

exemplar
devidamente
revisado conforme
CC PO 1036/83
Piracicaba 22 de fevereiro de 1984

GERSON MENDES DE LIMA JUNIOR

INFLUÊNCIA DA CICLOFOSFAMIDA E DO METOTREXATO
SOBRE GLÂNDULAS SUBMANDIBULARES ESTIMULADAS PELA
AMPUTAÇÃO DOS INCISIVOS INFERIORES EM RATOS MACHOS
CASTRADOS TRATADOS PELO PINDOLOL OU RESERPINA

Tese apresentada à Faculdade de Odontologia
de Piracicaba da Universidade Estadual de
Campinas, para obtenção do título de
Doutor em Ciências (área de Farmacologia)

PIRACICABA - SP

1994

L628i

24038/BC

UNICAMP
BIBLIOTECA CENTRAL

Ao meu pai (in memoriam)

a minha mãe,

Aos meus filhos,

Gerson Flávio,

Eduardo Maurício,

Paulo Sérgio,

Beatriz.

e a minha esposa,

Terezinha.

Ao Professor Doutor **Thales Rocha de
Mattos Filho**, pelo apoio, amizade e
também, pela dedicação ao curso de
Pós-Graduação ...

À Professora Doutora **Maria de
Lourdes Garboggini da Gama**, pela
orientação, incentivo, sugestões
e apoio ...

... os meus agradecimentos e homenagens.

Agradeço,

Ao Professor Doutor Renato Roberto Biral,
D.D. Diretor da Faculdade de Odontologia
de Piracicaba - UNICAMP, pela atenção
dirigida ao ensino de Pós-Graduação.

Aos docentes do Curso de Farmacologia,
Professora Doutora Maria de Lourdes
Garboggini da Gama, Professor Doutor
Eduardo Dias de Andrade, Professora
Maria Cristina Volpato, Professor
Doutor Thales Rocha de Mattos Filho e
Professor Doutor José Ranali.

Aos Senhores

José Carlos Gregório e Ademir Mariano
os meus agradecimentos pela assistência e
cuidado com os animais.

À Senhora

Maria Elisa dos Santos, pela
cordialidade e solicitude com
que sempre nos atendeu.

Agradecimentos especiais

Aos colegas de magistério da
Universidade Federal de Minas Gerais:

Professor Doutor Recival Lyrio de Araujo,
Professora Maria Aparecida Costa Lage
Becker, Professor Doutor José Maria
Pessoa, Professor Doutor Teófilo André da
Cruz.

Í N D I C E

	página
I. INTRODUÇÃO	1
II. REVISTA DA BIBLIOGRAFIA	5
III. PROPOSIÇÃO	29
IV. MATERIAL E MÉTODOS	30
1. Animais Utilizados	30
2. Preparação dos Animais	30
3. Drogas, Doses e Vias de Administração	32
V. SISTEMATIZAÇÃO DA PESQUISA	34
1. Desenvolvimento Experimental	35
2. Avaliação Estatística	37
VI. RESULTADOS	38
1. Resultados do Grupo A	38
2. Resultados do Grupo B	42
3. Resultados do Grupo C	46
4. Resultados do Grupo D	50
5. Resultados do Grupo E	
6. Resultados do Grupo F	58
VII. DISCUSSÃO	62
VIII. CONCLUSÕES	69
IX. RESUMO	71
X. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	73

I. INTRODUÇÃO

1. INTRODUÇÃO

As glândulas submandibulares do rato iniciam o seu desenvolvimento durante a vida intra-uterina e sua diferenciação somente se completa após o nascimento (RABELO, 1971).

É sabido também que estes animais, ao completarem 60 dias de idade, época em que estão atingindo a maturidade sexual e também o completo desenvolvimento dos túbulos glandulares das glândulas submandibulares (JACOBY e colab., 1959), das quais têm podido ser isoladas substâncias ativas denominadas de fatores (MATHEUS, 1982), sendo que a estes nos referiremos no capítulo seguinte. As glândulas submandibