandibular do rato, reagem positivamente aos testes histoquímicos que indicam a presença de radical guanidil e fenol; os da submandibular do hamster, além dos radicais presentes nos ductos da glândula do rato, apresentam radicais SS e SH e indol (figuras 17 e 18).

### 3 - Sublingual

A glândula sublingual dos roedores é constituída por ácinos do tipo AM (mucoso), com secreção predominantemente glucídica. Histoquimicamente, tais ácinos são fortemente positivos ao PAS, não sendo a positividade sensível à ação da amilase; são basófilos, basofilia esta sensível à sialidase, no camundongo, e resistente no rato (tabela 9). No hamster, ao lado de células cuja basofilia é sensível à sialidase, há outras, menos numerosas, dotadas de basofilia resistente; além disso, algumas células apresentam basofilia parcialmente removível pelo tratamento com a sialidase. Em um mesmo ácino, são encontrados os três tipos de células, predominando as do primeiro tipo (figura 2). Os ácinos da sublingual do hamster comportam-se após tratamento pela sialidase

seguido de coloração pelos corantes básicos, de maneira semelhante aos ácinos da submandibular do cão. Esse comportamento está, - provavelmente, relacionado com as propriedades de coloração, apresentadas pelas células acinosas, quando se emprega a sequência al<sup>deído</sup> fucsina - azul de alcian; nesta eventualidade, a maioria - das células acinosas se cora em azul (azul de alcian positivas), - algumas se coram em púrpura-azulado (aldeído fucsina e azul de alcian positivas) e outras em púrpura (aldeído fucsina positivas). Esses resultados sugerem a presença de diversos grupos ácidos diferentes, nos mucopolissacárides destas células, inclusive grupo sulfato. Não obstante, as células acinosas da sublingual do hamster, não se coram pelo azul de alcian, em pH 1,0.

As células dos ductos estriados da sublingual, das três espécies estudadas, são negativas para os testes histoquímicos - que indicam a presença de glúcides; porém, os testes para grupos reativos de proteínas são moderadamente positivos, para os grupos guanidil e fenol.

Os crescentes, situados na porção basal dos ácinos AM da sublingual nas três espécies estudadas, contêm glúcides, pois reagem positivamente ao PAS (amilase insensível); e após sulfatação coram-se matacromaticamente com o azul de toluidina (figura - 3); além disso, apresentam basofilia, na glândula sublingual do camundongo e do hamster (basofilia parcialmente suscetível a sialidase). Os testes histoquímicos indicativos da presença de grupos reativos das proteínas são positivos nos crescentes da sublingual, nas três espécies. Os radicais amino, guanidil, fenol es tão presentes nas células dos crescentes das três espécies; porém, além desses radicais, os crescentes da sublingual do rato e do hamster, reagem positivamente com as técnicas que indicam a presença do radical SH e indol; na sublingual do hamster, além disso, pôde ser observada a presença do radical SS (figura 22). Os crescentes da sublingual dos roedores, assemelham-se, histoquimicamente, aos ácinos AS da parótida do cão, do gato e do hamster.

3.1 - TABELAS DOS RESULTADOS PARA GLÚCIDES OBTIDOS NAS  
GLÂNDULAS PARÓTIDA, SUBMANDIBULAR E SUBLINGUAL  
DE ARTIODÁCTILOS, CARNÍVOROS E ROEDORES

### LEGENDAS

AS = ácino seroso; AM = ácino mucoso; C = Crescente; DE = ducto estriado; DI = ducto intercalar; DG = ducto granuloso; DL = ducto interlobular; Mast. = mastócito; Cito = citoplasma; C.Calic. e C.Cal. = célula caliciforme; Glic. = glicogênio; PAS = ácido periódico-reactivo de Schiff; AT = azul de toluidina; SO = Safrana O; AA = azul de alcian; AF = aldeído fucsina; Fe = ferro coloidal; AA-AF = azul de alcian-aldeído fucsina; AF-AA = aldeído fucsina-azul de alcian; (M) = metacromasia; (O) = ortocromasia; sap. = saponificação; I = inalterado; S = sensível; pS = parcialmente sensível; g = grânulos; H = halo peri-granular; - n/o = não observado; A = azul; Vr = vermelho; Vt = violeta; - AP = azul púrpura; PAz = púrpura azulado; P = Púrpura; + = coloração fraca; ++ = coloração moderada; +++ = coloração forte; - = negativo.

\*

\* \*

TABELA 1 - RESULTADOS HISTOQUÍMICOS (GLÚCIDES) OBTIDOS NA PARÓTIDA DE ARTIODÁCTILOS

| ANIMAIS                |                              | ESTRUTURAS                                   | BOI |         |        |         | PORCO |      |         |    |
|------------------------|------------------------------|----------------------------------------------|-----|---------|--------|---------|-------|------|---------|----|
|                        |                              |                                              | AS  | DE      |        | DI      | AS    | DE   | DL      |    |
|                        |                              |                                              |     | Mast.   | Cito   |         |       |      | C.Cal.  | DI |
| TÉCNICAS HISTOQUÍMICAS |                              |                                              |     |         |        |         |       |      |         |    |
| GRUPO 1-2<br>Glicol.   | A-Reação do PAS              | -                                            | -   | +++     | +++    | -       | -     | +++  | +++     | -  |
|                        | acetilação + PAS             | -                                            | -   | -       | -      | -       | -     | -    | -       | -  |
|                        | acetilação + sap. + PAS      | -                                            | -   | +++     | +++    | -       | -     | +++  | +++     | -  |
|                        | sulfatação + AT pH 1,5       | -                                            | -   | -       | ++(M)  | -       | -     | -    | -       | -  |
|                        | sulfatação + AT pH 2,2       | -                                            | -   | -       | ++(M)  | -       | -     | +(O) | +++ (M) | -  |
|                        | sulfatação + AT pH 3,4       | -                                            | -   | -       | ++(M)  | -       | -     | -    | ++(M)   | -  |
|                        | sulfatação + AT pH 5,6       | -                                            | -   | -       | -      | -       | -     | -    | -       | -  |
| Glic.                  | amilase + PAS                |                                              |     | S       | I      |         |       | S    | I       |    |
| GRUPO CARBOXÍLICO      | "inespecíficos"              | B-Basofilia                                  |     |         |        |         |       |      |         |    |
|                        |                              | Safranina O                                  | -   | +++ (M) | -      | +++ (M) | -     | -    | +++ (M) | -  |
|                        |                              | Azul de Alcian pH 2,5                        | -   | +++     | -      | +++     | -     | -    | +++     | -  |
|                        |                              | Aldeído fucsina                              | -   | +++     | -      | +++     | -     | -    | +++     | -  |
|                        |                              | Azul de Toluidina (pH 2,2-3,4-5,6)           | -   | +++ (M) | -      | +++ (M) | -     | -    | +++ (M) | -  |
|                        |                              | C-Captura de ferro                           | -   | +++     | -      | +++     | -     | -    | +++     | -  |
|                        |                              | Metilação + capt.Fe                          | -   | -       | -      | -       | -     | -    | ++      | -  |
|                        |                              | Metilação + sap. + capt.Fe                   | -   | -       | -      | -       | -     | -    | +       | -  |
|                        |                              | D-Metilação + corantes básicos               | -   | -       | -      | -       | -     | -    | -       | -  |
|                        |                              | Metilação + sap. + corantes básicos          | -   | -       | -      | -       | -     | -    | -       | -  |
|                        |                              | E-Coloração combinada + AA-PAS               | -   | A       | Vr     | A       | -     | Vr   | A       | -  |
|                        | ácido siálico                | F-Hidrólise ácida                            |     |         |        |         |       |      |         |    |
|                        |                              | Hidrólise ácida + SO                         | -   | +++ (M) | -      | ++ (M)  | -     | -    | ++ (M)  | -  |
|                        |                              | Hidrólise ácida + AA pH 2,5                  | -   | +++     | -      | +++     | -     | -    | +++     | -  |
|                        |                              | Hidrólise ácida + AF                         | -   | ++      | -      | +       | -     | -    | +       | -  |
|                        |                              | Hidrólise ácida + Fe                         | -   | +++     | -      | +++     | -     | -    | ++      | -  |
|                        |                              | Hidrólise ácida + AT em pH 1,5-2,2-3,4 e 5,6 | -   | +++ (M) | -      | -       | -     | -    | -       | -  |
|                        |                              | G-Teste da sialidase                         |     |         |        |         |       |      |         |    |
|                        |                              | Sialidase + AA pH 2,5 e AF                   |     | I       |        | I       |       |      | I       |    |
|                        |                              | KOH + sialidase + AA pH 2,5 e AF             |     | I       |        | pS      |       |      | pS      |    |
|                        |                              | Hialuronidase testicl. + AA pH 2,5           |     | I       |        | I       |       |      | I       |    |
| GRUPO SULFATO          | H-AA pH 1,0                  | -                                            | ++  | -       | ++     | -       | -     | -    | ++      | -  |
|                        | AT pH 1,5                    | -                                            | -   | -       | -      | -       | -     | -    | -       | -  |
|                        | Metilação + AT pH 1,5        | -                                            | -   | -       | -      | -       | -     | -    | -       | -  |
|                        | Metilação + sap. + AT pH 1,5 | -                                            | -   | -       | -      | -       | -     | -    | -       | -  |
|                        | I-Coloração combinada        |                                              |     |         |        |         |       |      |         |    |
|                        | AA-AF                        | -                                            | A   | -       | A      | -       | -     | -    | A       | -  |
|                        | AF-AA                        | -                                            | P   | -       | A      | -       | -     | -    | A       | -  |
|                        |                              |                                              |     |         | AP-PAz | AP      |       |      |         |    |

TABELA 2 - RESULTADOS HISTOQUÍMICOS (GLÚCIDES) OBTIDOS NA SUBMANDIBULAR DE ARTIODÁCTILOS

| ANIMAIS                |                         | BOI                                          |         |         | PORCO   |         |       |
|------------------------|-------------------------|----------------------------------------------|---------|---------|---------|---------|-------|
| TÉCNICAS HISTOQUÍMICAS |                         | AM                                           | DE      | C       | AM      | DE      | C     |
| GRUPO 1-2<br>Glicol    | A-Reação do PAS         | ++                                           | +++     | +       | +++     | +++g    | +     |
|                        | acetilação + PAS        | -                                            | -       | -       | -       | -       | -     |
|                        | acetilação + sap. + PAS | ++                                           | +++     | +       | +++     | +++g    | +     |
|                        | sulfatação + AT pH 1,5  | -                                            | -       | -       | ++(M)   | -       | ++(M) |
|                        | sulfatação + AT pH 2,2  | ++(M)                                        | -       | ++(O)   | ++(M)   | -       | ++(M) |
|                        | sulfatação + AT pH 3,4  | +++ (M)                                      | -       | +++ (O) | +++ (M) | -       | ++(M) |
|                        | sulfatação + AT pH 5,6  | +++ (M)                                      | -       | ++(M)   | +++ (M) | -       | ++(M) |
|                        | Glic.                   | I                                            | S       | I       | I       | S       | I     |
| GRUPO CARBOXÍLICO      | "inespecíficos"         | B-Basofilia                                  |         |         |         |         |       |
|                        |                         | Safranina O                                  | +++ (M) | -       | -       | +++ (M) | -     |
|                        |                         | Azul de Alcian pH 2,5                        | +++     | -       | +       | +++     | ++    |
|                        |                         | Aldeído fucsina                              | +++     | -       | -       | +++     | ++    |
|                        |                         | Azul de toluidina (pH 2,2-3,4-5,6)           | -       | -       | -       | -       | -     |
|                        |                         | C-Captura de ferro                           | +++     | -       | ++      | +++     | ++    |
|                        |                         | Metilação + capt. Fe                         | +       | -       | -       | ++      | +     |
|                        |                         | Metilação + sap. + capt. Fe                  | ++      | -       | +       | -       | +     |
|                        | ácido siálico           | D-Metilação + corantes básicos               | -       | -       | -       | -       | -     |
|                        |                         | Metilação + sap. + corantes básicos          | +       | -       | -       | +       | +     |
|                        |                         | E-Coloração combinada + AA - PAS             | A       | Vr      | A       | A       | A     |
|                        |                         | F-Hidrólise ácida                            |         |         |         |         |       |
|                        |                         | Hidrólise ácida + SO                         | -       | -       | -       | -       | -     |
|                        |                         | Hidrólise ácida + AA pH 2,5                  | +       | -       | -       | +       | +     |
|                        |                         | Hidrólise ácida + AF                         | -       | -       | -       | -       | -     |
|                        |                         | Hidrólise ácida + Fe                         | +++     | -       | +       | +++     | ++    |
|                        |                         | Hidrólise ácida + AT em pH 1,5-2,2-3,4 e 5,6 | -       | -       | -       | -       | -     |
|                        |                         | G-Teste da sialidase                         |         |         |         |         |       |
|                        |                         | Sialidase + AA pH 2,5 e AF                   | S       |         | I       | S       | I     |
|                        |                         | KOH + sialidase + AA pH 2,5 e AF             | S       |         | I       | S       | S     |
|                        |                         | Hialuronidase testicl. + AA pH 2,5           | I       |         | I       | I       | I     |
| GRUPO SULFATO          |                         | H-AA pH 1,0                                  | -       | -       | -       | -       | -     |
|                        |                         | AT pH 1,5                                    | -       | -       | -       | -       | -     |
|                        |                         | Metilação + AT pH 1,5                        | -       | -       | -       | -       | -     |
|                        |                         | Metilação + sap. + AT pH 1,5                 | -       | -       | -       | -       | -     |
|                        |                         | I-Coloração combinada                        |         |         |         |         |       |
|                        |                         | AA-AF                                        | A       | -       | A       | A       | A     |
|                        |                         | AF-AA                                        | A       | -       | A       | A       | A     |

TABELA 3 - RESULTADOS HISTOQUÍMICOS (GLÚCIDES) OBTIDOS NA SUBLINGUAL DE ARTIODÁCTILOS

| ANIMAIS                |                              | BOI                                          |         |    |              |         | PORCO   |          |    |              |         |
|------------------------|------------------------------|----------------------------------------------|---------|----|--------------|---------|---------|----------|----|--------------|---------|
| ESTRUTURAS             |                              | AM                                           | AS      | DE | DL<br>C.Cal. | C       | AM      | AS       | DE | DL<br>C.Cal. | C       |
| TÉCNICAS HISTOQUÍMICAS |                              |                                              |         |    |              |         |         |          |    |              |         |
| grupo 1-2<br>Glicol    | A-Reação do PAS              | +++                                          | +++g    | -  | +++          | +++g    | +++     | ++g      | -  | +++          | +++g    |
|                        | acetilação + PAS             | -                                            | -       | -  | -            | -       | -       | -        | -  | -            | -       |
|                        | acetilação + sap. + PAS      | +++                                          | +++g    | -  | +++          | +++g    | +++     | ++g      | -  | +++          | +++g    |
|                        | sulfatação + AT pH 1,5       | ++(M)                                        | +(M)g   | -  | +++ (M)      | -       | ++(M)   | ++(M)g   | -  | +++          | ++(M)g  |
|                        | sulfatação + AT pH 2,2       | +++ (M)                                      | ++(M)g  | -  | +++ (M)      | ++(M)g  | +++ (M) | ++(M)g   | -  | +++ (M)      | ++(M)g  |
|                        | sulfatação + AT pH 3,4       | +++ (M)                                      | -       | -  | +++ (M)      | -       | +++ (M) | +++ (M)g | -  | +++ (M)      | ++(M)g  |
|                        | sulfatação + AT pH 5,6       | -                                            | -       | -  | -            | -       | -       | -        | -  | -            | -       |
| Glic.                  | amilase + PAS                | I                                            | I       | -  | I            | I       | I       | I        | -  | I            | I       |
| GRUPO CARBOXÍLICO      | "inespecíficos"              | B-Basofilia                                  |         |    |              |         |         |          |    |              |         |
|                        |                              | Safranina O                                  | +++ (M) | -  | -            | +++ (M) | -       | +++ (M)  | -  | -            | +++ (M) |
|                        |                              | Azul de alcian pH 2,5                        | +++     | -  | -            | +++     | ++      | +++      | +  | -            | +++     |
|                        |                              | Aldeído fucsina                              | +++     | -  | -            | +++     | ++g     | +++      | +  | -            | +++     |
|                        |                              | Azul de toluidina (pH 2,2-3,4-5,6)           | -       | -  | -            | -       | -       | -        | -  | -            | -       |
|                        |                              | C-Captura de ferro                           | +++     | -  | -            | +++     | ++g     | +++      | +  | -            | +++     |
|                        |                              | Metilação + capt. Fe                         | +       | -  | -            | -       | ++g     | ++       | +  | -            | -       |
|                        |                              | Metilação + sap. + capt. Fe                  | +       | -  | -            | -       | ++      | +        | -  | -            | -       |
|                        |                              | D-Metilação + corantes básicos               | -       | -  | -            | -       | -       | -        | -  | -            | -       |
|                        |                              | Metilação + sap. + corantes básicos          | ++      | -  | -            | ++      | -       | ++       | -  | ++           | -       |
|                        |                              | E-Coloração combinada - AA-PAS               | Vt      | Vr | -            | Vt      | A       | A        | Vr | -            | Vt      |
|                        | ácido siálico                | F-Hidrólise ácida                            |         |    |              |         |         |          |    |              |         |
|                        |                              | Hidrólise ácida + SO                         | -       | -  | -            | -       | -       | -        | -  | -            | -       |
|                        |                              | Hidrólise ácida + AA pH 2,5                  | +++     | -  | -            | ++      | ++g     | ++       | +  | -            | ++      |
|                        |                              | Hidrólise ácida + AF                         | +       | -  | -            | ++      | -       | +++      | +  | -            | ++      |
|                        |                              | Hidrólise ácida + Fe                         | +++     | -  | -            | ++      | -       | ++       | +  | -            | ++      |
|                        |                              | Hidrólise ácida + AT em pH 1,5-2,2-3,4 e 5,6 | -       | -  | -            | -       | -       | -        | -  | -            | -       |
|                        |                              | G-Teste da sialidase                         |         |    |              |         |         |          |    |              |         |
|                        |                              | Sialidase + AA pH 2,5 e AF                   | I       |    |              | n/o     | I       | I        | I  | n/o          | I       |
|                        |                              | KOH + sialidase + AA pH 2,5 e AF             | I       |    |              | n/o     | I       | I        | S  | n/o          | I       |
|                        |                              | Hialuronidase testicl. + AA pH 2,5           | I       |    |              | n/o     | I       | I        | I  | n/o          | I       |
| GRUPO SULFATO          | H-AA pH 1,0                  | -                                            | -       | -  | -            | -       | -       | -        | -  | -            | -       |
|                        | AT pH 1,5                    | -                                            | -       | -  | -            | -       | -       | -        | -  | -            | -       |
|                        | Metilação + AT pH 1,5        | -                                            | -       | -  | -            | -       | -       | -        | -  | -            | -       |
|                        | Metilação + sap. + AT pH 1,5 | -                                            | -       | -  | -            | -       | -       | -        | -  | -            | -       |
|                        | I-Coloração combinada        |                                              |         |    |              |         |         |          |    |              |         |
|                        | AA-AF                        | A                                            | -       | -  | A            | A       | A       | A        | -  | A            | A       |
|                        | AF-AA                        | A e P                                        | -       | -  | A-PAz        | Paz-P   | A       | A        | -  | A-PAz        | A       |

TABELA 4 - RESULTADOS HISTOQUÍMICOS (GLÚCIDES) OBTIDOS NA PARÓTIDA DE CARNÍVOROS

| ANIMAIS                |                              | CÃO                                              |         |         |    |    | GATO     |                |    |   |
|------------------------|------------------------------|--------------------------------------------------|---------|---------|----|----|----------|----------------|----|---|
| ESTRUTURAS             |                              | AS                                               | AM      | C       | DE | DI | AS       | DE             | DI |   |
| TÉCNICAS HISTOQUÍMICAS |                              |                                                  |         |         |    |    |          |                |    |   |
| GRUPO 1-2<br>Glicol    | A-Reação do PAS              | +++                                              | +++     | +++     | -  | -  | +++Heg   | -              | -  |   |
|                        | acetilação + PAS             | -                                                | -       | -       | -  | -  | -        | -              | -  |   |
|                        | acetilação + sap. + PAS      | +++                                              | +++     | +++     | -  | -  | +++Heg   | -              | -  |   |
|                        | sulfatação + AT pH 1,5       | -                                                | -       | -       | -  | -  | ++(M)H   | -              | -  |   |
|                        | sulfatação + AT pH 2,2       | ++(M)                                            | ++(M)   | ++(M)   | -  | -  | ++(M)H   | -              | -  |   |
|                        | sulfatação + AT pH 3,4       | +++ (M)                                          | +++ (M) | ++(M)   | -  | -  | ++(M)H   | -              | -  |   |
|                        | sulfatação + AT pH 5,6       | -                                                | +++ (M) | +++ (M) | -  | -  | ++(M)H   | -              | -  |   |
| Glic.                  | amilase + PAS                | II                                               | I       | I       |    |    | I        |                |    |   |
| GRUPO CARBOXÍLICO      | "inespecíficos"              | B-Basofilia                                      |         |         |    |    |          |                |    |   |
|                        |                              | Safranina O                                      | -       | +++ (M) | -  | -  | -        | ++(O)H         | -  | - |
|                        |                              | Azul de alcian pH 2,5                            | ++      | +++     | -  | -  | -        | ++H            | -  | - |
|                        |                              | Aldeído fucsina                                  | ++      | +++     | -  | -  | -        | ++H            | -  | - |
|                        |                              | Azul de toluidina(pH 2,2-3,4-5,6)                | -       | -       | -  | -  | -        | -              | -  | - |
|                        |                              | C-Captura de ferro                               | ++      | +++     | -  | -  | -        | ++H            | -  | - |
|                        |                              | Metilação + capt. Fe                             | -       | -       | -  | -  | -        | -              | -  | - |
|                        |                              | Metilação + sap. + capt.Fe                       | -       | -       | -  | -  | -        | -              | -  | - |
|                        |                              | D-Metilação + corantes básicos                   | -       | -       | -  | -  | -        | -              | -  | - |
|                        |                              | Metilação+sap.+corantes básicos                  | -       | -       | -  | -  | -        | -              | -  | - |
|                        |                              | E-Coloração combinada - AA-PAS                   | Vt      | A       | Vt | -  | -        | A-Vt H<br>Vr g | -  | - |
|                        | ácido siálico                | F-Hidrólise ácida                                |         |         |    |    |          |                |    |   |
|                        |                              | Hidrólise ácida + SO                             | -       | +++ (M) | -  | -  | -        | ++(O)H         | -  | - |
|                        |                              | Hidrólise ácida + AA pH 2,5                      | ++      | +++     | -  | -  | -        | ++H            | -  | - |
|                        |                              | Hidrólise ácida + AF                             | -       | +++     | -  | -  | -        | -              | -  | - |
|                        |                              | Hidrólise ácida + Fe                             | -       | +++     | -  | -  | -        | +++H           | -  | - |
|                        |                              | Hidrólise ácida + AT em pH 1,5-<br>2,2-3,4 e 5,6 | -       | -       | -  | -  | -        | -              | -  | - |
|                        |                              | G-Teste da sialidase                             |         |         |    |    |          |                |    |   |
|                        |                              | Sialidase + AA pH 2,5 e AF                       | I       | I       |    |    |          | I              |    |   |
|                        |                              | KOH + sialidase + AA pH 2,5 e AF                 | S       | I       |    |    |          | I              |    |   |
|                        |                              | Hialuronidase testicl.+AA pH 2,5                 | I       | I       |    |    |          | I              |    |   |
| GRUPO SULFATO          | H-AA pH 1,0                  | -                                                | ++      | -       | -  | -  | -        | -              | -  |   |
|                        | AT pH 1,5                    | -                                                | -       | -       | -  | -  | -        | -              | -  |   |
|                        | Metilação + AT pH 1,5        | -                                                | -       | -       | -  | -  | -        | -              | -  |   |
|                        | Metilação + sap. + AT pH 1,5 | -                                                | -       | -       | -  | -  | -        | -              | -  |   |
|                        | I-Coloração combinada        |                                                  |         |         |    |    |          |                |    |   |
|                        | AA-AF                        | A                                                | A       | -       | -  | -  | A        | -              | -  |   |
|                        | AF-AA                        | A                                                | A       | -       | -  | -  | A-AP-P H | -              | -  |   |

TABELA 5 - RESULTADOS HISTOQUÍMICOS (GLÚCIDES) OBTIDOS NA SUBMANDIBULAR DE CARNÍVOROS

| ANIMAIS                |                                | CÃO                                          |         |         | GATO    |         |          |
|------------------------|--------------------------------|----------------------------------------------|---------|---------|---------|---------|----------|
| ESTRUTURAS             |                                | AM                                           | DE      | C       | AM      | DE      | C        |
| TÉCNICAS HISTOQUÍMICAS |                                |                                              |         |         |         |         |          |
| GRUPO 1-2<br>Glicol    | A-Reação do PAS                | +++                                          | -       | +++     | +       | ++      | +++      |
|                        | acetilação + PAS               | -                                            | -       | -       | -       | -       | -        |
|                        | acetilação + sap. + PAS        | +++                                          | -       | +++     | +       | ++      | +++      |
|                        | sulfatação + AT pH 1,5         | ++(M)                                        | -       | ++(M)   | ++(M)   | -       | -        |
|                        | sulfatação + AT pH 2,2         | +++ (M)                                      | -       | +++ (M) | ++ (M)  | ++ (M)  | ++ (M)   |
|                        | sulfatação + AT pH 3,4         | +++ (M)                                      | -       | +++ (M) | +++ (M) | +++ (M) | ++ (M)   |
|                        | sulfatação + AT pH 5,6         | +++ (M)                                      | -       | +++ (M) | ++ (M)  | -       | +++ (O)  |
| Glic.                  | amilase + PAS                  | I                                            |         | I       | I       | I       | I        |
| GRUPO CARBOXÍLICO      | "inespecíficos"                | B-Basofilia                                  |         |         |         |         |          |
|                        |                                | Safranina O                                  | +++ (M) | -       | +++ (M) | -       | ++ (M)   |
|                        |                                | Azul de alcian pH 2,5                        | +++     | -       | +++     | -       | +++      |
|                        |                                | Aldeído fucsina                              | +++     | -       | +++     | -       | +++      |
|                        |                                | Azul de toluidina (pH 2,2-3,4-5,6)           | ++ (M)  | -       | ++ (M)  | -       | -        |
|                        | C-Captura de ferro             | Metilação + capt. Fe                         | +++     | -       | +++     | -       | +++      |
|                        |                                | Metilação + sap. + capt. Fe                  | -       | -       | -       | -       | +++      |
|                        |                                | Metilação + corantes básicos                 | -       | -       | -       | -       | ++       |
|                        | D-Metilação + corantes básicos | Metilação + sap. + corantes básicos          | -       | -       | -       | -       | -        |
|                        |                                | E-Coloração combinada - AA-PAS               | A       | -       | Vt      | -       | Vt       |
|                        | ácido siálico                  | F-Hidrólise ácida                            |         |         |         |         |          |
|                        |                                | Hidrólise ácida + SO                         | ++ (M)  | -       | +++ (M) | -       | +(M)     |
|                        |                                | Hidrólise ácida + AA pH 2,5                  | ++      | -       | +++     | -       | +++      |
|                        |                                | Hidrólise ácida + AF                         | ++      | -       | +++     | -       | +++      |
|                        |                                | Hidrólise ácida + Fe                         | +++     | -       | +++     | -       | +++      |
|                        |                                | Hidrólise ácida + AT em pH 1,5-2,2-3,4 e 5,6 | -       | -       | -       | -       | -        |
|                        | G-Teste da sialidase           | Sialidase + AA pH 2,5 e AF                   | S       | -       | I       | -       | I        |
|                        |                                | KOH + sialidase + AA pH 2,5 e AF             | S       | -       | I       | -       | I        |
|                        |                                | Hialuronidase testicl. + AA pH 2,5           | I       | -       | I       | -       | I        |
|                        |                                |                                              |         |         |         |         |          |
| GRUPO SULFATO          | H-AA pH 1,0                    | ++                                           | -       | +       | ++      | -       | ++       |
|                        | AT pH 1,5                      | -                                            | -       | -       | -       | -       | -        |
|                        | Metilação + AT pH 1,5          | -                                            | -       | -       | -       | -       | -        |
|                        | Metilação + sap. + AT pH 1,5   | -                                            | -       | -       | -       | -       | -        |
|                        | I-Coloração combinada          |                                              |         |         |         |         |          |
|                        | AA-AF                          | A                                            | -       | A       | A       | -       | A        |
|                        | AF-AA                          | A                                            | -       | A e P   | A-PAZ-P | -       | AP-PAZ-P |

TABELA 6 - RESULTADOS HISTOQUÍMICOS (GLÚCIDES) OBTIDOS NA SUBLINGUAL DE CARNÍVOROS

| ANIMAIS                |                                | CÃO                                          |        |     |       | GATO    |         |    |        |
|------------------------|--------------------------------|----------------------------------------------|--------|-----|-------|---------|---------|----|--------|
| ESTRUTURAS             |                                | AM                                           | AS     | DE  | C     | AM      | AS      | DE | C      |
| TÉCNICAS HISTOQUÍMICAS |                                |                                              |        |     |       |         |         |    |        |
| GRUPO 1-2<br>Glicol    | A-Reação do PAS                | +++                                          | +++g   | g   | ++    | +       | +++     | -  | +++g   |
|                        | acetilação + PAS               | -                                            | -      | -   | -     | -       | -       | -  | -      |
|                        | acetilação + sap. + PAS        | +++                                          | +++g   | -   | ++    | +       | +++     | -  | +++g   |
|                        | sulfatação + AT pH 1,5         | -                                            | ++(M)g | -   | ++(M) | ++(M)   | ++(M)   | -  | ++(M)g |
|                        | sulfatação + AT pH 2,2         | +++ (M)                                      | ++(M)g | -   | ++(M) | ++(M)   | ++(M)   | -  | ++(M)g |
|                        | sulfatação + AT pH 3,4         | +++ (M)                                      | ++(M)g | -   | ++(M) | +++ (M) | ++(M)   | -  | ++(M)g |
|                        | sulfatação + AT pH 5,6         | +++ (M)                                      | ++(M)g | -   | ++(M) | -       | -       | -  | -      |
| Glic.                  | amilase + PAS                  | I                                            | I      |     | I     | I       | I       |    | I      |
| GRUPO CARBOXÍLICO      | "inespecíficos"                | B-Basofilia                                  |        |     |       |         |         |    |        |
|                        |                                | Safranina O                                  | ++ (M) | -   | -     | -       | +++ (M) | -  | -      |
|                        |                                | Azul de alcian pH 2,5                        | +++    | ++g | -     | +       | ++      | -  | -      |
|                        |                                | Aldeído fucsina                              | +++    | -   | -     | -       | +++     | -  | -      |
|                        |                                | Azul de toluidina (pH 2,2-3,4-5,6)           | -      | -   | -     | -       | -       | -  | -      |
|                        | C-Captura de ferro             | Metilação + capt. Fe                         | +++    | ++g | -     | +       | +++     | -  | -      |
|                        |                                | Metilação + sap. + capt. Fe                  | -      | -   | -     | -       | -       | -  | -      |
|                        |                                | Metilação + corantes básicos                 | -      | -   | -     | -       | -       | -  | -      |
|                        | D-Metilação + corantes básicos | Metilação + sap. + corantes básicos          | -      | -   | -     | -       | -       | -  | -      |
|                        |                                | E-Coloração combinada - AA-PAS               | Vt     | Vrg | -     | Vr      | A       | Vr | Vrg    |
|                        | ácido siálico                  | F-Hidrólise ácida                            |        |     |       |         |         |    |        |
|                        |                                | Hidrólise ácida + SO                         | +(M)   | -   | -     | -       | +(M)    | -  | -      |
|                        |                                | Hidrólise ácida + AA pH 2,5                  | ++     | -   | -     | -       | +++     | -  | -      |
|                        |                                | Hidrólise ácida + AF                         | ++     | -   | -     | -       | ++      | -  | -      |
|                        |                                | Hidrólise ácida + Fe                         | +++    | -   | -     | -       | +++     | -  | -      |
|                        |                                | Hidrólise ácida + AT em pH 1,5-2,2-3,4 e 5,6 | -      | -   | -     | -       | -       | -  | -      |
|                        |                                | G-Teste da sialidase                         |        |     |       |         |         |    |        |
|                        |                                | Sialidase + AA pH 2,5 e AF                   | I      | S   |       | I       | I       |    |        |
|                        |                                | KOH + sialidase + AA pH 2,5 e AF             | pS     | S   |       | S       | I       |    |        |
|                        |                                | Hialuronidase testicl. + AA pH 2,5           | I      | I   |       | I       | I       |    |        |
| GRUPO SULFATO          | H-AA pH 1,0                    | ++                                           | -      | -   | -     | ++      | -       | -  | -      |
|                        | AT pH 1,5                      | -                                            | -      | -   | -     | -       | -       | -  | -      |
|                        | Metilação + AT pH 1,5          | -                                            | -      | -   | -     | -       | -       | -  | -      |
|                        | Metilação + sap. + AT pH 1,5   | -                                            | -      | -   | -     | -       | -       | -  | -      |
|                        | I-Coloração combinada          |                                              |        |     |       |         |         |    |        |
|                        | AA-AF                          | A                                            | A      | -   | -     | A       | -       | -  | -      |
|                        | AF-AA                          | A                                            | A      | -   | -     | AP-Paz  | -       | -  | -      |

TABELA 7 - RESULTADOS HISTOQUÍMICOS (GLÚCIDES) OBTIDOS NA PARÓTIDA DE ROEDORES

| ANIMAIS                |                              | CAMUNDONGO                                   |    |       | HAMSTER |    |         | RATO    |    |         |
|------------------------|------------------------------|----------------------------------------------|----|-------|---------|----|---------|---------|----|---------|
|                        |                              | AS                                           | DE | DI    | AS      | DE | DI      | AS      | DE | DI      |
| TÉCNICAS HISTOQUÍMICAS |                              |                                              |    |       |         |    |         |         |    |         |
| GRUPO 1-2<br>Glicol    | A-Reação do PAS              | +++                                          | ++ | +++   | +++     | -  | +++     | ++      | +  | +++     |
|                        | acetilação + PAS             | -                                            | -  | -     | -       | -  | -       | -       | -  | -       |
|                        | acetilação + sap. + PAS      | +++                                          | ++ | +++   | +++     | -  | +++     | ++      | +  | +++     |
|                        | sulfatação + AT pH 1,5       | ++(M)                                        | -  | ++(M) | +(O)    | -  | +++ (M) | -       | -  | ++(M)   |
|                        | sulfatação + AT pH 2,2       | +++ (M)                                      | -  | ++(M) | +++ (M) | -  | +++ (M) | +++ (M) | -  | +++ (M) |
|                        | sulfatação + AT pH 3,4       | ++(M)                                        | -  | ++(M) | +++ (M) | -  | +++ (M) | +++ (M) | -  | +++ (M) |
|                        | sulfatação + AT pH 5,6       | -                                            | -  | -     | ++(M)   | -  | +++ (M) | +(O)    | -  | -       |
| Glic.                  | amilase + PAS                | I                                            | I  | I     | I       |    | I       | I       | I  | I       |
| GRUPO CARBOXÍLICO      | "inespecíficos"              | B-Basofilia                                  |    |       |         |    |         |         |    |         |
|                        |                              | Safranina O                                  | -  | -     | -       | -  | -       | -       | -  | -       |
|                        |                              | Azul de alcian pH 2,5                        | -  | -     | -       | +  | -       | -       | -  | -       |
|                        |                              | Aldeído fucsina                              | -  | -     | -       | +  | -       | -       | -  | -       |
|                        |                              | Azul de toluidina (pH 2,2-3,4-5,6)           | -  | -     | -       | -  | -       | -       | -  | -       |
|                        |                              | C-Captura de ferro                           | -  | -     | -       | -  | -       | -       | -  | -       |
|                        |                              | Metilação + capt.Fe                          | -  | -     | -       | -  | -       | -       | -  | -       |
|                        |                              | Metilação + sap. + capt.Fe                   | -  | -     | -       | -  | -       | -       | -  | -       |
|                        |                              | D-Metilação + corantes básicos               | -  | -     | -       | -  | -       | -       | -  | -       |
|                        |                              | Metilação + sap. + corantes básicos          | -  | -     | -       | -  | -       | -       | -  | -       |
|                        |                              | E-Coloração combinada - AA-PAS               | Vr | Vr    | Vr      | Vt | -       | Vr      | Vr | Vr      |
|                        | ácido siálico                | F-Hidrólise ácida                            |    |       |         |    |         |         |    |         |
|                        |                              | Hidrólise ácida + SO                         | -  | -     | -       | -  | -       | -       | -  | -       |
|                        |                              | Hidrólise ácida + AA pH 2,5                  | -  | -     | -       | +  | -       | -       | -  | -       |
|                        |                              | Hidrólise ácida + AF                         | -  | -     | -       | -  | -       | -       | -  | -       |
|                        |                              | Hidrólise ácida + capt.Fe                    | -  | -     | -       | -  | -       | -       | -  | -       |
|                        |                              | Hidrólise ácida + AT em pH 1,5-2,2-3,4 e 5,6 | -  | -     | -       | -  | -       | -       | -  | -       |
|                        |                              | G-Teste da sialidase                         |    |       |         |    |         |         |    |         |
|                        |                              | Sialidase + AA pH 2,5 e AF                   |    |       |         | I  |         |         |    |         |
|                        |                              | KOH + sialidase + AA pH 2,5 e AF             |    |       |         | S  |         |         |    |         |
|                        |                              | Hialuronidase testicl+AA pH 2,5              |    |       |         | I  |         |         |    |         |
| GRUPO SUEEATO          | H-AA pH 1,0                  | -                                            | -  | -     | -       | -  | -       | -       | -  | -       |
|                        | AT pH 1,5                    | -                                            | -  | -     | -       | -  | -       | -       | -  | -       |
|                        | Metilação + AT pH 1,5        | -                                            | -  | -     | -       | -  | -       | -       | -  | -       |
|                        | Metilação + sap. + AT pH 1,5 | -                                            | -  | -     | -       | -  | -       | -       | -  | -       |
|                        | I-Coloração combinada        |                                              |    |       |         |    |         |         |    |         |
|                        | AA-AF                        | -                                            | -  | -     | A       | -  | -       | -       | -  | -       |
|                        | AF-AA                        | -                                            | -  | -     | A       | -  | -       | -       | -  | -       |

TABELA 8 - RESULTADOS HISTOQUÍMICOS (GLÚCIDES) OBTIDOS NA SUBMANDIBULAR DE ROEDORES

| ANIMAIS                |                                | CAMUNDONGO                                 |         |    | HAMSTER |         |         | RATO   |         |    |
|------------------------|--------------------------------|--------------------------------------------|---------|----|---------|---------|---------|--------|---------|----|
|                        |                                | AM                                         | DG      | DI | AM      | DG      | DI      | AM     | DG      | DI |
| ESTRUTURAS             |                                |                                            |         |    |         |         |         |        |         |    |
| TÉCNICAS HISTOQUÍMICAS |                                |                                            |         |    |         |         |         |        |         |    |
| GRUPO 1-2<br>Glicol    | A-Reação do PAS                | +++                                        | ++      | -  | +++     | ++      | +++     | +++    | ++      | +  |
|                        | acetilação + PAS               | -                                          | -       | -  | -       | -       | -       | -      | -       | -  |
|                        | acetilação + sap. + PAS        | +++                                        | ++      | -  | +++     | ++      | +++     | +++    | ++      | +  |
|                        | sulfatação + AT pH 1,5         | -                                          | +(O)    | -  | +(M)    | ++(O)   | ++(M)   | -      | +(M)    | -  |
|                        | sulfatação + AT pH 2,2         | +++ (M)                                    | ++(O)   | -  | ++(M)   | -       | +++ (M) | ++ (M) | ++ (M)  | -  |
|                        | sulfatação + AT pH 3,4         | +++ (M)                                    | +++ (O) | -  | ++(M)   | +++ (O) | +++ (M) | ++ (M) | ++ (M)  | -  |
|                        | sulfatação + AT pH 5,6         | -                                          | ++(O)   | -  | ++(M)   | ++(O)   | +++ (M) | ++ (M) | +++ (M) | -  |
| ilic.                  | amilase + PAS                  | I                                          | I       | -  | I       | I       | I       | I      | I       | I  |
| GRUPO CARBOXILICO      | "inespecíficos"                | B-Basofilia                                |         |    |         |         |         |        |         |    |
|                        |                                | Safranina O                                | ++(M)   | -  | -       | ++(M)   | -       | -      | +(M)    | -  |
|                        |                                | Azul de alcian pH 2,5                      | ++      | -  | -       | ++      | -       | -      | ++      | -  |
|                        |                                | Aldeído fucsina                            | ++      | -  | -       | ++      | -       | -      | -       | -  |
|                        |                                | Azul de toluidina (pH 2,2-3,4-5,6)         | -       | -  | -       | -       | -       | -      | -       | -  |
|                        | C-Captura de ferro             | Metilação + capt. Fe                       | ++      | -  | -       | +       | -       | -      | ++      | -  |
|                        |                                | Metilação + sap. + capt. Fe                | ++      | -  | -       | +       | -       | -      | ++      | -  |
|                        |                                | D-Metilação + corantes básicos             | -       | -  | -       | -       | -       | -      | -       | -  |
|                        | E-Coloração combinada - AA-PAS | Metilação + sap. + corantes básicos        | +       | -  | -       | -       | -       | -      | -       | -  |
|                        |                                |                                            | A       | Vr | -       | A       | Vr      | Vr     | Vt      | Vr |
|                        |                                |                                            |         |    |         |         |         |        |         |    |
|                        | ácido siálico                  | F-Hidrólise ácida                          |         |    |         |         |         |        |         |    |
|                        |                                | Hidrólise ácida + SO                       | +(M)    | -  | -       | -       | -       | -      | +(M)    | -  |
|                        |                                | Hidrólise ácida + AA pH 2,5                | +       | -  | -       | -       | -       | -      | -       | -  |
|                        |                                | Hidrólise ácida + AF                       | -       | -  | -       | -       | -       | -      | -       | -  |
|                        |                                | Hidrólise ácida + Fe                       | +       | -  | -       | +       | -       | -      | ++      | -  |
|                        |                                | Hidrólise ácida + AT em pH 1,5-2,2-3,4-5,6 | -       | -  | -       | -       | -       | -      | -       | -  |
|                        |                                | G-Teste da sialidase                       |         |    |         |         |         |        |         |    |
|                        |                                | Sialidase + AA pH 2,5 e AF                 | S       |    |         | S       |         |        | I       |    |
|                        |                                | KOH + sialidase + AA pH 2,5 e AF           | S       |    |         | S       |         |        | I       |    |
|                        |                                | Hialuronidase testicl. + AA pH 2,5         | I       |    |         | I       |         |        | I       |    |
| GRUPO SULFATO          | H-AA pH 1,0                    | AT pH 1,5                                  | -       | -  | -       | -       | -       | -      | -       | -  |
|                        |                                | Metilação + AT pH 1,5                      | -       | -  | -       | -       | -       | -      | -       | -  |
|                        |                                | Metilação + sap. + AT pH 1,5               | -       | -  | -       | -       | -       | -      | -       | -  |
|                        |                                | I-Coloração combinada                      |         |    |         |         |         |        |         |    |
|                        | AA-AA                          |                                            | A       | -  | -       | A       | -       | -      | A       | -  |
|                        |                                |                                            | A       | -  | -       | A       | -       | -      | A       | -  |

## OBSERVAÇÕES

- \* = Alguns ácidos da sublingual do camundongo e do hamster apresentam-se fracamente metacromáticos após coloração com o azul de toluidina somente em pH 2,2.
  
- \*\* = Os ácidos mucosos da sublingual do hamster após ação da sialidase e da hidrólise ácida, apresentam-se, depois de corados com os corantes básicos, com os seguintes aspectos: maioria dos ácidos é corada negativamente; porém, existem ácidos ou células com basofilia inalterada e outros ácidos ou células com basofilia parcialmente sensível aos tratamentos hidrolíticos.
  
- 9 = Maioria das células coram-se em azul, porém existem células coradas em púrpura azulado e células coradas em púrpura.

\*  
\*\* \*

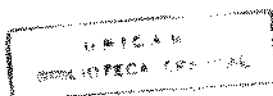


TABELA 9 - RESULTADOS HISTOQUÍMICOS (GLÚCIDES) OBTIDOS NA SUBLINGUAL DE ROEDORES

| ANIMAIS                |                              | CAMUNDONGO                                   |         |         | HAMSTER |         |         | RATO   |        |         |
|------------------------|------------------------------|----------------------------------------------|---------|---------|---------|---------|---------|--------|--------|---------|
|                        |                              | AM                                           | DE      | C       | AM      | DE      | C       | AM     | DE     | C       |
| TÉCNICAS HISTOQUÍMICAS |                              |                                              |         |         |         |         |         |        |        |         |
| GRUPO 1-2<br>Glicol    | A-Reação do PAS              | +++                                          | -       | ++      | +++     | -       | +++     | +++    | -      | ++      |
|                        | acetilação + PAS             | -                                            | -       | -       | -       | -       | -       | -      | -      | -       |
|                        | acetilação + sap. + PAS      | +++                                          | -       | ++      | +++     | -       | +++     | +++    | -      | ++      |
|                        | sulfatação + AT pH 1,5       | -                                            | -       | -       | ++(M)   | -       | +++ (M) | -      | -      | ++(M)   |
|                        | sulfatação + AT pH 2,2       | +++ (M)                                      | -       | +++ (M) | +++ (M) | -       | +++ (M) | ++ (M) | -      | +++ (M) |
|                        | sulfatação + AT pH 3,4       | +++ (M)                                      | -       | +++ (M) | +++ (M) | -       | +++ (M) | ++ (M) | -      | ++ (M)  |
|                        | sulfatação + AT pH 5,6       | +++ (M)                                      | -       | -       | ++ (M)  | -       | +++ (M) | -      | -      | ++ (M)  |
| Glic.                  | amilase + PAS                | I                                            |         | I       | I       |         | I       | I      |        | I       |
| GRUPO CARBOXÍLICO      | "inespecíficos"              | B-Basofilia                                  |         |         |         |         |         |        |        |         |
|                        |                              | Safranina O                                  | +++ (M) | -       | -       | +++ (M) | -       | -      | ++ (M) | -       |
|                        |                              | Azul de alcian pH 2,5                        | +++     | -       | ++      | +++     | -       | ++     | +++    | -       |
|                        |                              | Aldeído fucsina                              | +++     | -       | -       | +++     | -       | -      | +++    | -       |
|                        |                              | Azul de toluidina (pH 2,2-3,4-5,6)           | +       | -       | -       | +       | -       | -      | -      | -       |
|                        |                              | C-Captura de ferro                           | +++     | -       | ++      | ++      | -       | ++     | +++    | -       |
|                        |                              | Metilação + capt. Fe                         | +       | -       | +       | -       | -       | ++     | -      | -       |
|                        |                              | Metilação + sap. + capt. Fe                  | -       | -       | -       | -       | -       | -      | -      | -       |
|                        |                              | D-Metilação + corantes básicos               | -       | -       | -       | -       | -       | -      | -      | -       |
|                        |                              | Metilação + sap. + corantes básicos          | ++      | -       | +       | +       | -       | +      | -      | -       |
|                        |                              | E-Coloração combinada - AA-PAS               | A       | -       | Vt      | A       | -       | Vt     | A      | -       |
|                        | ácido siálico                | F-Hidrólise ácida                            |         |         |         |         |         |        |        |         |
|                        |                              | Hidrólise ácida + SO                         | -       | -       | -       | -       | -       | -      | -      | -       |
|                        |                              | Hidrólise ácida + AA pH 2,5                  | +       | -       | -       | **      | -       | -      | +      | -       |
|                        |                              | Hidrólise ácida + AF                         | +       | -       | -       | **      | -       | -      | ++     | -       |
|                        |                              | Hidrólise ácida + Fe                         | +++     | -       | -       | **      | -       | -      | +++    | -       |
|                        |                              | Hidrólise ácida + AT em pH 1,5-2,2-3,4 e 5,6 | -       | -       | -       | -       | -       | -      | -      | -       |
|                        |                              | G-Teste da sialidase                         |         |         |         |         |         |        |        |         |
|                        |                              | Sialidase + AA pH 2,5 e AF                   | S       |         | S       | **      |         | S      | I      |         |
|                        |                              | KOH + sialidase + AA pH 2,5 e AF             | S       |         | S       | **      |         | S      | I      |         |
|                        |                              | Hialuronidase testicl. AA pH 2,5             | I       |         | I       | I       |         | I      | I      |         |
| GRUPO SULFATO          | H-AA pH 1,0                  | -                                            | -       | -       | -       | -       | -       | -      | -      | -       |
|                        | AT pH 1,5                    | -                                            | -       | -       | -       | -       | -       | -      | -      | -       |
|                        | Metilação + AT pH 1,5        | -                                            | -       | -       | -       | -       | -       | -      | -      | -       |
|                        | Metilação + sap. + AT pH 1,5 | -                                            | -       | -       | -       | -       | -       | -      | -      | -       |
|                        | I-Coloração combinada        |                                              |         |         |         |         |         |        |        |         |
|                        | AA-AF                        | A                                            | -       | A       | A       | -       | A       | A      | -      | -       |
|                        | AF-AA                        | A                                            | -       | A       | A       | -       | A       | A      | -      | -       |

3.2 - TABELAS DOS RESULTADOS DOS GRUPOS REATIVOS DE  
PROTEÍNAS OBTIDOS NAS GLÂNDULAS PARÓTIDA, SUB  
MANDIBULAR E SUBLINGUAL DE ARTIODÁCTILOS, CAR  
NÍVOROS E ROEDORES.

### LEGENDAS

Nh-Schiff = ninhidrina-reativo de Schiff; ác.nitr. = ácido nitroso; Benz. = benzoilação; AFM = acetato de fenil mercúrio; ác.perf. = ácido perfórmico; Ferric. = ferricianeto; ferr. = férrico; - HgCl<sub>2</sub> = bicloreto de mercúrio; ác. tiogli. = ácido tioglicólico; DAMB = p-dimetilaminobenzaldeído; (B) = basal; g = grânulos. - AS = ácino seroso; AM = ácino mucoso; DE = ducto estriado; DI = ducto intercalar; DG = ducto granuloso; Mast. = mastócito; Cito = citoplasma; + = reação fraca; ++ = reação moderada; +++ = reação forte.

\*

\*      \*

TABELA 10 - RESULTADOS DOS GRUPOS REATIVOS DE PROTEÍNAS OBTIDOS NA PARÓTIDA DE  
ARTIODÁCTILOS

| MÉTODOS                                                    | ANIMAIS | ESTRUTURAS | BOI |                   |     | PORCO |      |     |
|------------------------------------------------------------|---------|------------|-----|-------------------|-----|-------|------|-----|
|                                                            |         |            | AS  | DE<br>Mast. Cito. | DI  | AS    | DE   | DI  |
| Nh.-Schiff                                                 |         |            | +   | -                 | +   | -     | +    | +   |
| ác.nitr. + Nh-Schiff                                       |         |            | -   | -                 | -   | -     | -    | -   |
| Sakaguchi (arginina)                                       |         |            | +   | -                 | +   | -     | ++   | -   |
| Benz. + Sakaguchi                                          |         |            | -   | -                 | -   | -     | -    | -   |
| Ferricianeto férrico                                       |         |            | +   | +++               | ++  | -     | ++   | -   |
| H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> + Ferricianeto férrico       |         |            | +   | +++               | ++  | -     | ++   | -   |
| AFM + Ferricianeto férrico                                 |         |            | +   | +++               | ++  | -     | ++   | -   |
| Iôdo + Ferricianeto férrico                                |         |            | +   | +++               | ++  | -     | ++   | -   |
| ác.perf. + Ferric. férrico                                 |         |            | +   | +++               | ++  | -     | ++   | -   |
| HgCl <sub>2</sub> + Ferricianeto férrico                   |         |            | +   | +++               | ++  | -     | ++   | -   |
| ác.tiogl. + Ferric. férrico                                |         |            | ++  | ++                | -   | -     | +(B) | -   |
| ác.tiogl. + H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> + Ferric.férrico |         |            | -   | ++                | -   | -     | -    | -   |
| ác.tiogl. + Iôdo + Ferric.férr.                            |         |            | -   | ++                | -   | -     | -    | -   |
| ác.tiogl. + ác.perf.+Ferric.férr.                          |         |            | -   | ++                | -   | -     | -    | -   |
| ác.tiogl. + AFM + Ferric.férr.                             |         |            | -   | ++                | -   | -     | -    | -   |
| ác.tiogl. + HgCl <sub>2</sub> + Ferric.férr.               |         |            | -   | ++                | -   | -     | -    | -   |
| DAMB-nitrito                                               |         |            | +   | -                 | -   | +     | +    | -   |
| ác.perf. + DAMB-nitrito                                    |         |            | -   | -                 | -   | -     | -    | -   |
| Millon (tirosina)                                          |         |            | ++  | -                 | +++ | -     | +    | +++ |
| Iodação + Millon                                           |         |            | -   | -                 | -   | -     | -    | -   |

TABELA 11 - RESULTADOS DOS GRUPOS REATIVOS DE PROTEÍNAS OBTIDOS NA SUBMANDIBULAR DE  
ARTIODÁCTILOS

| MÉTODOS                                                  | ANIMAIS<br>ESTRUTURAS | BOI |    |      | PORCO |    |     |
|----------------------------------------------------------|-----------------------|-----|----|------|-------|----|-----|
|                                                          |                       | AM  | DE | C    | AM    | DE | C   |
| Nh. Schiff                                               |                       | -   | +  | ++   | -     | +  | +++ |
| ác.nitr. + Nh-Schiff                                     |                       | -   | -  | -    | -     | -  | -   |
| Sakaguchi (arginina)                                     |                       | -   | -  | ++   | -     | ++ | +   |
| Benz. + Sakaguchi                                        |                       | -   | -  | -    | -     | -  | -   |
| Ferricianeto férrico                                     |                       | -   | ++ | ++   | -     | ++ | ++  |
| H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> + Ferricianeto férrico     |                       | -   | ++ | ++   | -     | ++ | ++  |
| AFM + Ferricianeto férrico                               |                       | -   | ++ | ++   | -     | ++ | ++  |
| Iôdo + Ferricianeto férrico                              |                       | -   | ++ | ++   | -     | ++ | ++  |
| ác.perf. + Ferric. férrico                               |                       | -   | ++ | ++   | -     | ++ | ++  |
| HgCl <sub>2</sub> + Ferricianeto férrico                 |                       | -   | ++ | ++   | -     | ++ | ++  |
| ác.tiogl. + Ferric. férrico                              |                       | -   | +  | +++  | -     | -  | +   |
| ác.tiogl. + H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> + Ferric.férr. |                       | -   | -  | -    | -     | -  | +   |
| ác.tiogl. + Iôdo + Ferric.férr.                          |                       | -   | -  | -    | -     | -  | -   |
| ác.tiogl. + ác.perf.+Ferric.férr.                        |                       | -   | -  | -    | -     | -  | -   |
| ác.tiogl. + AFM + Ferric.férr.                           |                       | -   | -  | -    | -     | -  | -   |
| ác.tiogl. + HgCl <sub>2</sub> + Ferric.férr.             |                       | -   | -  | -    | -     | -  | -   |
| DAMB -nitrito                                            |                       | -   | -  | -    | -     | +  | -   |
| ác.perf. + DAMB-nitrito                                  |                       | -   | -  | -    | -     | -  | -   |
| Millon (tirosina)                                        |                       | -   | ++ | +++g | -     | ++ | ++  |
| Iodação + Millon                                         |                       | -   | -  | -    | -     | -  | -   |

TABELA 12 - RESULTADOS DOS GRUPOS REATIVOS DE PROTEÍNAS OBTIDOS NA SUBLINGUAL DOS  
ARTIODÁCTILOS

| ANIMAIS<br>ESTRUTURAS                                    | BOI |     |    |    | PORCO |     |    |     |
|----------------------------------------------------------|-----|-----|----|----|-------|-----|----|-----|
|                                                          | AM  | AS  | DE | C  | AM    | AS  | DE | C   |
| MÉTODOS                                                  |     |     |    |    |       |     |    |     |
| Nh.-Schiff                                               | -   | +   | -  | +  | -     | ++  | -  | ++  |
| ác.nitr. + Nh.-Schiff                                    | -   | -   | -  | -  | -     | -   | -  | -   |
| Sakaguchi (arginina)                                     | -   | -   | -  | -  | -     | ++  | +  | +   |
| Benz. + Sakaguchi                                        | -   | -   | -  | -  | -     | -   | -  | -   |
| Ferricianeto férrico                                     | -   | +++ | ++ | ++ | -     | ++  | -  | ++  |
| H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> + Ferricianeto férrico     | -   | ++  | -  | ++ | -     | ++  | -  | ++  |
| AFM + Ferricianeto férrico                               | -   | ++  | ++ | ++ | -     | ++  | -  | ++  |
| Iôdo + Ferricianeto férrico                              | -   | ++  | ++ | ++ | -     | ++  | -  | ++  |
| ác.perf. + Ferric.férrico                                | -   | ++  | -  | ++ | -     | ++  | -  | ++  |
| HgCl <sub>2</sub> + Ferricianeto férrico                 | -   | ++  | -  | ++ | -     | ++  | -  | ++  |
| ác.tiogl. + Ferric.férrico                               | -   | +++ | -  | ++ | -     | +++ | -  | ++  |
| ác.tiogl. + H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> + Ferric.férr. | -   | -   | -  | +  | -     | +++ | -  | ++  |
| ác.tiogl. + Iôdo + Ferric.férr.                          | -   | ++  | -  | +  | -     | +   | -  | +   |
| ác.tiogl. + ác.perf. + Ferric.férr.                      | -   | ++  | -  | +  | -     | +   | -  | +   |
| ác. tiogl.+ AFM + Ferric.férr.                           | -   | +++ | -  | ++ | -     | +++ | -  | +++ |
| ác.tiogl. + HgCl <sub>2</sub> + Ferric.férr.             | -   | +   | -  | +  | -     | +   | -  | +   |
| DAMB-nitrito                                             | -   | ++  | -  | ++ | -     | +++ | -  | +++ |
| ác.perf. + DAMB-nitrito                                  | -   | -   | -  | -  | -     | -   | -  | -   |
| Millon (tirosina)                                        | -   | ++  | ++ | ++ | -     | ++  | ++ | ++  |
| Iodação + Millon                                         | -   | -   | -  | -  | -     | -   | -  | -   |

TABELA 13 - RESULTADOS DOS GRUPOS REATIVOS DE PROTEÍNAS OBTIDOS NA PARÓTIDA DE  
CARNÍVOROS

| MÉTODOS                                                  | ANIMAIS    | CÃO |    |     |     |    | GATO |    |    |
|----------------------------------------------------------|------------|-----|----|-----|-----|----|------|----|----|
|                                                          | ESTRUTURAS | AS  | DE | AM  | C   | DI | AS   | DE | DI |
| Nh.-Schiff                                               |            | +   | -  | -   | +++ | -  | ++   | -  | -  |
| ác.nitr. + Nh.-Schiff                                    |            | -   | -  | -   | -   | -  | -    | -  | -  |
| Sakaguchi (arginina)                                     |            | +   | +  | -   | -   | +  | +(B) | ++ | ++ |
| Benz. + Sakaguchi                                        |            | -   | -  | -   | -   | -  | -    | -  | -  |
| Ferricianeto férrico                                     |            | +   | -  | +   | +++ | -  | +    | -  | -  |
| H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> + Ferricianeto férrico     |            | +   | -  | +   | +++ | -  | +    | -  | -  |
| AFM + Ferricianeto férrico                               |            | +   | -  | +   | +++ | -  | +    | -  | -  |
| Iôdo + Ferricianeto férrico                              |            | +   | -  | +   | +++ | -  | +    | -  | -  |
| ác.perf. + Ferric. férrico                               |            | +   | -  | +   | +++ | -  | +    | -  | -  |
| HgCl <sub>2</sub> + Ferricianeto férrico                 |            | +   | -  | +   | +++ | -  | +    | -  | -  |
| ác.tiogl. + Ferric. férrico                              |            | ++  | ++ | +++ | -   | -  | ++   | -  | -  |
| ác.tiogl. + H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> + Ferric.férr. |            | -   | -  | +   | -   | -  | -    | -  | -  |
| ác.tiogl. + Iôdo + Ferric.férr.                          |            | -   | -  | +   | -   | -  | -    | -  | -  |
| ác.tiogl. + ác.perf. + Ferric.Férr.                      |            | -   | -  | +   | -   | -  | -    | -  | -  |
| ác.tiogl. + AFM + Ferric.férr.                           |            | -   | -  | +   | -   | -  | -    | -  | -  |
| ác.tiogl. + HgCl <sub>2</sub> + Ferric.férr.             |            | -   | -  | +   | -   | -  | -    | -  | -  |
| DAMB-nitrito                                             |            | ++  | -  | -   | ++  | -  | +++  | -  | -  |
| ác.perf. + DAMB-nitrito                                  |            | -   | -  | -   | -   | -  | -    | -  | -  |
| Millon (tirosina)                                        |            | +++ | -  | -   | +++ | -  | +    | +  | +  |
| Iodação + Millon                                         |            | -   | -  | -   | -   | -  | -    | -  | -  |

TABELA 14 - RESULTADOS DOS GRUPOS REATIVOS DE PROTEÍNAS OBTIDOS NA SUBMANDIBULAR DE  
CARNÍVOROS

| ANIMAIS<br>ESTRUTURAS                                    | CÃO |    |     | GATO |     |     |
|----------------------------------------------------------|-----|----|-----|------|-----|-----|
|                                                          | AM  | DE | C   | AM   | DE  | C   |
| MÉTODOS                                                  |     |    |     |      |     |     |
| Nh.-Schiff                                               | -   | -  | ++  | +(B) | -   | -   |
| ác.nitr. + Nh.-Schiff                                    | -   | -  | -   | -    | -   | -   |
| Sakaguchi (arginina)                                     | -   | ++ | ++  | -    | ++  | ++  |
| Benz. + Sakaguchi                                        | -   | -  | -   | -    | -   | -   |
| Ferricianeto férrico                                     | +   | -  | +   | +    | +++ | -   |
| H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> + Ferricianeto férrico     | +   | -  | +   | +    | +++ | -   |
| AFM + Ferricianeto férrico                               | +   | -  | +   | +    | +++ | -   |
| Iôdo + Ferricianeto férrico                              | +   | -  | +   | +    | +++ | -   |
| ác.perf. + Ferric.férrico                                | +   | -  | +   | +    | +++ | -   |
| HgCl <sub>2</sub> + Ferricianeto férrico                 | +   | -  | +   | +    | +++ | -   |
| ác.tiogl. + Ferric.férrico                               | ++  | -  | ++  | +++  | +++ | -   |
| ác.tiogl. + H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> + Ferric.férr. | -   | -  | -   | +    | +   | -   |
| ác.tiogl. + Iôdo + Ferric.férr.                          | +   | -  | +   | +    | ++  | -   |
| ác.tiogl. + ác.perf. + Ferric.férr.                      | +   | -  | -   | +    | +   | -   |
| ác.tiogl. + AFM + Ferric.férr.                           | +   | -  | -   | +    | +   | -   |
| ác.tiogl. + HgCl <sub>2</sub> + Ferric.férr.             | +   | -  | -   | +    | +   | -   |
| DAMB-nitrito                                             | -   | -  | +   | -    | ++  | ++  |
| ác.perf. + DAMB-nitrito                                  | -   | -  | -   | -    | -   | -   |
| Millon (tirosina)                                        | -   | ++ | +++ | -    | ++  | +++ |
| Iodação + Millon                                         | -   | -  | -   | -    | -   | -   |

TABELA 15 - RESULTADOS DOS GRUPOS REATIVOS DE PROTEÍNAS OBTIDOS NA SUBLINGUAL DE  
CARNÍVOROS

| MÉTODOS                                                  | ANIMAIS<br>ESTRUTURAS | CÃO   |     |    |     | GATO |     |     |     |
|----------------------------------------------------------|-----------------------|-------|-----|----|-----|------|-----|-----|-----|
|                                                          |                       | AM    | AS  | DE | C   | AM   | AS  | DE  | C   |
| Nh.-Schiff                                               |                       | -     | +++ | +  | +++ | -    | ++  | -   | ++  |
| ác.nitr. + Nh.-Schiff                                    |                       | -     | -   | -  | -   | -    | -   | -   | -   |
| Sakaguchi (arginina)                                     |                       | ++(B) | ++  | ++ | ++  | -    | +++ | +++ | +++ |
| Benz. + Sakaguchi                                        |                       | -     | -   | -  | -   | -    | -   | -   | -   |
| Ferricianeto férrico                                     |                       | +     | +++ | -  | +++ | +++  | -   | -   | -   |
| H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> + Ferricianeto férrico     |                       | +     | +++ | -  | +++ | +++  | -   | -   | -   |
| AFM + Ferricianeto férrico                               |                       | +     | +++ | -  | +++ | +++  | -   | -   | -   |
| Iôdo + Ferricianeto férrico                              |                       | +     | +++ | -  | +++ | ++   | -   | -   | -   |
| ác.perf. + Ferric.férrico                                |                       | +     | +++ | -  | +++ | +++  | -   | -   | -   |
| HgCl <sub>2</sub> + Ferricianeto férrico                 |                       | +     | +++ | -  | +++ | +++  | -   | -   | -   |
| ác.tiogl. + Ferric.férrico                               |                       | ++    | +++ | -  | +++ | +++  | -   | -   | -   |
| ác.tiogl. + H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> + Ferric.férr. |                       | +     | ++  | -  | ++  | ++   | -   | -   | -   |
| ác.tiogl. + Iôdo + Ferric.férr.                          |                       | +     | +++ | -  | +++ | ++   | -   | -   | -   |
| ác.tiogl. + ác.perf. + Ferric.férr.                      |                       | -     | +   | -  | +   | +    | -   | -   | -   |
| ác.tiogl. + AFM + Ferric.férr.                           |                       | -     | +   | -  | +   | +    | -   | -   | -   |
| ác.tiogl. + HgCl <sub>2</sub> + Ferric.férr.             |                       | +     | +   | -  | +   | +    | -   | -   | -   |
| DAMB-nitrito                                             |                       | ++(B) | ++  | -  | +++ | -    | ++  | ++  | ++  |
| ác.perf. + DAMB-nitrito                                  |                       | -     | -   | -  | -   | -    | -   | -   | -   |
| Millon (tirosina)                                        |                       | -     | ++  | ++ | +++ | -    | ++  | ++  | ++  |
| Iodação + Millon                                         |                       | -     | -   | -  | -   | -    | -   | -   | -   |

TABELA 16 - RESULTADOS DOS GRUPOS REATIVOS DE PROTEÍNAS OBTIDOS NA PARÓTIDA DE  
ROEDORES

| ANIMAIS<br>ESTRUTURAS<br>MÉTODOS                         | CAMUNDONGO |    |    | HAMSTER |    |     | RATO |    |     |
|----------------------------------------------------------|------------|----|----|---------|----|-----|------|----|-----|
|                                                          | AS         | DE | DI | AS      | DE | DI  | AS   | DE | DI  |
| Nh.-Schiff                                               | ++         | -  | -  | ++      | -  | +++ | +    | -  | -   |
| ác.nitr. + Nh.-Schiff                                    | -          | -  | -  | -       | -  | -   | -    | -  | -   |
| Sakaguchi (arginina)                                     | ++         | -  | -  | +++ (B) | -  | +++ | +++  | ++ | ++  |
| Benz. + Sakaguchi                                        | -          | -  | -  | -       | -  | -   | -    | -  | -   |
| Ferricianeto férrico                                     | +          | -  | -  | -       | -  | ++  | +++  | -  | -   |
| H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> + Ferricianeto férrico     | +          | -  | -  | -       | -  | ++  | +++  | -  | -   |
| AFM + Ferricianeto férrico                               | +          | -  | -  | -       | -  | ++  | +++  | -  | -   |
| Iôdo + Ferricianeto férrico                              | +          | -  | -  | -       | -  | ++  | +++  | -  | -   |
| ác.perf. + Ferric.férrico                                | +          | -  | -  | -       | -  | ++  | +++  | -  | -   |
| HgCl <sub>2</sub> + Ferricianeto férrico                 | +          | -  | -  | -       | -  | ++  | +++  | -  | -   |
| ác.tiogl. + Ferric.férrico                               | +          | -  | -  | -       | -  | +++ | +++  | -  | -   |
| ác.tiogl. + H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> + Ferric.férr. | -          | -  | -  | -       | -  | -   | -    | -  | -   |
| ác.tiogl. + Iôdo + Ferric.férr.                          | -          | -  | -  | -       | -  | -   | -    | -  | -   |
| ác.tiogl. + ác.perf. + Ferric.férr.                      | -          | -  | -  | -       | -  | -   | -    | -  | -   |
| ác.tiogl. + AFM + Ferric.férr.                           | -          | -  | -  | -       | -  | -   | -    | -  | -   |
| ác.tiogl. + HgCl <sub>2</sub> + Ferric.férr.             | -          | -  | -  | -       | -  | -   | -    | -  | -   |
| DAMB-nitrito                                             | +++        | -  | ++ | +++     | -  | +++ | +++  | -  | ++  |
| ác.perf. + DAMB-nitrito                                  | -          | -  | -  | -       | -  | -   | -    | -  | -   |
| Millon (tirosina)                                        | +++        | ++ | ++ | +       | +  | +++ | +++  | ++ | +++ |
| Iodação + Millon                                         | -          | -  | -  | -       | -  | -   | -    | -  | -   |

TABELA 17 - RESULTADOS DOS GRUPOS REATIVOS DE PROTEÍNAS OBTIDOS NA SUBMANDIBULAR DE  
ROEDORES

| ANIMAIS<br>ESTRUTURAS<br>MÉTODOS                         | CAMUNDONGO |      |    | HAMSTER |      |     | RATO    |      |     |
|----------------------------------------------------------|------------|------|----|---------|------|-----|---------|------|-----|
|                                                          | AM         | DG   | DI | AM      | DG   | DI  | AM      | DG   | DI  |
| Nh.-Schiff                                               | +(B)       | +++g | -  | +       | +++g | -   | +       | +++g | -   |
| ác.nitr. + Nh.-Schiff                                    | -          | -    | -  | -       | -    | -   | -       | -    | -   |
| Sakaguchi (arginina)                                     | +(B)       | +g   | -  | +       | +(B) | ++  | +++ (B) | -    | ++  |
| Benz. + Sakaguchi                                        | -          | -    | -  | -       | -    | -   | -       | -    | -   |
| Ferricianeto férrico                                     | -          | -    | -  | -       | ++   | ++  | -       | -    | -   |
| H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> + Ferricianeto férrico     | -          | -    | -  | -       | ++   | ++  | -       | -    | -   |
| AFM + Ferricianeto férrico                               | -          | -    | -  | -       | ++   | ++  | -       | -    | -   |
| Iôdo + Ferricianeto férrico                              | -          | -    | -  | -       | ++   | ++  | -       | -    | -   |
| ác.perf. + Ferric.férrico                                | -          | -    | -  | -       | ++   | ++  | -       | -    | -   |
| HgCl <sub>2</sub> + Ferricianeto férrico                 | -          | -    | -  | -       | ++   | ++  | -       | -    | -   |
| ác.tiogl. + Ferric.férrico                               | -          | +++g | -  | -       | +++g | +++ | -       | +++g | -   |
| ác.tiogl. + H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> + Ferric.férr. | -          | -    | -  | -       | -    | -   | -       | -    | -   |
| ác.tiogl. + Iôdo + Ferric.férr.                          | -          | -    | -  | -       | ++   | ++  | -       | -    | -   |
| ác.tiogl. + ác.perf. + Ferric.férr.                      | -          | -    | -  | -       | -    | -   | -       | -    | -   |
| ác.tiogl. + AFM + Ferric.férr.                           | -          | -    | -  | -       | -    | -   | -       | -    | -   |
| ác.tiogl. + HgCl <sub>2</sub> + Ferric.férr.             | -          | -    | -  | -       | -    | -   | -       | -    | -   |
| DAMB-nitrito                                             | -          | +++g | -  | -       | +++  | +   | -       | +++  | -   |
| ác.perf. + DAMB-nitrito                                  | -          | -    | -  | -       | -    | -   | -       | -    | -   |
| Millon (tirosina)                                        | +          | +++  | -  | +       | +++  | +++ | +++ (B) | +++  | +++ |
| Iodação + Millon                                         | -          | -    | -  | -       | -    | -   | -       | -    | -   |

TABELA 18 - RESULTADOS DOS GRUPOS REATIVOS DE PROTEÍNAS OBTIDOS NA SUBLINGUAL DE  
ROEDORES

| ANIMAIS<br>ESTRUTURAS                                    | CAMUNDONGO |     |     | HAMSTER |    |     | RATO  |    |     |
|----------------------------------------------------------|------------|-----|-----|---------|----|-----|-------|----|-----|
|                                                          | AM         | DE  | C   | AM      | DE | C   | AM    | DE | C   |
| MÉTODOS                                                  |            |     |     |         |    |     |       |    |     |
| Nh.-Schiff                                               | ++(B)      | -   | ++  | +(B)    | -  | ++  | ++(B) | -  | ++  |
| ác.nitr. + Nh.-Schiff                                    | -          | -   | -   | -       | -  | -   | -     | -  | -   |
| Sakaguchi (arginina)                                     | +(B)       | +   | +   | -       | ++ | +++ | -     | ++ | +++ |
| Benz. + Sakaguchi                                        | -          | -   | -   | -       | -  | -   | -     | -  | -   |
| Ferricianeto férrico                                     | -          | -   | -   | +(B)    | +  | +++ | +(B)  | ++ | +++ |
| H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> + Ferricianeto férrico     | -          | -   | -   | +(B)    | +  | +++ | -     | -  | -   |
| AFM + Ferricianeto férrico                               | -          | -   | -   | +(B)    | +  | +++ | -     | -  | -   |
| Iôdo + Ferricianeto férrico                              | -          | -   | -   | -       | -  | +++ | +(B)  | -  | -   |
| ác.perf. + Ferric.férrico                                | -          | -   | -   | +(B)    | -  | +++ | +(B)  | -  | -   |
| HgCl <sub>2</sub> + Ferricianeto férrico                 | -          | -   | -   | +(B)    | -  | +++ | +(B)  | -  | -   |
| ác.tiog1. + Ferric.férrico                               | -          | -   | -   | +(B)    | ++ | +++ | +(B)  | +  | -   |
| ác.tiog1. + H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> + Ferric.férr. | -          | -   | -   | -       | -  | -   | -     | -  | -   |
| ác.tiog1. + Iôdo + Ferric.férr.                          | -          | -   | -   | -       | -  | -   | -     | -  | -   |
| ác.tiog1. + ác.perf. + Ferric.férr.                      | -          | -   | -   | -       | -  | -   | -     | -  | -   |
| ác.tiog1. + AFM + Ferric.férr.                           | -          | -   | -   | -       | -  | -   | -     | -  | -   |
| ác.tiog1. + HgCl <sub>2</sub> + Ferric.férr.             | -          | -   | -   | -       | -  | -   | -     | -  | -   |
| DAMB-nitrito                                             | -          | -   | -   | -       | -  | ++  | -     | -  | ++  |
| ác.perf. + DAMB-nitrito                                  | -          | -   | -   | -       | -  | -   | -     | -  | -   |
| Millon (tirosina)                                        | -          | +++ | +++ | +(B)    | +  | +++ | -     | ++ | +++ |
| Iodação + Millon                                         | -          | -   | -   | -       | -  | -   | -     | -  | -   |

3.3-TABELAS DE SÍNTESE DOS RESULTADOS DE GLÚCIDES E DE  
GRUPOS REATIVOS DE PROTEÍNAS, OBTIDOS NAS GLÂNDULAS  
PARÓTIDA, SUBMANDIBULAR E SUBLINGUAL DE ARTIODÁCTI-  
LOS, CARNÍVOROS E DE ROEDORES

### LEGENDAS

AS = ácino seroso; AM = ácino mucoso; C = crescente; DE = ducto estriado; DG = ducto granuloso; DI = ducto intercalar; DL = ducto interlobular;  $\text{NH}_2$  = grupo amino; SS-SH = grupos dissulfeto mais sulfidrila; SH = grupo sulfidrila; -guan. = guanidil; (B) = basal.

**TABELA 19 - RESULTADOS HISTOQUÍMICOS (GLÚCIDES E PROTEÍNAS) OBTIDOS NA PARÓTIDA DE ARTIODÁCTILOS,  
CARNÍVOROS E ROEDORES**

| Espécies<br>Animais | GLÚCIDES                                 |                  |                    |                                   | Glicogê<br>nio | PROTEÍNAS                                                            |                                           |                                                                         |             |                                             |
|---------------------|------------------------------------------|------------------|--------------------|-----------------------------------|----------------|----------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------|-------------|---------------------------------------------|
|                     | ácido carboxílico<br>"inespecí<br>ficos" | ácido<br>siálico | ácido<br>sulfatado | dotados de<br>grupo 1-2<br>glicol |                | AS                                                                   | DE                                        | DI                                                                      | AM          | C                                           |
| BOI                 | -                                        | DL +<br>C.calic. | DL ++<br>C.calic.  | DL +++<br>C.calic.                | DE +++         | NH <sub>2</sub> +<br>guan. +<br>SS-SH +<br>indol +<br>fenol +        | NH <sub>2</sub> +<br>guan. +<br>fenol +++ | -                                                                       |             |                                             |
| PORCO               | -                                        | DL +<br>C.calic. | DL ++<br>C.calic.  | DL +++<br>C.calic.                | DE +++         | NH <sub>2</sub> +<br>guan. ++<br>indol +<br>fenol +                  | NH <sub>2</sub> +<br>indol +<br>fenol +++ | -                                                                       |             |                                             |
| CÃO                 | -                                        | AS ++            | AM +++             | AS +++<br>AM +++<br>C +++         | -              | NH <sub>2</sub> +<br>guan. +<br>SS-SH +<br>indol ++<br>fenol +++     | guan. +<br>SS-SH ++                       | guan. +                                                                 | SS-SH<br>++ | NH <sub>2</sub> +++<br>indol ++<br>fenol ++ |
| GATO                | AS ++                                    | -                | -                  | AS +++                            | -              | NH <sub>2</sub> ++<br>SS-SH +<br>indol +++<br>fenol +                | guan. ++<br>fenol +                       | guan. ++<br>fenol +                                                     |             |                                             |
| RATO                | -                                        | -                | -                  | AS +++<br>DE +<br>DI +++          |                | NH <sub>2</sub> +<br>guan. ++<br>SS-SH +++<br>indol +++<br>fenol +++ | guan. ++<br>indol ++                      | guan. ++<br>indol ++<br>fenol +++                                       |             |                                             |
| CAMUN-<br>DONGO     | -                                        | -                | -                  | AS ++<br>DE ++<br>DI +++          | -              | NH <sub>2</sub> ++<br>guan. ++<br>SS-SH +<br>indol +++<br>fenol +++  | fenol ++                                  | indol ++<br>fenol ++                                                    |             |                                             |
| HAMSTER             | -                                        | AS +             | -                  | AS +++<br>DI +++                  | -              | NH <sub>2</sub> ++<br>indol +++<br>fenol +                           | fenol +                                   | NH <sub>2</sub> +++<br>guan. +++<br>SS-SH +++<br>indol +++<br>fenol +++ |             |                                             |

**TABELA 20 - RESULTADOS HISTOQUÍMICOS (GLÚCIDES E PROTEÍNAS) OBTIDOS NA SUBMANDIBULAR DE ARTIODÁCTILOS, CARNÍVOROS E ROEDORES**

| Espécies<br>Animais | GLÚCIDES                             |                  |                    |                                   |                 | PROTEÍNAS                                   |                                                                       |                                               |                                                                 |
|---------------------|--------------------------------------|------------------|--------------------|-----------------------------------|-----------------|---------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------|
|                     | ácido carboxílico<br>"inespecíficos" | ácido<br>siálico | ácido<br>sulfatado | dotados de<br>grupo 1-2<br>glicol | Glicogê-<br>nio | AM                                          | DE(DG)                                                                | DI                                            | C                                                               |
| BOI                 | C+                                   | AM ++            | -                  | AM ++<br>C +                      | DE +++          | -                                           | NH <sub>2</sub> +<br>SS-SH +<br>Fenol ++                              | -                                             | NH <sub>2</sub> ++<br>guan. ++<br>SS-SH +++<br>fenol ++         |
| PORCO               | -                                    | AM++<br>C +      | -                  | AM +++<br>C +                     | DE +++          | -                                           | NH <sub>2</sub> +<br>SS-SH +<br>indol +<br>fenol ++                   | -                                             | NH <sub>2</sub> +++<br>guan. +<br>SS-SH +<br>fenol ++           |
| CÃO                 | -                                    | AM ++            | AM +<br>C +        | AM +++<br>C++                     | -               | SS-SH +                                     | guan. ++<br>SS-SH ++<br>indol ++<br>fenol ++                          | -                                             | NH <sub>2</sub> +<br>guan. +<br>SS-SH +<br>indol +<br>fenol +++ |
| GATO                | AM ++                                | -                | AM ++<br>C ++      | AM +<br>DE ++<br>C +++            | -               | SS-SH ++                                    | NH <sub>2</sub> +<br>SS-SH +<br>fenol ++                              | -                                             | guan. ++<br>indol ++<br>fenol +++                               |
| RATO                | AS ++                                | -                | -                  | AS +++<br>DG ++<br>DI *           | -               | NH <sub>2</sub> +<br>guan. +++<br>fenol +++ | NH <sub>2</sub> +++<br>SS-SH +++<br>indol +++<br>fenol +++            | guan ++<br>fenol+++                           | -                                                               |
| CAMUN-<br>DONGO     | -                                    | AS ++            | -                  | AS +++<br>DG +++                  | -               | NH <sub>2</sub> +<br>guan. +<br>fenol +     | NH <sub>2</sub> +++<br>guan. +<br>SS-SH +++<br>indol +++<br>fenol +++ | -                                             |                                                                 |
| HAMSTER             | -                                    | AS ++            | -                  | AS +++<br>DG ++<br>DI +++         | -               | NH <sub>2</sub> +<br>guan. +<br>fenol +     | NH <sub>2</sub> +++<br>SS-SH +++<br>indol +++<br>fenol +++            | guan. ++<br>SS-SH +++<br>indol +<br>fenol +++ |                                                                 |

**TABELA 21 - RESULTADOS HISTOQUÍMICOS (GLÍCIDES E PROTEÍNAS) OBTIDOS NA SUBLINGUAL DE ARTIODÁCTILOS, CARNÍVOROS E ROEDORES**

| Espécies<br>Animais | GLÍCIDES                                  |                  |                    |                                   | Glicogê-<br>nio | PROTEÍNAS                       |                                                                     |                                           |                                                                        |
|---------------------|-------------------------------------------|------------------|--------------------|-----------------------------------|-----------------|---------------------------------|---------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------|
|                     | ácido carboxílico<br>"inespecí-<br>ficos" | ácido<br>siálico | ácido<br>sulfatado | detados de<br>grupo 1-2<br>glicol |                 | AM                              | AS                                                                  | DE                                        | C                                                                      |
| BOI                 | AM +++<br>C +                             | -                | -                  | AM +++<br>AS +++<br>C +++         | -               | -                               | NH <sub>2</sub> +<br>SS-SH ++<br>indol ++<br>fenol ++               | SH ++<br>fenol ++                         | NH <sub>2</sub> +<br>SS-SH ++<br>indol ++<br>fenol ++                  |
| PORCO               | AM ++                                     | AS +<br>C +      | -                  | AM +++<br>AS ++<br>C +++          | -               | -                               | NH <sub>2</sub> ++<br>SS-SH ++<br>indol +++<br>fenol ++             | fenol ++                                  | NH <sub>2</sub> ++<br>SS-SH ++<br>indol +++<br>fenol ++                |
| CÃO                 | AM ++                                     | AS +<br>C +      | AM +               | AM +++<br>AS +++<br>C ++          | -               | guan. ++<br>SS-SH +<br>indol ++ | NH <sub>2</sub> +++<br>guan. ++<br>SS-SH ++<br>indol ++<br>fenol ++ | NH <sub>2</sub> +<br>guan. ++<br>fenol ++ | NH <sub>2</sub> +++<br>guan. +++<br>SS-SH ++<br>indol +++<br>fenol +++ |
| GATO                | AM ++                                     |                  | AM +               | AM +++<br>AS +++<br>C +++         | -               | SS-SH ++                        | NH <sub>2</sub> ++<br>guan. +++<br>indol ++<br>fenol ++             | guan. +++<br>indol ++<br>fenol ++         | NH <sub>2</sub> ++<br>guan. +++<br>indol ++<br>fenol ++                |
| RATO                | AM +++                                    | -                | -                  | AM +<br>C +                       | -               | NH <sub>2</sub> ++<br>SS-SH +   |                                                                     | guan. ++<br>SH ++<br>fenol ++             | NH <sub>2</sub> ++<br>guan. +++<br>SH +++<br>indol ++<br>fenol +++     |
| CAMUN-<br>DONGO     | -                                         | AM ++<br>C +     | -                  | AM +++<br>C ++                    | -               | NH <sub>2</sub> ++<br>guan. +   |                                                                     | fenol +++<br>guan. +                      | NH <sub>2</sub> ++<br>guan. +<br>fenol +++                             |
| HAMSTER             | -                                         | AM ++<br>C +     | AM +               | AM +++<br>C +++                   | -               | NH <sub>2</sub> +<br>fenol +    |                                                                     | guan. ++<br>SS-SH +<br>fenol +            | NH <sub>2</sub> ++<br>guan. +++<br>SS-SH +<br>indol ++<br>fenol +++    |

#### 3.4 - DOCUMENTAÇÃO FOTOMICROGRÁFICA

PRANCHA Nº 1

- FIG. 1 - Sublingual de Cão; Formol - cálcio. 200x  
Coloração Azul de alcian + PAS  
A direita e ao alto a seta aponta um ácino seroso. No canto inferior direito e esquerdo ácinos mucosos.
- FIG. 2 - Sublingual de Hamster; Helly. 120 x  
Hidrólise ácida + azul de alcian  
Ácinos mucosos com células fortemente positivas, células moderadamente positivas e células negativas (maioria).
- FIG. 3 - Sublingual de Hamster; Helly - 300 x  
Coloração: azul de toluidina após sulfatação  
Os crescentes estão fortemente corados (metacromáticos)
- FIG. 4 - Submandibular de Hamster; Helly - 200 x  
Coloração: azul de toluidina pH 1,5, após sulfatação  
Ductos intercalares nitidamente corados (metacromáticos)
- FIG. 5 - Parótida de Hamster; Helly - 250 x  
Coloração: azul de toluidina pH 1,5, após sulfatação  
Grande quantidade de ductos intercalares fortemente corados.
- FIG. 6 - Parótida de Rato; Helly - 350 x  
Coloração: azul de toluidina pH 2,2, após sulfatação  
Os ácinos e os ductos intercalares apresentam-se fortemente corados em negro (côr original vermelha).
- FIG. 7 - Submandibular de Gato; Helly - 200 x  
Coloração: azul de alcian - reação do PAS  
Tanto a porção acinosa quanto os crescentes se coraram predominantemente pelo azul de alcian.
- FIG. 8 - Parótida de Cão; Formol-cálcio - 50x  
Coloração: azul de alcian - reação do PAS  
Ácinos mucosos, fortemente corados pelo azul de alcian.
- FIG. 9 - Submandibular de Cão; Helly - 350 x  
Coloração: azul de alcian pH 1,0  
Alguns ácinos são constituídos por células coradas fortemente; outros contêm algumas células coradas moderadamente ao lado de células não coradas.
- FIG. 10 - Sublingual de Cão; Helly - 200x  
Coloração: azul de alcian pH 1,0  
Porção mucosa corada fortemente.
- FIG. 11 - Parótida de Boi; Formol-cálcio - 250 x  
Reação do PAS  
A coloração escura demonstra a forte reatividade da secreção ao PAS.
- FIG. 12 - Parótida de Gato; Helly - 750 x.  
Coloração: azul de alcian - reação do PAS  
Coloração tanto dos grânulos quanto do halo perigranular.

PRANCHA Nº 2

- FIG. 13 - Parótida de Boi; Helly - 250 x  
Coloração pelo azul de toluidina pH 3,4  
Mastócitos entre as células de revestimento do ducto estriado.
- FIG. 14 - Submandibular à esquerda e Sublingual de Rato; Formol - cálcio - 250 x.  
Coloração combinada: azul de alcian - reação do PAS.  
Os ácinos, tanto da submandibular quanto da sublingual, se coram fortemente. A seta aponta um ducto granuloso - da submandibular (corado apenas pelo PAS).
- FIG. 15 - Parótida de Camundongo; Formol salino-Reação de Millon-Hematoxilina - 950 x.  
Os grânulos do citoplasma das células acinosas reagem - positivamente.
- FIG. 16 - Glândula submandibular de Boi; Formol-salino - 400 x.  
Reação de Millon.  
Grânulos nos crescentes com reação positiva.
- FIG. 17 - Submandibular de Hamster; Formol-salino - 200x.  
Reação do p-dimetilaminobenzaldeído-nitrito.  
Forte positividade da reação nos ductos granulosos e positividade fraca nos ductos intercalares.
- FIG. 18 - Submandibular de Hamster; Formol-salino - 200 x.  
Reação do ácido tioglicólico-ferricianeto férrico.  
Forte positividade da reação nos ductos granulosos e intercalares.
- FIG. 19 - Submandibular de Gato; Formol-salino - 400x.  
Ácido tioglicólico-ferricianeto férrico.  
O material de secreção dos ácinos mucosos se apresenta corado.
- FIG. 20 - Parótida de Hamster; Formol-salino - 200 x.  
Ácido tioglicólico-ferricianeto férrico.  
Os ácinos não reagem, enquanto que os ductos intercalares reagem intensamente.
- FIG. 21 - Parótida de Hamster; Formol-salino - 200 x.  
DAMB-nitrito.  
A porção apical das células acinosas e os ductos intercalares reagem positivamente. Notar a diferença com a figura precedente.
- FIG. 22 - Sublingual de Hamster; Formol-salino - 200 x;  
Ácido tioglicólico-ferricianeto férrico.  
Os crescentes se apresentam fortemente corados.
- FIG. 23 - Parótida de Gato; Formol-salino - 600 x.  
DAMB-nitrito.  
Ácinos serosos intensamente corados.
- FIG. 24 - Submandibular de Camundongo; Formol-salino - 950 x.  
DAMB-nitrito.  
Forte reatividade dos grânulos contidos na luz e na porção apical das células de um ducto granuloso.

#### 4 - DISCUSSÃO

A fim de fixar um critério para a interpretação dos resultados histoquímicos, notadamente os referentes aos mucopolissacárides, julgamos necessário discutir as técnicas usadas, quanto ao seu significado.

Dentre os mucopolissacárides, apenas o glicogênio, o ácido hialurônico e o ácido siálico, podem ser identificados histoquimicamente, graças a ação de enzimas mais ou menos específicas. A histoquímica dos outros mucopolissacárides baseia-se na reação do PAS, que evidencia o grupo 1-2 glicol, e na identificação dos grupos ácidos.

Para confirmar, nos produtos PAS positivos, a presença de grupos 1-2 glicol, efetuamos a coloração pelo azul de toluidina em vários pH, em cortes previamente tratados pelo ácido sulfúrico; este tratamento, esterifica os grupos 1-2 glicol (BIGNARDI-1940), formando ésteres sulfúricos, que são revelados pelo azul de toluidina.

Quanto aos grupos ácidos, admite-se que os mucopolissacárides contenham os grupos carboxílico e sulfato, os quais não podem ser identificados através de reações "específicas". Estes grupos têm sido demonstrados por técnicas cujos resultados são discutíveis. Neste trabalho, a presença de grupos ácidos, nos mucopolissacárides, foi determinada pelo emprego de corantes básicos (azul de alcian, em pH 2,5; safranina O; aldeído fucsina; azul de toluidina e pela captura do ferro coloidal). Uma vez estabelecida a existência de grupos ácidos, tentou-se distinguir o grupo carboxílico do sulfato; com essa finalidade, foram empregadas diversas técnicas consideradas adequadas para revelar o grupo sulfato, quais sejam:

##### a) Metilação mais saponificação mais corante básico

Esta técnica foi empregada com base nos resultados de SPICER & LILLIE (1959), que demonstraram que uma solução 0,1N de

HCl em metanol, hidrolisa os grupos sulfato e esterifica outros grupos ácidos. A partir dessas observações, a seqüência metilação mais saponificação mais corante básico, passou a ser, freqüentemente usada para a distinção entre os grupos carboxílicos e sulfato. Todavia, alguns resultados, contradizem essas observações. Assim, MOWRY (1960) não conseguiu a reversão da basofilia, após metilação-saponificação, em estruturas que contêm grupos carboxílicos. Mais recentemente, QUINTARELLI (1963a) também não conseguiu a reversão da basofilia, em secreções glandulares contendo ácido siálico, após o emprego da solução de KOH a 1%, em cortes previamente esterificados. Sugere este autor que a solução de KOH a 1%, cujo pH é aproximadamente 14, tem efeito predominantemente hidrolítico. Resultados semelhantes, aos de QUINTARELLI (1963a), foram obtidos por FAVA DE MORAES (1964); esse autor também assinalou - que estruturas contendo grupos carboxílico, não tiveram a basofilia revertida, após a seqüência metilação-saponificação-corante - básico. Esses resultados foram confirmados no presente trabalho, - revelando que o significado da metilação mais saponificação mais corante básico é discutível.

b) Azul de alcian em pH 1,0

Tem sido sugerido, por alguns investigadores (SPICER - 1960 e JOHNSON e col. - 1962), que o abaixamento do pH da solução do corante básico, para valores próximos ao pK do grupo sulfato, determina coloração seletiva deste grupo. Baseados nesses resultados, LEV & SPICER (1964) verificaram que estruturas contendo radicais sulfato coram-se, seletivamente, pelo azul de alcian em pH 1,0. Essa interpretação foi confirmada por SPICER & DUVENCI - (1964), que obtiveram paralelismo de resultados entre a coloração com o azul de alcian, em pH 1,0, e a incorporação de enxôfre radioativo, na secreção glandular de alguns mamíferos.

Na interpretação de nossos resultados, toda estrutura - corada pelo azul de alcian, em pH 1,0, foi considerada como contendo grupos sulfato.

c) Azul de toluidina em pH 1,5

O azul de toluidina foi também empregado para a distinção entre radicais sulfato e carboxílico (SPICER - 1960; SPICER & WARREN - 1961). Baseados nesses resultados, a metacromasia, quando se emprega a coloração do azul de toluidina em pH 1,5, teria o mesmo significado que a basofilia obtida com o azul de alcian em pH 1,0. No entanto, nossos resultados revelam que estruturas, coradas pelo azul de alcian, em pH 1,0, não se apresentam metacromáticas ao azul de toluidina em pH 1,5; todavia, a metacromasia - se verifica quando o corante é usado em pH 2,2. Assim sendo, nas condições técnicas empregadas no presente trabalho, a metacromasia ao azul de toluidina em pH 2,2, foi considerada como tendo o mesmo significado que a basofilia ao azul de alcian em pH 1,0.

d) Azul de alcian-aldeído fucsina e aldeído fucsina-azul de alcian

Com a finalidade de fazer a distinção entre os grupos carboxílico e sulfato, usamos, também, a técnica da sequência de corantes básicos, preconizada por SPICER & MEYER (1960). Segundo estes autores, o grupo sulfato tem sempre afinidade para o primeiro corante, nas duas sequências; ocorre o inverso com o grupo carboxílico, que se cora sempre pelo segundo corante básico. Para fundamentar essa interpretação dos resultados, SPICER & MEYER (1960) compararam a afinidade das estruturas por esses corantes, com a presença de grupos sulfato, com base nos resultados da incorporação do enxofre radioativo. Verificaram que houve apenas algumas exceções; assim, as células caliciformes do colon do camundongo e do rato, apesar de conterem radicais sulfato, se coram em azul, nas duas sequências. Conforme se verifica, a afinidade - pelo primeiro corante, na sequência usada, constitui informação - sobre a natureza do grupo ácido, sem identificá-lo. Os resultados fornecidos pela sequência dos corantes, interpretados dessa forma, permitem explicar alguns de nossos achados, que são aparentemente contraditórios. Assim, os ácinos da submandibular do cão, coram-

se pelo azul de alcian em pH 1,0; porém, coram-se em azul nas duas seqüências (AA-AF e AF-AA). Alguns ácinos da sublingual do hamster, que não se coram pelo azul de alcian em pH 1,0, coram-se intensamente pela aldeído-fucsina, na segunda seqüência de corantes básicos. Nestas circunstâncias, toda vez que houve discordância entre a basofilia ao azul de alcian em pH 1,0, e o resultado da coloração pela seqüência dos dois corantes básicos, procuramos interpretar os resultados baseados, também, em outros dados histoquímicos (teste da sialidase e metilação mais saponificação mais corante básico).

Tentamos efetuar a caracterização do ácido siálico, através da ação da sialidase e da hidrólise ácida. SPICER & WARREN (1960), WARREN & SPICER (1961), QUINTARELLI e col. (1961), FAVA DE MORAES (1964) e SPICER & DUVENCI (1964), através do emprêgo da sialidase, ou da hidrólise ácida (QUINTARELLI e col. 1961), demonstraram ser possível reconhecer produtos cujo grupo ácido é constituído pelo ácido siálico.

Com base nos testes histoquímicos, empregados no presente trabalho, foi possível caracterizar os ácinos e os ductos das glândulas salivares, conforme está exposto no capítulo referente aos resultados. Foi possível, além disso, assinalar diferenças histoquímicas, dependentes do tipo de glândula salivar, ou da espécie animal. Esses dados, possibilitam a classificação histoquímica das glândulas salivares, com fundamento na reatividade histoquímica dos ácinos e ductos.

Os ácinos das glândulas salivares apresentam diferenças qualitativas, no que se refere aos testes histoquímicos para mucopolissacárides e para proteínas, o que permitiu separá-los em dois grupos:

1) Ácinos mucosos (AM), nos quais os testes para grupos reativos de proteínas são negativos, ou fracamente positivos, e as técnicas para mucopolissacárides dão resultados intensamente positivos; apresentam secreção de natureza predominantemente glucídica.

2) Ácinos serosos (AS), cujos testes para grupos reati-

vos de proteínas apresentam resultados mais intensos, em comparação com os testes que revelam mucopolissacárides. Nestes ácinos a secreção é predominantemente proteínica.

Classificação das glândulas salivares baseada na reatividade histoquímica dos ácinos e ductos.

1 - Ácinos

Glândulas mucosas

A submandibular e a sublingual são constituídas, predominantemente, por ácinos mucosos e, por isso, classificadas como glândulas mucosas. Esta classificação concorda com a proposta por SHACKLEFORD & KLAPPER (1962), SHACKLEFORD (1963) e MUNGER (1964); no entanto, o critério usado por nós, para definir os ácinos mucosos, baseia-se na proporção relativa dos componentes mucopolissacarídico e proteínico. Trata-se, portanto, de critério diferente do usado pelos autores citados. Além disso, devido ao número de informações em que se baseia, este critério permite subdividir os ácinos AM, em quatro tipos. Esses tipos foram estabelecidos tendo-se como base a presença, no citoplasma das células acinosas, de: 1) ácido siálico e, 2) mucopolissacárides carboxilados, insensíveis à sialidase, 3) mucopolissacárides ácidos sulfatados. Os tipos considerados são os seguintes:

- a) Ácinos cujas células contêm ácido siálico e não contêm grupo sulfato. Estes foram denominados ácinos mucosos tipo I (AM I).
- b) Ácinos com células dotadas de ácido siálico e grupos sulfato. Foram denominados ácinos mucosos tipo II (AM II).
- c) Ácinos com células que apresentam grupo sulfato. Foram denominados ácinos mucosos tipo III (AM III).
- d) Ácinos com células contendo mucopolissacárides ácidos carboxilados cuja presença de ácido siálico não pôde ser demonstrada histoquimicamente. Foram chamados ácinos mucosos tipo IV (AM IV).

Estes quatro tipos de ácinos mucosos não ocorrem, simultaneamente, em uma mesma glândula; ao contrário, a presença ou a predominância, de um dos tipos, caracteriza as glândulas sublingual e submandibular, nas diversas espécies animais estudadas, permitindo correlacionar a reatividade histoquímica das células glandulares com o fator espécie animal. Este assunto será discutido em seguida:

### Artiodáctilos

#### a) glândula sublingual

Os resultados histoquímicos referentes aos mucopolissacárides e às proteínas, na glândula sublingual do boi e do porco, permitiram estabelecer a presença de dois tipos de ácinos: mucosos e serosos. Os ácinos mucosos contêm mucopolissacárides neutros, associados a mucopolissacárides ácidos, dotados de grupo carboxílico, cuja basofilia resiste ao tratamento pela sialidase e pela hidrólise ácida. A presença de grupos ácidos, ao nível dos ácinos mucosos da glândula sublingual, nestas duas espécies animais estabelecida por SHACKLEFORD & KLAPPER (1962) e SHACKLEFORD (1963) que, baseados na forte coloração com o azul de alcian e na forte captação de ferro coloidal, os classificaram como ácinos mucosos, o que concorda com a nossa classificação.

Foi recentemente verificado, por LEPPI & SPICER (1967), que os grupos carboxílicos dos mucopolissacárides ácidos da sublingual dos artiodáctilos advêm da presença do ácido siálico; esse resultado, baseou-se na ação da sialidase sobre a basofilia. Essa interpretação discorda dos nossos resultados. Acreditamos que tal discordância seja devida à diferença de conceituação da glândula sublingual maior dos artiodáctilos. Segundo CARMALT (1913), a glândula sublingual maior dos artiodáctilos, normalmente, está ausente; porém a sublingual menor está bem desenvolvida. A presente observação confirma o autor citado, pois mostra que a sublingual dos artiodáctilos é constituída por duas porções: 1) porção formada por ácinos glandulares do tipo mucoso e ácinos do tipo

seroso; esta porção é pouco desenvolvida e constitui a sublingual maior. 2) porção mais desenvolvida e integrada por ácinos mucosos, contendo crescentes; esta porção constitui a sublingual menor. De acordo com esta conceituação, a sublingual maior, das duas espécies de artiodáctilos estudadas, se assemelha, morfológicamente, à glândula sublingual dos carnívoros. A heterogeneidade da sublingual dos artiodáctilos foi, também, verificada através de métodos bioquímicos. PIGMAN (1963) obteve diferentes frações mucoproteínicas da sublingual do boi, o que interpretou como devido a diferenças quanto aos constituintes glandulares.

Baseados nos resultados histoquímicos, os ácinos mucosos da glândula sublingual do boi e do porco, são classificados como ácinos mucosos do tipo IV (AM IV).

#### b) glândula submandibular

Os ácinos mucosos desta glândula, nas duas espécies estudadas, contêm, como foram encontrados, mucopolissacarídeos neutros e ácidos. Os grupos ácidos foram correlacionados com a presença do ácido siálico. Estes resultados confirmam as observações histoquímicas de QUINTARELLI e col. (1961) na submandibular do boi, QUINTARELLI (1963)a) na submandibular do porco e LEPPI & SPICER (1967) na do boi e do porco, assim como os trabalhos bioquímicos de GOTTSCHALK & GRAHAM (1959), NISIZAWA & PIGMAN (1959-1960), DRAUS & LEUNG (1960), HASHIMOTO e col. (1961), TSUIKI e col. (1961), PIGMAN & HASHIMOTO (1963) na submandibular do boi e por HASHIMOTO e col. (1964) na submandibular do porco.

Essas glândulas foram classificadas como mucosas por SHAKLEFORD & KLAPPER (1962), não fazendo entretanto esses autores referências quanto ao tipo de ácido carboxílico presente.

Em vista disso e baseado nos achados histoquímicos deste trabalho, os ácinos mucosos da submandibular do boi e do porco são classificados como ácinos mucosos do tipo I (AM I).

## Carnívoros

### a) Perção mucosa da parótida do cão

A presença de ácinos mucosos na parótida do cão, foi anteriormente observada por AURELI e col. (1960) em animais jovens, desaparecendo nos adultos, e por BIGNARDI (1961) em animais jovens, adultos e senis; porém dêles não fazem menção nem SSHACKLEFORD & KLAPPER (1962) e nem FAVA DE MORAES (1964). A presença - dêsses ácinos na parótida do cão foi considerada por BIGNARDI (1961) como, a permanência na idade adulta, de ácinos mucosos existentes nos períodos iniciais do desenvolvimento glandular ou a degeneração de ácinos serosos em mucosos.

Os animais (cães) usados neste estudo eram todos adultos, um dêles com idade, presumivelmente, senil. Em todos êles, - foi observada a presença de ácinos mucosos no parênquima da parótida. Esta observação está de acôrdo com as de BIGNARDI (1961), porém discordam das observações de AURELI e col. (1960), que registraram a presença dêsses ácinos somente em animais jovens.

Acredita-se que para maiores esclarecimentos, e para eliminar essas dúvidas, há necessidade de estudos mais acurados - nesse sentido, empregando-se um número maior de animais com idade controlada.

Êsses ácinos, segundo os resultados obtidos contêm mucopolissacárides ácidos sulfatados o que confirma as observações de BIGNARDI (1961). De acôrdo com as características histoquímicas, - êsses ácinos classificam-se como mucosos do tipo III (AM III).

### b) Sublingual

Os ácinos mucosos da glândula sublingual dos carnívoros apresentam mucopolissacárides contendo grupos 1-2 glicol e grupos ácidos (carboxílico e sulfato). O grupo carboxílico foi interpretado como pertencente ao ácido siálico, nos ácinos mucosos da sublingual do cão; nos ácinos mucosos da sublingual do gato, ao contrário, o grupo carboxílico foi considerado como "inespecífi-

co", uma vez que a basofilia resiste ao tratamento enzimico pela sialidase.

Na sublingual do cão, os resultados obtidos não confirmam a presença do ácido hialurônico, assinalado por FAVA DE MORAES & VILLA (1963), porém confirmam a presença do grupo sulfato, observado por esses autores. Na sublingual do gato, foi confirmado a presença de grupos sulfato, anteriormente estabelecida por FAVA DE MORAES (1964); porém, estes achados discordam dos desse autor, com relação à presença do ácido siálico.

Com base nos resultados histoquímicos, os ácinos mucosos da sublingual do cão são classificados como ácinos mucosos do tipo II (AM II) e os ácinos mucosos da sublingual do gato, pertencem ao tipo III (AM III).

#### c) Submandibular

Nos ácinos mucosos dessa glândula ocorrem mucopolissacarídes neutros e ácidos, nas duas espécies estudadas (cão e gato). Os grupos ácidos foram reconhecidos como carboxílico e sulfato. - Nos ácinos da submandibular do cão, o grupo carboxílico pôde ser correlacionado, histoquimicamente, como ácido siálico. Na submandibular do gato, o teste da sialidase foi negativo. Esses resultados, para a submandibular do cão e do gato, embora se assemelhem aos de FAVA DE MORAES (1964) que assinala a presença de ácido siálico e grupos sulfato nas duas espécies, deles diferem em três pontos: 1) a maioria dos ácinos da submandibular do cão e do gato contém mucopolissacarídes dotados de grupo carboxílico que, apenas no cão, são sensíveis à sialidase; 2) os mucopolissacarídes, dotados de grupo carboxílico e sulfato, podem estar contidos em um mesmo ácino, e por vezes, numa mesma célula, ou em células diferentes; 3) a basofilia verificada nos ácinos da submandibular do gato foi resistente ao teste da sialidase. Este último resultado concorda com as observações de PRETO-PARVIS & RAVETTO (1965), - que igualmente demonstraram resistência da basofilia dos ácinos da submandibular do gato à hidrólise enzimica pela sialidase. Re-

lativamente à presença do ácido siálico, nos ácinos da submandibular do cão, nossos resultados confirmam as observações histoquímicas de AURELI & MATERAZZI (1960), QUINTARELLI (1963 a), FAVA DE MORAES (1964) e os resultados bioquímicos obtidos por HASHIMOTO e col. (1961) e DRAUS (1963).

Histoquimicamente, os ácinos mucosos da submandibular do cão pertencem ao tipo I (predominantes), ao tipo II e ao III. Os ácinos mucosos da submandibular do gato são do tipo IV (maioria) e do tipo III.

### Roedores

#### a) glândula sublingual

Os ácinos mucosos apresentam mucopolissacárides neutros e ácidos; êstes últimos, a julgar pela reatividade histoquímica, contêm grupos carboxílicos. Os mucopolissacárides ácidos carboxilados, dêstes ácinos, são hidrolizados pelo tratamento com a sialidase, na sublingual do camundongo e do hamster; resistem à hidrólise pela sialidase, na glândula do rato. O ácido siálico tem sido admitido como responsável pela basofilia dos ácinos da sublingual dos roedores (SPICER & WARREN - 1960; WARREN & SPICER - 1961, no rato e no camundongo; QUINTARELLI e col. - 1961, no rato; FAVA DE MORAES - 1964; SPICER & DUVENCI 1964, no rato, camundongo e hamster), mesmo na eventualidade da basofilia resistir ao tratamento pela sialidase. Esta hipótese, baseia-se na possibilidade de estar o ácido siálico "mascarado". No entanto, foi assinado por PIGMAN & TSUIKI (1959) e GOTTSCHALK (1960 e 1963) que, o ácido siálico geralmente ocupa posição terminal na cadeia lateral dos oligossacárides, o que parece infirmar a hipótese. Todavia, os resultados citados foram obtidos em preparações bioquímicas, passíveis de provocar desnaturação. Talvez, no interior das células glandulares, onde ocorrem mucoproteínas, a complexidade das macromoléculas possa "mascarar" a posição terminal do ácido siálico. Além disso, os testes histoquímicos usados nesta investigação, para evidenciar a presença do ácido hialurônico e grupos

sulfato, nos ácinos da sublingual do rato, foram negativos, sugerindo a presença de um mucopolissacáride ácido carboxílico. Por outro lado, SPICER & WARREN (1960) demonstraram, por métodos bioquímicos, que as células acinosas da sublingual do rato contêm ácido siálico. Assim sendo, é provável que a resistência à sialidase, apresentada pelas células da sublingual do rato, se deva a um desses três fatores:

- 1) o ácido siálico não ocuparia posição terminal na macromolécula, o que foi sugerido por GIBBONS (1963).
- 2) existência de ligação "cetosídica", sialidase resistente (GIBBONS - 1963), estabelecendo a ligação entre o ácido siálico e o restante da cadeia mucopolissacarídica.
- 3) presença de ligações adicionais entre o ácido siálico e resíduos adjacentes (Mc GUIRE & BINKLEY - 1964) que, mascarariam a ação da sialidase.

Convém assinalar que, de acordo com nossos resultados, nos ácinos da sublingual do rato não há mucopolissacárides ácidos sulfatados, nem ácido hialurônico, o que discorda dos resultados de VILLA & FAVA DE MORAES (1963).

Na sublingual do hamster, além de ácinos nos quais a basofilia é sialidase suscetível, existem ácinos e, por vezes, células com características histoquímicas compatíveis com a presença de radicais sulfato. Entre esses dois tipos de ácinos e células, existem outros que contêm secreção parcialmente suscetível à ação da sialidase; deduziu-se que estes últimos apresentam associação de mucopolissacárides contendo ácido siálico e grupos sulfato. Nessa glândula, a presença de ácido siálico e grupos sulfato foi observada por FAVA DE MORAES (1964); da mesma forma, sialomucinas e sulfomucinas, associadas num mesmo ácino, ou numa mesma célula, foram assinaladas por SPICER & DUVENCI (1964), o que concorda com nossos resultados.

Baseados nos resultados histoquímicos, os ácinos da sublingual dos roedores, podem ser classificados em:

1) ácidos mucosos do tipo I. Estes ácidos constituem o parênquima da glândula sublingual do camundongo e do hamster. Todavia, no hamster, apesar de predominarem os ácidos mucosos do tipo I, existem ácidos mucosos do tipo II e do tipo III.

2) ácidos mucosos do tipo IV. Constituem a sublingual do rato.

#### b) Glândula submandibular

Os testes histoquímicos para glúcides e proteínas revelam que os ácidos da submandibular dos roedores secretam substâncias de natureza predominantemente glucídica. Dessa forma, tais ácidos foram classificados como mucosos (AM). Estes ácidos foram denominados ácidos "serosos especiais" por STORMONT (1932).

As substâncias de caráter glucídico nos ácidos da submandibular dos roedores foram, baseados nos testes histoquímicos usados, reconhecidas como mucopolissacárides contendo grupos 1-2 glicol e grupo carboxílico; este último pode ser correlacionado com o ácido siálico, nos ácidos da submandibular do hamster e do camundongo. Esses resultados confirmam as observações de FAVA DE MORAES (1964) e SPICER & DUVENCI (1964), relativos à presença de mucopolissacárides contendo grupos 1-2 glicol, nos ácidos das três espécies de roedores estudadas, assim como a existência de sialomucinas nos ácidos da submandibular do camundongo e do hamster. Todavia, a presença de sulfomucinas não foi verificada nos ácidos da submandibular do hamster, resultado que discorda das observações de SPICER & DUVENCI (1964).

Os ácidos da submandibular do rato contêm grupos carboxílico que, no entanto, não puderam ser identificados como ácido siálico em virtude da resistência da basofilia ao tratamento pela sialidase. Não obstante tenha sido observado que a basofilia resiste à sialidase e ao tratamento pela hidrólise ácida, vários AA. tais como SPICER & WARREN (1960), WARREN & SPICER (1961), QUINTARELLI e col. (1961), TUROLLA & MARTINAZZI (1963), FAVA DE MORAES (1964) e SPICER & DUVENCI (1964), continuam considerando o ácido

contido nos ácinos da submandibular, do rato, como sendo o ácido siálico. A êsse respeito, convêm lembrar que a resistência à siá-lidase não indica, necessariamente, ausência de ácido siálico, - conforme foi discutido anteriormente. Tenha-se em conta, ainda, - que HASHIMOTO e col. (1961), DRAUS (1964) e mais recentemente JUN QUEIRA e col. (1967), demonstraram bioquimicamente a presença de ácido siálico na submandibular do rato.

Nossos resultados não indicam a presença de grupo sulfa to nos ácinos da submandibular do rato, o que confirma as observa ções histoquímicas e a ausência de incorporação de enxôfre radioa tivo pelas células dessa glândula, efetuadas por SPICER & DUVENCI (1964). Contudo, BELANGER (1954) mostrou incorporação moderada de  $S_{35}$  (sob a forma de sulfato), pelas células acinosas da submandi-bular do rato com quatro dias de idade, fato que foi recentemente corroborado, através de métodos histoquímicos, por RAVETTO e col. (1966), em ratos adultos.

Baseados nos resultados histoquímicos, os ácinos mucosos da submandibular dos roedores, são classificados nos seguintes tipos:

- 1) submandibular do camundongo e hamster: ácinos mucosos do tipo I (AM I).
- 2) submandibular do rato, ácinos mucosos do tipo IV (AM IV).

#### Glândulas serosas

Pertencem a êste tipo de glândulas a parótida, a porção serosa da sublingual e da submandibular. Os ácinos que consti tuem essas glândulas foram considerados como ácinos serosos ou se romucosos por SHACKLEFORD & KLAPPER (1962), SHACKLEFORD (1963) e como seromucosos por MUNGER (1964). Segundo o critério empregado por SHACKLEFORD & KLAPPER (1962) e SHACKLEFORD (1963), ácinos se-rosos são os que contêm apenas mucopolissacárides neutros, revela dos pela positividade da reação do PAS; de acôrdo com o conceito de MUNGER (1964) são considerados como serosas apenas as células

dos ácinos do pâncreas exócrino e as células principais das glândulas do estômago, cuja secreção é destituída de produtos de natureza polissacáridica.

O critério histoquímico usado por nós, é mais amplo, abrangendo também ácinos cujas células contêm mucopolissacárides ácidos, porém, em quantidade não predominante. De conformidade com nossos resultados, os ácinos serosos podem ser divididos em três tipos baseados na natureza do componente mucopolissacarídico:

1) Ácinos destituídos de componente mucopolissacarídico, demonstrável histoquimicamente; este tipo denominamos ácino seroso tipo I (AS I).

2) Ácinos cujo componente mucopolissacarídico não é dotado de basofilia, mas é PAS positivo; ácinos serosos do tipo II (AS II).

3) Ácinos dotados de mucopolissacárides PAS positivos e basófilos; estes ácinos foram denominados ácinos serosos do tipo III (AS III).

Nos três tipos de ácinos serosos considerados, as reações histoquímicas que indicam grupos reativos de proteínas são intensas; além disso, vários grupos reativos puderam ser demonstrados em todos os três tipos de ácinos, com pequenas variações qualitativas. Assim sendo, de acordo com o critério usado por nós, as proteínas contidas nas células acinosas não interferem, de forma nítida, na classificação dos tipos de ácinos serosos. Por outro lado, a forte reatividade histoquímica para os grupos reativos de proteínas, indica que o componente proteínico da secreção celular seja predominante, sugerindo que estas células estão adaptadas à secreção de enzimas; aliás, JUNQUEIRA e col. (1965) organizaram tabelas que contêm os dados coletados na literatura, e que demonstram a presença de amilase, protease, desoxirribonuclease e lisozima na submandibular e parótida dos carnívoros e roedores.

Os três tipos de ácinos serosos considerados não são encontrados, simultaneamente, em uma mesma glândula salivar. A presença (ou a predominância) de um destes três tipos de ácinos foi

considerada como critério para caracterizar a parótida, nas diversas espécies animais das Ordens estudadas. Por outro lado, no que se refere à sublingual e à submandibular, a presença de ácinos serosos, ou de crescentes, de diversos tipos, fornece informações adicionais importantes para a classificação dessas duas glândulas salivares, nas diversas espécies animais estudadas. Com esta orientação, iremos discutir os dados histoquímicos obtidos nos ácinos serosos das glândulas salivares nas três Ordens estudadas.

### Artiodáctilos

#### a) Parótida

Na parótida do boi e do porco, nossos resultados indicam a presença de lípidos PAS positivos nos ácinos. Esta interpretação baseia-se na necessidade de fixação especial, para a preservação do material PAS positivo (o material é preservado pela fixação em formol-cálcio, mas não é preservado pela fixação em Alfac) e pela solubilidade desse material em metanol-clorofórmio. - Dessa maneira, foi interpretada a positividade da reação do PAS, na parótida das duas espécies de artiodáctilos estudadas, como não decorrente da presença de mucopolissacárides. Ao contrário, - SHACKLEFORD & KLAPPER (1962) e MORSELLI & PERUCCI (1963) admitem a presença de mucopolissacárides neutros, na parótida do boi. No entanto, a técnica usada por esses AA. não permite excluir a possibilidade de ser um lípido o responsável pela positividade à reação do PAS. MORSELLI & PERUCCI (1963) observaram, na parótida do boi, mucopolissacárides ácidos, o que não foi confirmado por estes resultados, os quais revelam que as células acinosas da parótida, nas duas espécies de artiodáctilos estudadas, não apresenta mucopolissacárides demonstráveis histoquimicamente.

No entanto, deve ser lembrado que resultados bioquímicos obtidos por AURELI e col. (1960) e JUNQUEIRA e col. (1967), demonstram a presença de ácido siálico na parótida de artiodáctilos. A discordância entre esses resultados e os desta pesquisa, provavelmente, é devido à diferença de métodos utilizados. O método -

bioquímico revela tanto os mucopolissacárides dos ácinos, quanto dos túbulos; estes últimos, conforme estes resultados, apresentam sialomucinas.

De acordo com esses resultados, os ácinos da parótida dos artiodáctilos são classificados como serosos tipo I (AS I).

No que se refere aos testes que revelam radicais proteínicos, as reações nos ácinos da parótida dos artiodáctilos são fracas, ou moderadas, sugerindo que a atividade secretora de proteínas é, nessa glândula, baixa. Este resultado parece estar de acordo com a observação de AURELI e col. (1961) que verificaram, nos ácinos da parótida do porco, mesmo em idade não senil, profundas modificações morfológicas, com forte redução da atividade secretora. Os radicais amino, guanidil, indol e fenol, foram os grupos reativos observados na parótida do porco; nos ácinos da parótida do boi, além desses radicais, notou-se a presença dos radicais SS e SH. A exceção do radical fenol, na parótida do boi e guanidil na do porco, que apresentaram reação com intensidade moderada, para todos os outros radicais a reação foi fracamente positiva.

#### b) Porção serosa da sublingual

Baseados nos resultados fornecidos pelos testes químicos para mucopolissacárides, observamos que os ácinos serosos da sublingual do boi e do porco, apresentam comportamento diferente. Assim, os ácinos serosos da sublingual do boi elaboram mucopolissacárides, contendo apenas grupos 1-2 glicol, enquanto que os ácinos da sublingual do porco, apresentam mucopolissacárides dotados de grupos 1-2 glicol e grupos ácidos; estes últimos foram relacionados com o ácido siálico (sialidase sensível).

Os ácinos serosos da sublingual do boi e do porco, foram assim classificados: ácinos serosos do tipo II (AS II), os da sublingual do boi e, ácinos serosos do tipo III (AS III), os da sublingual do porco.

Em relação aos grupos reativos de proteínas foi anotada

a presença de radicais amino, SS e SH, indol e fenol, nos ácinos serosos da sublingual dos artiodáctilos estudados. A reação para o radical indol foi forte nos ácinos serosos da sublingual do porco; nos ácinos serosos da glândula do boi, a intensidade das reações foi sempre fraca para todos os grupos reativos estudados.

Os crescentes da submandibular e da sublingual, das duas espécies estudadas, apresentam comportamento histoquímico compatível com a presença de mucopolissacárides neutros e ácidos carboxílico. Os grupos carboxílico dos crescentes da submandibular e da sublingual do porco foram considerados como pertencentes ao ácido siálico; a basofilia apresentada pelos crescentes dessas glândulas do boi, embora suscetível à hidrólise ácida, resiste ao tratamento pela sialidase, razão pela qual foi considerada como decorrente da presença de grupos carboxílicos não relacionados com o ácido siálico.

Como consequência dos resultados dos testes histoquímicos para mucopolissacárides, os crescentes da sublingual e da submandibular do boi e do porco, são classificados como serosos do tipo III (AS III).

As reações histoquímicas, indicativas de grupos reativos de proteínas, revelam semelhança das células que constituem os crescentes das glândulas sublingual e submandibular, nas duas espécies de artiodáctilos estudadas. Em ambos podem ser demonstrados os grupos amino, SS e SH, guanidil e fenol. Todavia, na sublingual há também, o grupo indol.

### Carnívoros

#### a) Parótida

Os ácinos serosos da parótida dos carnívoros, elaboram mucopolissacárides neutros e ácidos. Na parótida do cão, a basofilia com o azul de alcian e com a aldeído fucsina foi, após hidrólise alcalina, removida pelo tratamento com a sialidase; esse comportamento é compatível com a presença do ácido siálico. Este resultado confirma observações de BIGNARDI e col. (1962), QUINTAREL

LI (1963a) e FAVA DE MORAES (1964), com relação à presença do ácido siálico na parótida do cão. Além disso, a presença de radicais ácidos, na parótida do cão e do gato, foi estabelecida por SHACKLEFORD & KLAPPER (1962) que, baseados na basofilia moderada que apresentam, classificaram-nos como seromucosos.

Na parótida do gato, apenas o halo perigranular reage tanto com os testes que indicam a presença de grupos 1-2 glicol, como com aqueles que indicam a presença de grupos ácidos. Os grânulos, ao contrário, apresentam apenas mucopolissacarídes contendo grupos 1-2 glicol. O comportamento histoquímico do halo perigranular, da maior parte dos grânulos, sugere a presença de grupos ácidos carboxílicos "inespecíficos"; contudo, o halo de alguns grânulos parece conter mucopolissacarídes ácidos sulfatados. Esses resultados, referentes aos ácidos da parótida do gato, discordam dos obtidos por FAVA DE MORAES (1964), que estabeleceu a presença do ácido siálico, ao nível dos ácidos dessa glândula.

O halo perigranular, existente nos ácidos serosos da parótida do gato, provavelmente, desempenham a função de isolar os grânulos do citoplasma, função essa semelhante à exercida pelo halo perigranular das células de Paneth do camundongo, conforme foi sugerido por SELZMAN & LIEBELT (1962) e MERZEL (1964).

Baseados nos resultados histoquímicos, os ácidos serosos da parótida dos carnívoros foram classificados como ácidos serosos do tipo III (AS III).

#### b) Porção serosa da sublingual

Os ácidos serosos da sublingual, nas duas espécies estudadas, apresentam comportamento diferente. Assim, nos ácidos serosos da sublingual do gato, os testes histoquímicos revelam apenas a presença de mucopolissacarídes contendo grupos 1-2 glicol. Nos ácidos serosos da sublingual do cão, além dos mucopolissacarídes neutros, há ainda grupos ácidos carboxílicos, correlacionados com o ácido siálico. Para os ácidos serosos da sublingual do cão, os presentes resultados confirmam os de FAVA DE MORAES (1964) e para

os ácinos serosos da sublingual do gato, concordam com os resultados de SHACKLEFORD & KLAPPER (1962) e SHACKLEFORD (1963).

Os ácinos serosos da sublingual dos carnívoros são classificados como do tipo II (AS II), para o gato e do tipo III (AS III) para o cão.

As células dos ácinos serosos da sublingual, nas duas espécies de carnívoros estudadas, apresentam reatividade histoquímica compatível com a presença de diversos grupos reativos de proteínas (SS e SH, amino, guanidil, indol e fenol). A presença de grupos SS e SH na sublingual do cão, foi anteriormente assinalada por KAWAKATSU e col. (1962). Estes resultados sugerem que tais ácinos estejam adaptados à secreção de produtos de natureza proteínica, que podem ser interpretados como enzimas.

Os crescentes da sublingual do cão e do gato apresentam características histoquímicas semelhantes as dos ácinos serosos - dessa mesma glândula, nas respectivas espécies. Dessa forma, observou-se que, os crescentes da sublingual do gato, apresentam mucopolissacárides contendo apenas grupos 1-2 glicol; no cão, eles apresentam comportamento histoquímico compatível com a presença de mucopolissacárides, contendo, além de grupos 1-2 glicol, grupos ácidos carboxílico, interpretados como ácido siálico. A interpretação dos resultados obtidos para os crescentes da sublingual do cão, confirmam as observações de FAVA DE MORAES (1964); para os crescentes da sublingual do gato, concorda com os dados de SHACKLEFORD (1963), relativamente à presença de mucopolissacárides neutros, contendo grupos 1-2 glicol. Os crescentes da sublingual do gato são classificados como serosos tipo II (AS II); na sublingual do cão, os crescentes são do tipo III (AS III).

Estes resultados confirmam a presença dos radicais SS e SH, nos crescentes da sublingual do cão, verificados por KAWAKATSU e col. (1962).

Quanto aos mucopolissacárides, o comportamento histoquímico dos crescentes da submandibular é semelhante no cão e no gato. Em ambas as espécies, os crescentes da submandibular elaboram mucopolissacárides contendo tanto grupo 1-2 glicol, como grupos á

cidos (carboxílico e sulfato). Nos crescentes da submandibular do cão, os resultados desta pesquisa confirmaram os obtidos por AURELI & MATERAZZI (1960), os quais sugerem a presença de mucopolissacarídes sulfatado nessas estruturas. As células dos crescentes da submandibular do cão e do gato, foram classificadas como mucosas por SHACKLEFORD (1963), baseado na sua forte basofilia. Nossos resultados histoquímicos permitiram, entretanto, verificar que apesar do grande conteúdo de substâncias de natureza glucídica há - predomínio de substâncias de natureza proteínica, razão pela qual êsses crescentes foram classificados como serosos do tipo III (AS III).

Nos crescentes da submandibular do cão, a presença dos radicais SS e SH, por nós observada, confirma os resultados de KAWAKATSU e col. (1962); os testes histoquímicos positivos para o radical fenol, confirmam as observações de AURELI & MATERAZZI (1960).

#### Roedores

##### a) Parótida

Os resultados histoquímicos demonstram que os componentes mucopolissacarídicos dessa glândula, nas três espécies estudadas, contêm grupos 1-2 glicol.

Na parótida do hamster, além dêsses grupos, os ácinos contêm mucopolissacarídes ácidos carboxílico, cuja basofilia foi abolida após hidrólise alcalina, seguida pelo tratamento com sialidase; neste caso, o componente ácido é, provavelmente, o ácido siálico.

Os resultados desta pesquisa, referentes à presença de mucopolissacarídes contendo grupos 1-2 glicol, ao nível dos ácinos da parótida nas três espécies estudadas, confirmam as observações de BOENER-PATZELT (1956), para a parótida do hamster, de DEWEY (1958), BIGNARDI (1962) e VILLA & FAVA DE MORAES (1964), para a parótida do rato, de SEIFERT (1960), para a parótida do camundongo, de SHACKLEFORD & KLAPPER (1962), FAVA DE MORAES (1964), -

SPICER & DUVENCI (1964), para a parótida do hamster, do rato e do camundongo. Os resultados confirmam, ainda, os de FAVA DE MORAES (1964) e SPICER & DUVENCI (1964), quanto à presença do ácido siálico nos ácinos da parótida do hamster. Todavia, no que diz respeito à parótida do rato e do camundongo, discordam apenas dos resultados de FAVA DE MORAES (1964), quanto à presença de radicais ácidos por êle assinalados. No entanto, convém lembrar que através de métodos bioquímicos, AURELI e col. (1961) e JUNQUEIRA e col. (1967) demonstraram a presença de ácido siálico na parótida dos roedores. A diferença entre resultados bioquímicos e histoquímicos provavelmente ocorre em virtude "do mascaramento" dos grupos carboxílicos do ácido siálico por proteínas básicas, como foi sugerida por QUINTARELLI (1963 b).

Considerando o comportamento histoquímico, para os testes que indicam a presença de mucopolissacárides, os ácinos da parótida dos roedores foram classificados nos seguintes tipos:

Glândula parótida do rato e camundongo - ácinos serosos do tipo II (AS II).

Glândula parótida do hamster - ácinos serosos do tipo III (AS III).

Em relação às proteínas, foram comprovadas as observações de DEGUCHI (1964), para os ácinos da parótida do rato e as de KAWAKATSU e col. (1962), para os ácinos da parótida do rato e do camundongo, relativamente à presença de grupos SS e SH; foram confirmadas também, as observações de GLENNER & LINDLE (1957), referentes ao radical indol, presente nos ácinos da parótida do camundongo e do rato. Contudo, nos ácinos da parótida do hamster, os resultados para os grupos sulfidril e dissulfeto foram negativos, o que discorda das observações de KAWAKATSU e col. (1962). Confirmam, também, as observações de KRONMAN & CHAUNCEY (1965) quanto à presença do grupo indol e fenol nos ácinos da parótida do hamster. Os resultados histoquímicos para grupos reativos de proteínas, obtidos na parótida, revelam que nas três espécies de roedores, ocorre a presença dos grupos indol, fenol e amino. No entanto, na parótida do rato e do camundongo, além desses grupos,

foram também observados grupos SS e SH e guanidil. Estes resultados indicam que a parótida do rato e do camundongo são semelhantes entre si e pode ser distinguida da do hamster, o que pode ser usado como caráter adicional à conceituação dos tipos de ácinos, considerados com base na presença de mucopolissacárides.

#### b) Crescentes da sublingual

Os resultados histoquímicos deste trabalho, indicam a presença de mucopolissacárides neutros, contendo grupos 1-2 glicol, nos crescentes da sublingual das três espécies de roedores estudadas; além disso, nos crescentes da sublingual do camundongo e do hamster, há mucopolissacárides ácidos, revelando o teste da sialidase, que o ácido siálico é responsável pela basofilia. FAVA DE MORAES (1964) demonstrou que a positividade aos corantes básicos, ao nível dos crescentes da sublingual, dessas três espécies de roedores, é devida à presença do ácido siálico. Os resultados da presente pesquisa confirmam essas observações para os crescentes da sublingual do camundongo e do hamster, porém, discordam da presença do mesmo ácido nos crescentes da sublingual do rato. - LEESON & BOTH (1961), SHACKLEFORD & KLAPPER (1962), SHACKLEFORD (1963) e SPICER & DUVENCI (1964), também observaram que os crescentes da sublingual do rato apresentam mucopolissacárides destituídos de grupos ácidos, o que é confirmado por este trabalho.

De acordo com os resultados histoquímicos, referentes aos mucopolissacárides, os crescentes da sublingual dos roedores, podem ser classificados da seguinte maneira:

Crescentes da sublingual do camundongo e do hamster - tipo III (C III).

Crescentes da sublingual do rato - tipo II (C II).

Quanto aos grupos reativos de proteínas, estes resultados confirmam a presença de grupos sulfidríla, assinalada nos crescentes da sublingual do rato, por BARNETT & SELIGMAN (1954), KAWAKATSU e col. (1962) e KRONMAN (1963 a) e de radicais SS e SH, verificada nos crescentes da sublingual do hamster por BARNETT &

SELIGMAN (1954) e KAWAKATSU e col. (1962). Todavia, nos crescentes da sublingual do camundongo foram obtidos resultados negativos, tanto para o grupo sulfidril como para o dissulfeto, discordando dos achados dos AA. acima citados, porém, confirmando as observações de JUNQUEIRA (1949). Os resultados deste trabalho comprovam, também, a presença de radicais indol e fenol, estabelecida por KRONMAN & SPINALE (1965), nos crescentes da sublingual do rato e da sublingual do camundongo.

Os resultados histoquímicos revelam que os crescentes da sublingual dos roedores apresentam produtos proteínicos, dotados de grupos amino, guanidil e fenol, nas três espécies estudadas. No entanto existem diferenças entre as três espécies animais: no camundongo não foi possível verificar a presença do grupo indol, ao contrário do rato e do hamster, onde esse grupo foi assinalado. Além disso, ocorre a presença de grupos SH no rato e, no hamster está presente também os grupos SS e SH. Verificado baseado nos resultados assinalados, que os crescentes da sublingual do rato assemelham-se mais aos do hamster que aos do camundongo.

## 2 - DUCTOS

Seguindo o mesmo critério, estabelecido para os ácinos, os ductos glandulares foram classificados de acordo com sua reatividade histoquímica; e para facilidade de exposição, foram considerados separadamente, os ductos intercalares, os ductos estriados e os interlobulares.

### A) Ductos intercalares

Os ductos intercalares são de dois tipos, segundo a positividade para a reação do PAS.

1) Ductos intercalares fortemente reativos ao PAS, denominados ductos intercalares, do Tipo I.

Pertencem a este tipo os ductos intercalares da parótida

da dos roedores e da submandibular do rato e do hamster. O citoplasma das células de revestimento, desses ductos, contém grânulos PAS positivos, que apresentam, também, reação positiva para vários grupos reativos de proteínas. Estes resultados sugerem que os grânulos são constituídos por glúcides associados a proteínas, sob a forma provável de complexos glico-proteínicos. Esses resultados contradizem as observações de RUTBERG (1961) que, em estudo da ultraestrutura da parótida do camundongo, sugere baixa concentração de produtos de natureza proteínica, nas células desses ductos. Todavia, os estudos sobre ultraestrutura, realizados por SCOTT & PEASE (1959), demonstraram a presença de grânulos de zimogênio nos ductos intercalares da parótida do rato. Os resultados deste trabalho, que mostram a presença de produtos contendo grupos 1-2 glicol nos ductos intercalares, confirmam observações anteriores de HILL & BOURNE (1954), de PARKS (1961), na parótida do camundongo e do rato; de BOERNER -PATZELT (1956) na parótida e submandibular do hamster, de DEWEY (1958) na parótida do rato.

2) Ductos intercalares negativos à reação do PAS: foram denominados ductos intercalares do tipo II.

Enquadram-se neste tipo os ductos intercalares da parótida do cão, do gato, do boi e do porco. As células de revestimento, destes ductos, revelam positividade fraca aos testes que indicam a presença do grupo guanidil, nos ductos da parótida do cão, e moderada nos da glândula do gato. Nesta última espécie, apresentam, ainda, reação positiva para o radical fenol. Nos ductos intercalares da parótida do boi e do porco, os testes histoquímicos não revelam grupos reativos de proteínas.

3) Ductos intercalares negativos aos testes indicativos da presença de mucopolissacárides e de proteínas: foram considerados como ductos intercalares do tipo III.

Pertencem a este tipo os ductos intercalares da parótida dos artiodáctilos e os da submandibular do camundongo.

#### B) Ductos estriados

Os ductos estriados também foram classificados em dois

tipos de acordo com o resultado da reação do PAS. Os que apresentam reação positiva são designados ductos estriados do tipo I; os que não reagem ao PAS, são denominados ductos estriados do tipo II.

### 1) Ductos estriados do tipo I

São incluídos neste tipo os ductos estriados da parótida do rato, do camundongo, do boi e do porco e da submandibular do gato, do boi e do porco. Nestes ductos as reações histoquímicas indicam teor bastante baixo de proteínas. Os resultados relativos à presença de substâncias PAS positivas nas células de revestimento desses ductos, confirmam as observações de HILL & BOURNE (1954) e de FAVA DE MORAES (1964). Na parótida e na submandibular dos artiodáctilos, o material PAS positivo, localizado nos ductos estriados, foi identificado como glicogênio.

### 2) Ductos estriados do tipo II

Pertencem a esse tipo os ductos estriados da parótida do hamster, do cão e do gato, e os ductos da submandibular do cão e da sublingual de todas as espécies das três Ordens estudadas.

Algumas particularidades histoquímicas dos ductos estriados da parótida do boi, serão comentadas à parte. Trata-se da presença de mastócitos, provavelmente migrados do conjuntivo intersticial para as paredes dos ductos. A presença de células com características dos mastócitos, nesses ductos, foi anteriormente relatada por SHACKLEFORD & KLAPPER (1962). A função dessas células, quando localizadas nos ductos, é de difícil interpretação, embora tenham sido assinaladas na sublingual do cão (ORIA - 1954) e em várias glândulas de diversas espécies de animais (KELSALL & CRABB - 1953, 1954, 1956a e 1956b).

### 3) Ductos granuloses da submandibular dos roedores

Estes ductos presentes, nas espécies animais estudadas, -

apenas na submandibular dos roedores foram classificados como do tipo III.

Nestes ductos os testes histoquímicos evidenciaram a presença de mucopolissacárides neutros, o que corrobora as observações de LEBLOND (1950), MARTINAZZI & TRAVAGLINI (1960), TUROLLA & MARTINAZZI (1963), FAVA DE MORAES (1964) e SPICER & DUVENCI (1964). As proteínas demonstráveis, histoquimicamente, são abundantes nas células desses ductos. Os resultados, quanto à presença de radicais SS e SH, confirmam as observações histoquímicas de JUNQUEIRA (1949), JUNQUEIRA e col. (1949) no camundongo, DE BARNET & SELIGMAN (1954), KAWAKATSU e col. (1962) no rato, camundongo e hamster, e de TUROLLA & MARTINAZZI (1963, no rato. Os resultados histoquímicos para o grupo fenol, demonstrados nos ductos granulosos da submandibular do camundongo e para os grupos indol e fenol, presentes nos ductos granulosos da submandibular do rato, confirmam, respectivamente, as observações de JUNQUEIRA (1949), JUNQUEIRA e col. (1949), KRONMAN (1963a) e KRONMAN & CHAUNCEY (1964). Confirmam, também, as observações de KRONMAN (1963b), KRONMAN & CHAUNCEY (1965), KRONMAN E LEVENTHAL (1967), relativamente à presença de grupos indol e fenol, nos ductos granulosos da submandibular do camundongo e do hamster.

A intensa reatividade das células de revestimento dos ductos granulosos, aos testes histoquímicos que revelam grupos reativos de proteínas, mostra que contêm elevado teor de proteínas; estes resultados sugerem a presença de enzimas nessas células, o que, aliás, foi anteriormente demonstrado. Diversos autores demonstraram a atividade proteolítica dos ductos granulosos (JUNQUEIRA - 1949, JUNQUEIRA e col. - 1949, SREEBNY - 1953, SREEBNY e col. - 1955, SHAFFER & MUHLER - 1955, CLARK e col. - 1957, SREEBNY e col. - 1958).

#### 4) Ductos interlobulares

A presença de células caliciformes, situadas entre as células epiteliais de revestimento dos ductos interlobulares, foi

observada apenas nos ductos interlobulares da parótida e sublingual dos artiodáctilos. Estas células foram, também, verificadas por SHACKLEFORD & KLAPPER (1962), nos ductos interlobulares da parótida e sublingual do boi e do porco; por MORSELLI & PERUCCI (1963) - nos ductos da parótida do boi e do homem e por FAVA DE MORAES - (1964) na parótida da cabra.

Os resultados deste trabalho com relação às células caliciformes dos ductos interlobulares da parótida, revelam a presença de grupos 1-2 glicol e grupos ácidos carboxílico e sulfato. O grupo carboxílico foi correlacionado com a presença do ácido siálico, baseado na positividade do teste da sialidase.

Relativamente à presença de grupos ácidos nas células caliciformes, dos ductos interlobulares da parótida, estes resultados confirmam os obtidos por SHACKLEFORD E KLAPPER (1962), nos ductos interlobulares da parótida do boi e do porco, e os de MORSELLI & PERUCCI (1963) nos ductos da parótida do boi. SHACKLEFORD & KLAPPER (1962) verificaram falta de correlação entre os testes histoquímicos, indicativos da presença de mucopolissacárides ácidos (que foram negativos nos ácinos) e os testes bioquímicos, que demonstravam a presença do ácido siálico ao nível da parótida do boi e do porco. Com base nesses resultados, sugerem que as células caliciformes, fortemente positivas para os testes histoquímicos indicativos de grupos ácidos, seriam responsáveis pelos resultados bioquímicos, que indicaram a presença de ácido siálico. Os resultados deste trabalho parecem confirmar essa interpretação.

Baseado no critério empregado no presente trabalho, que permitiu a classificação histoquímica dos ácinos e ductos glandulares, as glândulas salivares maiores, nas espécies animais das três Ordens estudadas, podem ser caracterizadas, conforme resumimos em seguida:

### PARÓTIDA

|               |             |              |                                 |
|---------------|-------------|--------------|---------------------------------|
| Artiodáctilos | Ác. serosos | D. estriados | D. intercal.                    |
| Boi e Porco   | Tipo I      | Tipo I       | Tipo III                        |
| Carnívoros    | Ac. mucosos | Cresc.       | Ac. serosos D. estr. D. interc. |
| Cão           | tipo III    | Tipo II      | Tipo III Tipo II Tipo II        |
| Gato          |             | Tipo III     | Tipo II Tipo II                 |
| Roedores      |             |              |                                 |
| Rato          |             | Tipo II      | Tipo I Tipo I                   |
| Camundongo    |             | Tipo II      | Tipo I Tipo I                   |
| Hamster       |             | Tipo III     | Tipo II Tipo I                  |

### SUBMANDIBULAR

|               |                    |               |                 |
|---------------|--------------------|---------------|-----------------|
| Artiodáctilos | Ác. mucosos        | Orestenides   | D. estriados    |
| Boi e porco   | Tipo I             | Tipo III      | Tipo I          |
| Carnívoros    |                    |               |                 |
| Cão           | Tipos II, II e III | Tipo III      | Tipo II         |
| Gato          | Tipos III e IV     | Tipo III      | Tipo I          |
| Roedores      | Ác. mucosos        | D. granulados | D. intercalares |
| Rato          | Tipo IV            | Tipo III      | Tipo I          |
| Camundongo    | Tipo I             | Tipo III      | Tipo III        |
| Hamster       | Tipo I             | Tipo III      | Tipo I          |

### SUBLINGUAL

|              |                   |            |             |              |
|--------------|-------------------|------------|-------------|--------------|
| Artiodáctios | Ác. mucosos       | Cresc.     | Ác. serosos | D. estriados |
| Boi          | Tipo IV           | Tipo III   | Tipo II     | Tipo II      |
| Porco        | Tipo IV           | Tipo III   | Tipo III    | Tipo II      |
| Carnívoros   |                   |            |             |              |
| Cão          | Tipo II           | Tipo III   | Tipo III    | Tipo II      |
| Gato         | Tipo III          | Tipo III   | Tipo II     | Tipo II      |
| Roedores     | Ác. mucosos       | Crescentes |             | D. estriados |
| Rato         | Tipo IV           | Tipo II    |             | Tipo II      |
| Camundongo   | Tipo I            | Tipo III   |             | Tipo II      |
| Hamster      | Tipos I, II e III | Tipo III   |             | Tipo II      |

## 5 - CONCLUSÕES

Baseado nos resultados dos testes histoquímicos para glúcides e para grupos reativos de proteínas, obtidos nas glândulas salivares maiores de animais pertencentes a três Ordens de mamíferos, é possível estabelecer as seguintes conclusões:

1) Os ácidos serosos e mucosos das glândulas salivares maiores podem ser caracterizados histoquimicamente. Os primeiros elaboram secreção de natureza predominantemente proteínica, - que reage fortemente aos testes histoquímicos para grupos reativos de proteínas. Os ácidos mucosos secretam produtos nos quais predominam glúcides, demonstráveis histoquimicamente.

2) Tanto os ácidos serosos quanto os mucosos podem ser classificados em diferentes tipos, de acordo com as características histoquímicas das células acinosas.

3) Os ácidos serosos foram classificados nos seguintes tipos, assim definidos:

Tipo I: ácidos serosos cujo componente mucopolissacarídico não é demonstrável histoquimicamente.

Tipo II: ácidos serosos em que o componente mucopolissacarídico - não é dotado de basofilia, mas é PAS positivo.

Tipo III: ácidos serosos em que o componente mucopolissacarídico é basófilo e PAS positivo.

4) Os crescentes, situados na porção basal dos ácidos mucosos, foram classificados da mesma forma que os ácidos serosos.

5) Os ácidos mucosos foram classificados nos tipos seguintes, assim caracterizados:

Tipo I: ácidos mucosos em que a basofilia da secreção correlaciona-se com a presença do ácido siálico.

Tipo II: ácidos com secreção dotada de ácido siálico e grupos sulfato.

Tipo III: ácidos com secreção que apresenta grupos sulfato.

Tipo IV: ácidos em que a basofilia da secreção não pôde ser correlacionada com a presença do ácido siálico e de grupos sulfato.

6) Os ductos estriados foram, também, classificados em tipos histoquímicos diferentes, que se caracterizam da seguinte maneira:

Tipo I: ductos estriados PAS positivos que também reagem aos testes indicativos de grupos reativos de proteínas.

Tipo II: ductos estriados negativos ao PAS e positivos aos testes indicativos de grupos reativos de proteínas.

Tipo III: foram considerados como do tipo III os ductos granulosos da submandibular dos roedores, cujos grânulos reagem positivamente ao PAS e aos testes indicativos de radicais proteínicos.

7) Os ductos intercalares apresentam características histoquímicas diferentes, nas várias espécies estudadas, permitindo sua classificação nos seguintes tipos:

Tipo I: ductos cujas células apresentam reação PAS positiva e reagem para alguns dos testes que demonstram grupos reativos de proteínas.

Tipo II: ductos nos quais as células de revestimento são negativas ao PAS, porém reagem positivamente aos testes indicativos de grupos reativos de proteínas.

Tipo III: ductos cujas células são negativas para os testes que demonstram a presença de mucopolissacárides e para os testes que evidenciam grupos reativos de proteínas.

8) Baseado nos tipos de ácinos e ductos, definidos histoquimicamente, as glândulas salivares maiores, das espécies animais estudadas, podem ser caracterizadas da seguinte maneira:

1) Artiodáctilos PARÓTIDA

a) boi e porco: ácinos serosos tipo I; ductos estriados tipo I e ductos intercalares tipo III.

2) Carnívoros

a) cão: ácinos mucosos tipo III, ácinos serosos tipo III, crescentes tipo II, ductos estriados tipo II, ductos intercalares tipo II.

b) gato: ácinos serosos tipo III, ductos estriados tipo II, ductos intercalares tipo II.

### 3) Roedores

- a) Rato e camundongo: ácidos serosos tipo II, ductos estriados tipo I, ductos intercalares tipo I.
- b) Hamster: ácidos serosos tipo III, ductos estriados tipo II, ductos intercalares tipo I.

## SUBMANDIBULAR

### 1) Artiodáctilos

- a) Boi e porco: ácidos mucosos tipo I, crescentes tipo III, - ductos estriados tipo I.

### 2) Carnívoros

- a) Cão: ácidos mucosos tipos I, II e III, crescentes tipo III, ductos estriados tipo II,
- b) Gato: ácidos mucosos tipos III e IV, crescentes tipo III, - ductos estriados tipo I.

### 3) Roedores

- a) Rato: ácidos mucosos tipo IV, ductos granulosos tipo III, - ductos intercalares tipo I.
- b) Hamster: ácidos mucosos tipo I, ductos granulosos tipo III, ductos intercalares tipo I.
- c) Camundongo: ácidos mucosos tipo I, ductos granulosos tipo - III e ductos intercalares tipo III.

## SUBLINGUAL

### 1) Artiodáctilos

- a) Boi: ácidos mucosos tipo IV, crescentes tipo III, ácidos se rosos tipo II, ductos estriados tipo II.
- b) Porco: ácidos mucosos tipo IV, crescentes tipo III, ácidos serosos tipo III, ductos estriados tipo II.

### 2) Carnívoros

- a) ~~Cão~~ Cão: ácidos mucosos tipo II, crescentes tipo III, ácidos se rosos tipo III, ductos estriados tipo II.
- b) Gato: ácidos mucosos tipo III, crescentes tipo III, ácidos serosos tipo II, ductos estriados tipo II.

3) Roedores

- a) Rato: ácidos mucosos tipo IV, crescentes tipo II, ductos es triados tipo II,
- b) Camundongo: ácidos mucosos tipo I, crescentes tipo III, duc tos estriados tipo II.
- c) Hamster: ácidos mucosos tipos I, II e III, crescentes, tipo III, ductos estriados tipo II.

\*

\* \*

## 6 - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ADAMS, C.W.M. - 1956 - J.Histochem.Cytochem., 4:23. Apud Pearse, A.G.E. (1960), op. cit. p. 108.
- - 1957 - A p-dimethylaminobenzaldehyde-nitrite method for histochemical demonstration of tryptofane, and related compounds. J.clin.Path., 10: 56-62.
- AURELI, G., RIZZOTTI, M. & GOBIS, B. - 1960 - Contributo alla conoscenza delle modificazioni morfocitochimiche post-natali nella Parotide de cane. Atti Soc.ital.Sci.vet., 14: 292-294.
- AURELI, G. & MATERAZZI, G. - 1960 - Elementi "anfitropi" nella ghiandola sottomandibolare di Canis Familiaris. Rc.Ist. Sci.Camerino, 1: 225-232.
- AURELI, G., RIZZOTTI, M., FERRI, G. & CASTELLANI, A.A. - 1961 - L'acido sialico nella parotide. Archo.ital.Biol.orol, 2: 47-52.
- BAKER, J.R. - 1947 - Q.Jl.microsc.Sci., 85: 1, Apud PEARSE, A.G.E., 1960 - op. cit. p. 799.
- - 1956 - Q.Jl.microsc.Sci., 97: 161, Apud PEARSE, A. G.E., 1960, op. cit. p. 791.
- BARNETT, R.J. & SELIGMAN, M.A. - 1954 - Histochemical demonstration of sulfhydryl and disulfide groups of protein. - J.natn.Cancer Inst., 14: 769-803.
- BELANGER, L.F. - 1954 - 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.
- BENSLEY, R.R. - 1908 - Observations on the salivary glands of mammals. Anat.Rec., 2: 105.
- BIGNARDI, C. - 1939a - Cellule mucose e cellule mucoidi. I - Contributo critico e tecnico all'impostazione di alcuni problemi funzionali. Archo ital.Anat.e Embriol., 42: 389.
- - 1939b - Cellule mucose e cellule mucoidi. II - I primi risultati nella applicazione delle tecniche istochimiche per i polissaccaridi. Boll.Zool., 10: 213.

- BIGNARDI, C. - 1939 c - Cellule mucose e cellule mucoidi. III - Sulla comparsa della reazione metacromatica in cellule mucoidi dopo cromizzazione. Boll.Zool., 10: 219.
- - 1940a - Cellule mucose e cellule mucoidi. IV. Esterificazione solforica della sostanza mucoide e sua dimostrazione istochimica. Atti.Soc.Nat.e Mat., 71: 59.
- - 1940b - Cellule mucose e cellule mucoidi. V - Caratteristiche di colorabilità elettiva delle cellule mucoide dopo esterificazione con acido solforico. Atti Soc.Nat.e Mat., 71: 63.
- - 1940c - Cellule mucose e cellule mucoidi. VI - Ulteriore ricerche sui caratteri di colorabilità delle cellule mucoide dopo cromizzazione. Atti Soc.ital.Sci.nat., 79: 69.
- - 1940 d - Sulla probabile presenza di un polisaccaride non esterificato nelle cellule mucose. Boll. Soc.ital. biol.sper., 15: 593.
- - 1961 - Evoluzione morfologica ed istochimica post-natale nella parotide di alcuni mammiferi. Riv.Istochim. norm.pat., 7: 231-254.
- BIGNARDI, C., AURELI, G. & RIZZOTTI, M. - 1962 - Possibilità di correlazione fra dati istochimici e presenza di acido sialico nella parotida di cane. Clinica vet., 85: 238-241.
- CARMALT, C. - 1913 - The anatomy of the salivary glands in some members of other Mammalian Ordes. Studies in Cancer and allied Research. New York, 4: p. 315-324 (Columbia Univ. Inst.of Cancer Res).
- CLARK, P.G., SHAFER, W.G. & MUHLER, J.C. - 1957 - Effect of hormones on structure and proteolytic activity of salivary glands. J.dent.Res., 36: 403-408.
- CURRAN, R.C. & KENNEDY, J.S. - 1955 - The distribution of the sulphated mucopolysaccharides in the mouse. J.Path.Bact., 70: 449-457.

- DEGUCHI, Y. - 1964 - A histochemical method for demonstrating groups with nitro-blue tetrazolium. J.Histochem.Cytochem. 12: 261-265.
- DEWEY, M.M. - 1958 - A histochemical and biochemical study of the parotid gland in normal and hypophysectomised rats. Amer. J.Anat., 102: 243-271
- DRAUS, F.J. & LEUNG, S.W. - 1960 - Characteristics and properties of a bovine submaxillary mucoid. Archs.oral Biol., 3: 35-40.
- DRAUS, F.J. - 1963 - Characteristic of a canine submaxillary mucoid. Archs.oral Biol., 8: 219-221.
- - 1964 - On a mucoid from the rat submaxillary gland. Archs.oral.Biol., 9: 223-225.
- ENGEL, M.B. & ZERLOTTI, E. - 1964 - The histochemical visualization of protein-bound sulfhydryl groups with an azomercu--rial reagent. J.Histochem.Cytochem., 12: 156-163.
- FAVA DE MORAES, F. & VILLA, N. - 1963 - Histochemical detection of mucopolysaccharides in the mucous acini of the sublingual gland of some mammals. Annls.Histochim., 8: 411-418.
- FAVA DE MORAES - 1964 - Alguns dados morfológicos associados ao estudo histoquímico dos polissacarídeos em glândulas salivares de animais pertencentes às seguintes Ordens: Marsupialia, Chiroptera, Primates, Edentata, Lagomorpha, Rodentia, Carnívora e Artiodactyla. (Mammalia). S.Paulo, - 157 p. (Tese de Doutorado, Faculdade de Odontologia - da U.S.P.).
- FISHER, E.R. & LILLIE, R.D. - 1954 - The effect of methylation on basophilia. J.Histochem.Cytochem., 2: 81-87.
- GABE, M. - 1953 - Bull.Microsc.appl., 2: 153, Apud LISON, L.-1960, op. cit. p. 296.
- GIBBONS, R.A. - 1963 - The sensitivity of the neuraminosidic linkage in mucosubstances toward acid and toward neuraminidase. Biochem.J., 89: 380-391.

- GLENNER, G.G. & LILLIE, R.D. - 1957 - The histochemical demonstration of indole derivatives by the post-coupled p-dimethylaminobenzylidene reaction. J.Histochem.Cytochem., 5: - 279-296.
- GOTTSCHALK, A. - 1960 - Sialic acids: their molecular structure and biological function in mucoproteins. Bull.Soc.Chim. biol., 42: 1387-1393.
- - 1963 - The basic structure of glycoproteins and problems of their chemical and physicochemical analysis. Ann.N.Y.Acad.Sci., 106: 168-176.
- GOTTSCHALK, A. & GRAHAN, E.R.B. - 1959 - 6 alfa-D-sialyl-acetyl $\gamma$ -lactosamine: The neuraminidase - susceptible prosthetic groups of bovine salivary mucoprotein. Biochim.biophys. Acta, 48: 380-391.
- HASHIMOTO, Y., TSUIKI, S., QUINTARELLI, G. & PIGMAN, W. - 1961 - A comparison of submaxillary glands of humans, cattle, dogs and rats. Biochim.biophys.Acta, 48: 404-406.
- HASHIMOTO, Y., HASHIMOTO, S. & PIGMAN, W. - 1964 - Purification and properties of porcine submaxillary mucin. Archs.Biochem.Biophys., 104: 282-291.
- HEIDENHAIN, A. - 1870 - "Über die acinösen Drüsen der Schleimhäute insbesondere der Nasenscheidhäute. Inaug.Diss.Breslau., 22 p.
- HEIDENHAIN, M. - 1919-1920 - Neue Grundlegungen zur Morphologie - der Speicheldrüsen. Anat.Anz., 52: 305.
- HILL, C.R. & BOURNE, G.H. - 1954 - The histochemistry and cytology of salivary gland duct cells. Acta.anat., 20: 116-128.
- HOTCHKISS, R.D. - 1948 - A microchemical reaction resulting in the staining of polysaccharide structures in fixed tissue preparations. Archs.Biochem., 16: 131-141.
- JACOBY, J. & LEESON, C.R. - 1959 - The post natal development of the rat submaxillary glands. J.Anat., 93: 208-216.
- JOHNSON, W.C., JOHNSON, B.F. & HELWIG, B.F. - 1962 - Effect of varying the pH on reactions for acid mucopolysaccharides. J.Histochem.Cytochem., 10: 684.

- JUNQUEIRA, L.C.U. - 1949 - Estudo histológico, histoquímico, bioquímico e experimental da glândula submaxilar do camundongo. Archos.bras.Med., 39: 381-410.
- JUNQUEIRA, L.C.U., FAJER, A., RABINOVITCH, M. & FRANKENTHAL, M. - 1949 - Biochemical and histochemical observations on the sexual dimorphism of mice submaxillary glands. J. cell.comp.Physiol., 34: 129-158.
- JUNQUEIRA, L.C.U. e col. - 1951 - Sur la nature des cellules se-cretantes de la glande parotide. Bull.Micros.appl., 1: 133-135. Apud FAVA DE MORAES, F. - 1964 - op. cit.p.12.
- JUNQUEIRA, L.C.U. & FAVA DE MORAES, F. - 1965 - Comparative as-pects of the vertebrate major salivary glands biology.- In Funktionelle und morphologische Organisation der - Zelle. Sekretion und Exkretion.p. 36-48.
- JUNQUEIRA, L.C.U., FAVA DE MORAES, F. & TOLEDO, A.M. - 1967 - Sia-lic acids in vertebrate salivary glands, saliva and pan-creas. Archs.oral Biol., 12: 151-157.
- KAWAKATSU, D., DEGUCHI, Y., OKA, R. & TAKITA, Y. - 1962 - Histo-chemical study of proteins bound sulfhydryl and disul-fide groups in normal salivary glands. J.dent.Res., 41: 104-111.
- KELSALL, M.A. & CRABB, E.D. - 1953 - Mast cells in sublingual - gland of Syrian hamster. Anat.Rec., 115: 331-332.
- 
- 1956a - Effect of estrogen on mast cells and collagen in the mammary gland of hamster. - Anat.Rec., 124: 415.
- 
- 1956b - Acid mucopolysaccharides - (AMP) in uterus of estrogen and progesterone-treated - hamster. Anat.Rec., 125: 600.
- KRONMAN, J.H. - 1963a - A histochemical study of hypophysectomy- induced changes in rat submandibular and sublingual - glands. Amer.J.Anat., 113: 337-346.
- 
- 1963b - Hamster salivary glands sexual dimorphism. I - Protein histochemical study. J.dent.Res., 42: 123-127.

- KRONMAN, J.H. & CHAUNCEY, H.H. - 1964 - Hormonal influence on rat submandibular gland histochemistry. J.dent.Res., 43: 520-527.
- KRONMAN, J.H. & SPINALE, J.J. - 1965 - A histochemical study of testosterone induced changes in the submandibular and sublingual glands of mice. Amer.J.Anat., 117: 417-432.
- KRONMAN, J.H. & CHAUNCEY, H.H. - 1965 - Testosterone induced changes in salivary gland histochemistry in the female Golden Hamster. J.oral Therap.Pharm., 1: 392-405.
- KRONMAN, J.H. & LEVENTHAL, M.M. - 1967 - A histochemical study of the effect of impaired thyroid function and replacement therapy on the mouse submandibular gland. Archs. oral Biol., 12: 367-379.
- LEBLOND, C.P. - 1950 - Distribution of periodic acid-reactive carbohydrates in the adult rat. Amer.J.Anat., 86: 1-49.
- LEESON, C.R. & BOTH, W.G. - 1961 - Histological, histochemical - and electron-microscopy observation on the post-natal development of the major ~~sublingual~~ gland of the rat. J.dent.Res., 40: 838-845.
- LEPPI, T.J. & STOWARD, P.J. - 1965 - On the use of testicular hyaluronidase for identifying acid mucins in tissue sections. J.Histochem.Cytochem., 13: 406-407.
- LEPPI, T.J. & SPICER, S.S. - 1967 - Mucosaccharide histochemistry of bovines, porcine and ovine salivary glands. Separata cedida pelos autores.
- LEV, R. & SPICER, S.S. - 1964 - Specific staining of sulphate groups with alcian blue at low pH. J.Histochem.Cytochem., 12: 309.
- LILLIE, R.D. - 1950 - Further exploration of the  $\text{HIO}_4$ -Schiff reaction with remarks on its significance. Anat.Rec., 108: 239-253.
- - 1954 - Histopathologic Thechnic and Practical Histochemistry. New York, The Blakiston Co., Inc. 501 p.

- LILLIE, R.D. - 1957 - Adaptation of the Morel Sisley protein diazotization procedure to the histochemical demonstration of proteins bound tyrosine. J.Histochem.Cytochem., 5: 528 - 532.
- LISON, L. - 1935 - Etudes sur la Métachromasie. Colorants métachromatiques et substances chromotropes. Archs.Biol., 46: - 599-668.
- - 1954 - Stain Technol., 29: 131. Apud LISON, L. - 1960-  
op. cit. p. 418 e 745.
- - 1960 - Histochimie et Cytochimie Animales. Principes et Méthodes. Paris, Gauthiers Villars, 3<sup>eme</sup> Ed., 2v., - 842 p.
- MATERAZZI, G. & TRAVAGLINI, A. - 1960 - Ricerche istochimiche sulla ghiandola sottomandibolare di ratto in condizioni - normali e dopo trattamento con propionato di testotero-  
ne. Atti Soc.ital.Sci.vet., 14: 306-309.
- MCGUIRE, E.J. & BINKLEY, S.B. - 1964 - The structure and chemis-  
try of colominic acid. Biochemistry, 3: 247-250.
- McMANUS, J.F.A. - 1946 - The histological demonstration of mucus after periodic acid. Nature, 158: 202.
- McMANUS, J.F.A. & CASON, J.E. - 1950 - Carbohydrate histochemis-  
try studied by acetylation techniques. I - Periodic a-  
cid methods. J.exp.Med., 91: 651. Apud McMANUS, J.F.A.  
& MOWRY, W.R. - 1960 - op. cit. p. 105.
- McMANUS, J.F.A. & MOWRY, W.R. - 1960 - Staining Methods. Histolo-  
gic and Histochemical. Paul B.Loeber, Inc.Ed., 423 p.
- MERZEL, J. - 1964 - Aspectos histofisiológicos da célula de Pa-  
neth do camundongo (M.musculus, Var.albinus) fornecidos  
por estudos bioquímicos e autoradiográficos. S.Paulo, -  
105 p. (Tese de Doutoramento, E.P.M.).
- MOWRY, R.W. - 1960 - In McMANUS, J.F.A. & MOWRY, R.W. - Staining  
Methods. Histologic and Histochemical. Paul B.Loeber, -  
Inc.Ed., p. 143.
- MORSELLI, L. & PERUCCI, U. - 1963 - Indagine istochimica sui muco-  
polissacaridi della ghiandola parotide. Boll.Mal.Orecch.  
Gola.Naso, 81: 259-269.

- MULLER, G. - 1955 - Acta histochem., 2: 68. Apud LISON, L. - 1960  
op. cit. p. 745.
- MUNGER, B.L. - 1964 - Histochemical studies on seromucous and mu-  
cous secreting cells of human salivary glands. Amer. J.  
Anat., 115: 411-430.
- NISIZAWA, K. & PIGMAN, W. - 1959 - The composition and properties  
of the mucin clot from cattle submaxillary glands. -  
Archs. oral Biol., 1: 161-170.
- \_\_\_\_\_ - 1960 - Purification of a glycoproteins  
from bovine-submaxillary glands. Biochem. J., 75:293-298.
- ÓRIA, J. - 1945 - Mast células conectivas nos interstícios de epi-  
télhos glandular mucíparo. Anais Fac.Med.Univ.S.Paulo, -  
21: 121-135.
- PARKS, H.F. - 1961 - On the fine structure of the parotid gland -  
of mouse and rat. Amer.J.Anat., 108: 303-330.
- PEARSE, A.G.E. - 1960 - Histochemistry: theoretical and apllied.-  
2 nd ed., London, J.&A. Churchil Ltda., 998 p.
- PIGMAN, W. - 1963 - Étude comparative des mucins d'origens diver-  
ses. Exposés a.Biochim.méd., 24: 67-84.
- PIGMAN, W. & HASHIMOTO, Y. - 1963 - Composition of bovine submaxil-  
lary mucins. Biochim.biophys.Acta, 69: 579-580.
- PIGMAN, W. & TSUIKI, S. - 1959 - The nature of the epithelial mu-  
cins. Int.dent.J., 9: 502-516.
- PRETO PARVIS, V. & RAVETTO, C. - 1963 - Metodo per la dimostrazio-  
ne di componenti sialiche e solfate nelle mucine. Boll.  
Soc.ital.Biol.Sper., 39:659-661.
- QUINTARELLI, G. - 1963a - Histochemical identification of saliva-  
ry mucins. Ann.N.Y.Acad.Sci., 106: 339-363.
- QUINTARELLI, G. - 1963b - Masking action of basic proteins on sia-  
lic acid carboxyls in epithelial mucins. Experientia, 19:  
230-231.
- QUINTARELLI, G. & CHAUNCEY, H.H. - 1960 - Metachromatic reactivi-  
ty of mammalian submaxillary glands. Archs.oral Biol., -  
2: 162-166.
- QUINTARELLI, G., TSUIKI, S., HASHIMOTO, Y. & PIGMAN, W. - 1961 -  
Studies of sialic acid containing mucins in bovine sub-

- maxillary and rat sublingual glands. J.Histochem.Cytochem., 9: 176-183
- RAVETTO, C., GALLUZZO, F. & SIERVO, R. - 1966 - On the presence of sialic acid and sulfate groups in rat submaxillary gland. J.Histochem.Cytochem., 14: 114-115.
- ROSENMAN, H., CHARIPPER, H.A. & STHAL, S.S. - 1960 - The effects of stress on the submaxillary glands of young adult - male rats. Archs.oral Biol., 2: 196-202.
- RUTBERG, U. - 1961 - Ultrastructure and secretory mechanism of the parotid gland. Acta odont.scand., 19 (suppl. 30): 1-69.
- SASSO, W.S. - 1961 - Estudo dos mucopolissacarídeos da "zona pe-lúcida dos óvulos de animais de laboratório dos gêneros Lepus, Cebus, Canis, Falis (Felis), Cavia, Mus e Tattus (Mammalia). S. Paulo, 86 p. (Tese de Cátedra - Fac.Odontologia da Universidade de São Paulo).
- SCHAFER, J. - 1908 - Zur Histologie der Unterkieferspeicheldrüsen bei Insektivoren, Z.wiss Zool., 89:1.
- SCHAFER, J. - 1927 - Das epithelgewebe. In Handbuch der mikroskopischen Anatomie des Menschen. V.2, 1 V.Möllendorf, Ed.
- SCOTT, B.L. & PEASE, D.C. - 1959 - Electron microscopy of the - salivary and lacrimal glands of the rat. Amer.J.Anat., 104: 115-161.
- SEIFERT, G. - 1960 - Über spontanveränderungen der Großen Kopfspeicheldrüsen bei Laboratoriumstieren. Beitr.path. - Anat., 123: 299-332.
- SELZMAN, H.M. & LIEBELT, R.A. - 1962 - Paneth cell granule of mouse intestine. J.Cell.Biol., 15:136-139. Apud. - MERZEL, J. 1964, op. cit. p. 11, 13, 29 e 91.
- SHACKLEFORD, J.M. - 1963 - Histochemical comparison of mucous - secretions in Rodent, Carnivore, Ungulate and Primate major salivary glands. Ann.N.Y. Acad.Sci., 106:572-582.
- SHACKLEFORD, J.M. & KLAPPER, C.E. - 1962 - Structure and carbohydrate histochemistry of mammalian salivary glands.- Amer.J.Anat., 111: 1-25.

- SHAFFER, W.G. & MUHLER, J.C. - 1955 - Experimental dental Caries. IV - The effect of hypophysectomy on dental caries and the salivary glands of the rat. J.dent.Res., 34:531 - 536.
- SHKLAR, G., GLICKMAN, I & TURESKY, S. - 1958 - A histochemical - study of the salivary glands in normal and cortisone - injected white mice. J.dent.Res., 37:119-124.
- SPICER, S.S. - 1960 - A correlative study of the histochemical - properties of rodent acid mucopolysaccharides. J.Histochem.Cytochem., 8: 18-35.
- SPICER, S.S. - 1963 - Histochemical differentiation of mammalian mucopolisaccharides. Ann.N.Y.Acad.Sci., 106:379-388.
- SPICER, S.S. & LILLIE, R.D. - 1959 - Saponification as a means of selectively reversing the methylation blockade of tissue basophilia. J.Histochem.Cytochem., 7: 123-125.
- SPICER, S.S., SWARM, R.L. & BURTNER, H.J. - 1961 - Comparison of Basophilia with S<sup>35</sup> Label in Normal and Methylated Mucopolysaccharides. Lab.Invest., 10: 256-264.
- SPICER, S.S. & WARREN, L. - 1960 - The histochemistry of sialic acid containing mucoproteins. J.Histochem.Cytochem., - 8: 135-137.
- SPICER, S.S. & MEYER, D.B. - 1960 - Histochemical differentiation of acid mucopolysaccharides by means combined aldehyde fucsin-alcian blue staining. Amer.J.clin.Path., 23: - 453-460.
- SPICER, S.S. & DUVENCI, J. - 1964 - Histochemical characteristics of mucopolysaccharides in salivary and exorbital lacri<sub>mal</sub> glands. Anat.Rec., 149: 333-358.
- SREEBNY, L.M. - 1953 - Histologic and Enzymatic differences in the submaxillary glands of normal and hypophysectomized male and female white rats. J.dent.Res., 32:586.
- SREEBNY, L.M., MEYER, J., BACHEM, E. & WEINMANN - 1955 - Post-natal changes in proteolytic activity and in the morphology of the submaxillary gland in male and female albino rat. GROWTH, 19: 57-74

- SREEBNY, L.M., MEYER, J. & BACHEM, E. - 1958 - Hormonal control - of the proteolytic activity of the submaxillary gland and the pancreas. J.dent.Res., 37:, 485-491.
- STORMONT, D.L. - 1932 - The salivary glands. In: Special Cytology, v.1, ed. E.V.Cowdry. Paul B.Hoeber, New York.
- TSUIKI, S., HASHIMOTO, Y. & PIGMAN, W. - 1961 - Bovine submaxillary mucin. Nature, 189: 399
- TUROLLA, E. & MARTINAZZI, M. - 1963 - Histochemical studies on the submaxillary gland of the rat. Acta histochem., - 15: 16-26.
- VILLA, N. & FAVA DE MORAES, F. - 1964 - Histochemical detection of mucopolysaccharides in the major salivary glands - of the rat. Annls. Histochem., 9: 257-264.
- WARREN, L. & SPICER, S.S. - 1961 - Biochemical and histochemical identification of sialic acid containing mucins of rodent vagina and salivary glands. J.Histochem.Cytochem. 9:400-408.
- YASUMA, A. & ICHIKAWA, T. - 1953 - J.lab.clin.Med., 41: Apud. - PEARSE, A.G.E. - 1960, op. cit. p. 793.
- YAO, T. - 1949 - Q.Jl.micros.Sci., 90: 801. Apud PEARSE, A.G.E.- 1960, op. cit. p. 109 e 803.

\*

\* \*

## APÊNDICE I

### I - Métodos indicativos de mucopolissacárides

#### A - Reações devidas ao radical 1-2 glicol e afins

1) Reação do ácido periódico-reativo de Schiff (McMANUS, 1946, modificada por HOTCHKISS, 1948).

- a) Os cortes desparafinizados e hidratados são tratados, durante 5 minutos, com solução de ácido periódico a 0,5%.
- b) Lavados cuidadosamente em água corrente e, em seguida, com água destilada.
- c) Tratados durante 15 minutos com o reativo de Schiff.
- d) Lavados em água corrente, de 5 a 10 minutos.
- e) Desidratados, diafanizados e montados com bálsamo do Canadá.

#### B - Reações devidas a radicais ácidos

1) Metacromasia com azul de toluidina (SASSO, 1961)

- a) Cortes desparafinizados e hidratados são corados com azul de toluidina e 0,01, em tampão de Landsmeer (ácido cítrico a 0,25 M e fosfato dissódico a 0,05M)\* em vários pH, durante 5 a 60 minutos.
- b) Lavados rapidamente com solução tampão do mesmo pH.
- c) Secados ao ar ou em estufa a 37°C e, quando bem secos, geralmente após umas 2 horas, passá-los rapidamente pelo xilol e montá-los com bálsamo do Canadá.\*\*

\* - Substituímos o tampão de Landsmeer pelo de MacIlvaine.

\*\* - Procedimento recomendado por MERZEL (1964).

2) Metacromasia com Safranina O (LILLIE, 1954).

- a) Cortes desparafinizados e hidratados são corados, durante 5 minutos com safranina O a 0,1%.
- b) Lavados com álcool, a 95%, desidratados e montados com bálsamo do Canadá.

3) Coloração pelo Azul de Alcian pH 1,0 (LEV & SPICER-1964).

- a) Cortes desparafinizados, hidratados, são corados por uma solução de azul de alcian a 1%, em HCl 0,1N, durante 30 minutos.

b) São, em seguida, enxugados em papel de filtro e, secados em estufa a 37°C durante 2 horas.

c) Diafanizados em xilol e montados em bálsamo do Canadá.

4) Coloração pelo Azul de Alcian em pH 2,5 (LISON-1954)

a) Cortes desparafinizados e hidratados são corados durante 10 minutos em solução de azul de alcian a 1% em ácido acético a 1%.

b) Lavados em água corrente.

c) Desidratados e montados em bálsamo do Canadá.

5) Captura do ferro coloidal (MULLER-1955)

a) Cortes desparafinizados e hidratados, são tratados durante 10 minutos com a seguinte solução: ácido acético 10 ml + hidróxido de ferro coloidal, 100 ml (este é preparado pela adição de 12 ml de cloreto férrico a 32% em 750 ml de água destilada em ebulição).

b) Lavados muito bem em água destilada (umas 5 trocas de água destilada).

c) Tratados durante 10 minutos com uma solução recém preparada de ferrocianeto de potássio a 1% em ácido clorídrico a 1%.

d) Lavados em água destilada, desidratados e montados com bálsamo do Canadá.

6) Coloração pela Aldeído-fucsina (GABE-1953).

a) Cortes desparafinizados e hidratados até o álcool 70°, são tratados durante 10 minutos por uma solução de aldeído fucsina, - preparada da seguinte maneira: em uma solução contendo 1g de fucsina básica em 200 ml de água, preparada a quente, resfriada e filtrada, juntar 2 ml de HCl concentrado. Observa-se o progresso da reação com uma gota do líquido depositada sobre o papel de filtro. No momento em que a coloração vermelha de fucsina desaparecer (4 dias em geral), recolhe-se sobre papel de filtro o precipitado formado. Deixa-se secar de maneira a eliminar o que resta de paraldeído e ácido clorídrico. Preparar - solução com álcool 70 (100 mg em 100 ml de álcool) e 1 ml de ácido acético.

- b) Lavados em álcool 70.
- c) Desidratados, diafanizados e montados em bálsamo do Canadá.

#### C - Reações para mucopolissacárides neutros

Os mucopolissacárides neutros negativos para as reações indicativas de radicais ácidos, tornam-se contudo, positivos a essas reações após pré-tratamentos.

##### 1) Sulfatação (BIGNARDI - 1940).

- a) Cortes desparafinizados são coloidionados e levados a uma solução de ácido sulfúrico concentrado e gelado durante 30 a 60 segundos.
- b) Lavados em álcool e depois em água.
- c) Tratados com métodos para mucopolissacárides de função ácida.

#### D - Reações de bloqueio para mucopolissacárides

##### 1) Acetilação (McMANUS & CASON - 1950)

- a) Cortes desparafinizados são levados ao álcool absoluto e dêste para a piridina.
- b) Tratar com o seguinte reativo: anidrido acético, 13 ml e piridina 20 ml. A duração da reação é variável, devendo o tempo - ser determinado por tentativas para as diversas estruturas.
- c) Lavar em piridina, álcool absoluto, álcool 95 e água.
- d) Tratar com métodos para radicais 1-2 glicol.

##### 2) Metilação (FISCHER & LILLIE - 1954)

- a) Cortes, desparafinizados são levados ao álcool absoluto e, em seguida, tratados com o seguinte reativo: álcool metílico, 100 ml + ácido clorídrico, 0,8 ml. A reação é feita em estufa a 60°C e sua duração é variável - de 1 hora à vários dias - dependendo do material.
- b) Lavados em álcool 70 e, em seguida, com água.
- d) Tratar com os métodos para mucopolissacárides ácidos.

##### 3) Saponificação (SPICER & LILLIE - 1959).

- a) Cortes após metilação ou acetilação, são lavados com álcool - 80, coloidionados e em seguida, tratados durante 20 minutos - com uma solução de hidróxido de potássio a 1% em álcool a 80.
- b) Lavados com álcool 80 e, em seguida, com água corrente.
- c) Tratar com reações para radical vic-glicol (no caso da acetilação prévia) ou com reações para grupos ácidos (no caso de meti

lação prévia).

4) Hidrólise ácida (QUINTARELLI e col. - 1961)

- a) Cortes desparafinizados são submetidos durante 4 horas, a 70°C à ação do tampão acetado (0,02M de acetato de sódio e 0,02M de HCl) pH 2,5.
- b) Após lavagem, são submetidos aos métodos indicativos de grupos ácidos.

E - Tratamento por enzimas

1) Aamilase salivar

- a) Cortes desparafinizados e hidratados, são tratados com saliva durante 30 minutos, em placa de Petri, fechada, provida com suporte para lâminas, forrada com papel de filtro umidecido. Os cortes controle, são tratados com água destilada, nas mesmas condições.
- b) Depois desse tratamento, os cortes são lavados, desidratados, coloidionados e novamente hidratados.
- c) Tratar com a reação do PAS.

2) Ribonuclease (LISON - 1960).

- a) Cortes desparafinizados e hidratados foram tratados durante 1 a 2 horas, a 37°C, pela ribonuclease, preparada a partir do pâncreas do boi.
- b) Em seguida, coloração pelo azul de toluidina pH 4,5.
- c) Montagem rotineira.

3) Hialuronidase testicular (LEPPI & STOWARD - 1965)

- a) Cortes desparafinizados e hidratados foram incubados durante 1 a 2 horas a 37°C, numa solução a 0,05% de hialuronidase testicular, em tampão fosfato a 0,1M em pH 5,5.
- b) Lavagem em água destilada e coloração pelo Azul de alcian em pH 2,5.
- c) Montagem rotineira.

4) Sialidase (QUINTARELLI e col. - 1961)

- a) Cortes desparafinizados e hidratados foram incubados numa solução de sialidase, preparada da seguinte maneira :

170 g de NaCl.

2,72 g de  $\text{KH}_2\text{PO}_4$

30 g de  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$

Êsses sais foram dissolvidos em 1 litro de água destilada.

- b) Antes do uso, uma parte da solução salina é diluída em 19 partes de água destilada para produzir uma concentração final de 0,85% de Na Cl e 0,005M de fosfato.
- c) Misturar 1 ml da sialidase com 4 ml do tampão e conservar esta solução a 4°C.
- d) De cada 6 horas, durante 24 horas, algumas gotas desta solução são colocadas sobre os cortes que estão conservados em estufa a 37°C.
- e) Após o período de incubação, os cortes foram lavados em água destilada e corados pelo azul de alcian pH 2,5 e pela aldeído fucsina.

5) Sialidase após breve saponificação pela KOH a 1% em etanol (SPICER & DUVENCI - 1964).

- a) Cortes desparafinizados e hidratados são tratados durante 5 minutos (breve saponificação) numa solução de KOH a 1% em etanol 80.
- b) Em seguida foram tratados pela sialidase segundo o método descrito por QUINTARELLI e col. - 1961.
- c) Após lavagem em água destilada, os cortes foram corados pelo azul de alcian, em pH 2,5 e pela aldeído fucsina.
- d) Montagem rotineira.

#### F - Métodos combinados para evidencição de mucopolissacárides

1) Azul de alcian mais ácido periódico-Schiff (AA-PAS) (McMANUS & MOWRY - 1960).

- a) Cortes depois da desparafinização e hidratação, são tratados pelo azul de alcian conforme o método já descrito.
- b) Lavagem em água corrente e em seguida com água destilada.
- c) Tratar com ácido periódico durante 10 minutos.
- d) Lavar em água destilada.
- e) Tratar com o reativo de Schiff, durante 15 a 45 minutos.
- f) Lavar em água corrente, desidratar, diafanizar e montar com - bálsamo do Canadá.

2) Azul de alcian mais aldeído fucsina (SPICER & MEYER-1960).

a) Os cortes desparafinizados e hidratados são tratados pelo azul de alcian durante 10 minutos e em seguida, após lavagem em água corrente e passagem rápida em álcool 70, são corados pelo mesmo espaço de tempo pela aldeído fucsina.

Na sequência inversa, os cortes são primeiros corados pela solução de aldeído fucsina e depois pelo azul de alcian.

b) Após a coloração os cortes são desidratados, diafanizados e montados com hálamo do Canadá.

## APÊNDICE II

### I - Reação para grupos proteínicos

#### a) Reação de Millon para grupo fenol (BAKER - 1956)

- 1) Cortes desparafinizados e hidratados são tratados durante 1 a 2 horas a 70°C pelo seguinte reativo: 10 g de  $\text{HgSO}_4 + \text{H}_2\text{SO}_4$  a 10%, 100 ml. Aquecer a mistura até a completa dissolução e em seguida, completar o volume para 200 ml. Finalmente, adicionar 0,5 ml de nitrito de sódio a 0,25%.
- 2) Após o tratamento a quente, o reativo contendo os cortes é deixado resfriar até a temperatura ambiente.
- 3) Remover os cortes e em seguida, lavar em 3 banhos de água destilada (2 minutos cada banho).
- 4) Montagem rotineira.

#### b) Reação da Ninhidrina-Schiff para grupo amino (YASUMA - ITCHIKAWA - 1953).

- 1) Cortes desparafinizados e hidratados, são tratados durante 16-20 horas, a 37°C, com uma solução de ninhidrina a 0,5% em álcool absoluto.
- 2) Lavagem em água corrente durante 2 a 5 minutos.
- 3) Reativo de Schiff durante 15 a 25 minutos.
- 4) Lavar em água corrente durante 10 minutos.
- 5) Montagem rotineira.

#### c) Reação com p-dimetilaminobenzaldeído-nitrito para grupo indol (ADAMS - 1957).

- 1) Os cortes após desparafinização são colocados em álcool absoluto e, em seguida coloidionados.
- 2) Segue-se, tratamento pela solução de p-dimetilaminobenzaldeído a 5% em HCl concentrado, durante 3 minutos.
- 3) Sem lavar, colocar numa solução de nitrito de sódio a 1% em HCl concentrado, pelo mesmo período de tempo.
- 4) Lavar durante 30 minutos em água destilada e, em seguida, numa solução de álcool ácido a 1%.
- 5) Montagem rotineira.

d) Reação do Ferricianeto férrico para grupo sulfidril  
(ADAMS - 1956).

- 1) Cortes desparafinizados e hidratados, são tratados durante 3 a 6 minutos pelo seguinte reativo: ferricianeto de potássio a 1% - 1 parte e cloreto férrico a 1% - 3 partes.
- 2) Lavagem em solução de ácido acético a 1% durante 10 minutos.
- 3) Desidratar, diafanizar e montar em bálsamo do Canadá.

e) Reação do ácido tioglicólato-ferricianeto férrico para grupos dissulfeto mais sulfidril (ADAMS - 1956).

- 1) Cortes desparafinizados e hidratados são imersos durante 30 minutos numa solução aquosa de tioglicolato de sódio a 2,5%, com pH ajustado a 8.
- 2) Lavagem em água destilada levemente acidificada (pH 4,0) durante 3 minutos.
- 3) Lavar em água corrente por 3 minutos e, em seguida, água destilada.
- 4) Os cortes são imersos numa solução recente de ferricianeto de potássio a 1% - 1 parte e cloreto férrico a 1% - 3 partes, durante 1 minuto a 30 segundos.
- 5) Lavar em 3 banhos de água destilada durante 10 minutos.
- 6) Montagem rotineira.

f) Reação de Sakaguchi para o grupo guanidil (BAKER - 1947)

- 1) Após desparafinização e hidratação, os cortes são deixados ao ar até quase secar.
- 2) Em seguida são tratados durante 15 minutos com o seguinte reativo:

alfa naftol a 1% em álcool 70 - 2 gotas

NaOH a 1% . . . . . - 2 ml

Reativo de Milton \* . . . . . - 4 gotas

\* - hipoclorito de sódio 1g + NaCl 18g em 100 ml de água destilada

- 3) Em seguida os cortes são secados em papel de filtro e passados para uma solução em partes iguais de piridina seca e clorofórmio.

4) Montar em piridina-clorofórmio ou em piridina sêca.

OBS.: - Esta reação deve ser levada a efeito em vidro relógio, a fim de se evitar precipitados.

## II - Reações negativas (bloqueios)

### a) Desaminação (PEARSE - 1960)

1) Dois cortes são desparafinizados e hidratados, sendo que um é tratado durante 18-48 horas a  $0^{\circ} - 4^{\circ}\text{C}$ , por uma solução de ácido do nitroso, preparada pela mistura em partes iguais de ácido a cético a 10% e nitrito de sódio a 5%, e a outra tratada com á-gua destilada nas mesmas condições.

2) Ambas, a seguir, são tratadas pelos reativos que evidenciam - grupo amino.

### b) Oxidação do grupo sulfidrila

Pelo peróxido de hidrogênio (ENGEL & ZERLOTI - 1964)

1) Cortes desparafinizados e hidratados são tratados durante 1 hora pelo peróxido de hidrogênio, a 3%.

2) A seguir são lavados e imersos nos reativos que evidenciam grupos sulfidrila.

Pelo iôdo (BARNETT & SELIGMAN - 1954)

1) Cortes desparafinizados e hidratados são imersos durante 4 horas numa solução aquosa contendo 38 mg de iôdo e 33 mg de iodeto de potássio para 100 ml de água destilada.

2) Antes do uso, essa solução deve ser titulada a pH 3,2 com HCl a 0,01N.

3) Os cortes são lavados e tratados com os reativos que demonstram grupo sulfidrila.

Pelo ácido perfórmico

1) Cortes desparafinizados e colodionados são tratados durante 5 a 10 minutos por uma solução de ácido perfórmico.

2) Após lavagem rápida são imersos em reativos que evidenciam grupo sulfidrila.

### III - Bloqueio do grupo sulfidril pela formação de mercaptídeos

#### a) Pela ação do bicloreto de mercúrio (YAO - 1949)

- 1) Cortes desparafinizados e desidratados são imersos em uma solução saturada de bicloreto de mercúrio durante 1 hora.
- 2) Em seguida, após lavagem dos cortes durante 5 a 10 minutos, estes são tratados pelos métodos que demonstram grupo sulfidril.

#### b) Pela ação do acetato de fenil mercúrio (PEARSE-1960)

- 1) Os cortes desparafinizados e hidratados, são tratados a temperatura ambiente durante 48 a 72 horas por uma solução de acetato de fenil mercúrio a 0,001M, em n-propanol.
- 2) Após a lavagem em água durante 10 minutos os cortes são tratados com métodos que evidenciam grupo sulfidril.

### IV - Bloqueio do grupo guanidil da arginina pela benzoilação - PEARSE - 1960).

- 1) Após desparafinização os cortes são imersos em éter de petróleo durante 3 minutos.
- 2) Removidos do éter de petróleo, são deixados para secar ao ar.
- 3) Quando secos, são colocados numa solução de cloreto de benzoila a 10% em piridina seca, durante 10-16 horas em temperatura ambiente (o tempo de duração da benzoilação depende do tipo de fixação empregada; é curta para fixadores alcoólicos e longa para fixadores a base de formol.
- 4) Lavar em acetona absoluta e imergir em álcool absoluto.
- 5) Hidratar os cortes e tratar pelos métodos que evidenciam radical guanidil da arginina.

### V - Bloqueio do grupo fenol da tirosina pela iodação (PEARSE-1960)

- 1) Os cortes após desparafinização e hidratação são tratados em temperatura ambiente com uma mistura contendo 30 ml de iodo de GRAM (iôdo - 1g; iodeto de potássio - 2g; água destilada - 300 ml) e 2 ml de amônia a 3%.
- 2) Lavagem em água corrente e tratamento pelo reativo de Millon.

VI - Bloqueio do grupo indol do triptofano pelo ácido perfórmico  
(ADAMS - 1957)

- 1) Os cortes desparafinizados e hidratados, são tratados durante 2 a 3 minutos por uma solução de ácido perfórmico (ácido fórmico 98%, 40 ml + 4 ml de  $H_2O_2$  (100v.) + 0,5 ml de ácido sulfúrico concentrado).

Esta solução deve ser usada 1 hora após a mistura e de preferência até 24 horas.

- 2) Após a lavagem em água os cortes são tratados pelos métodos - que evidenciam grupo indol.

\*

\* \*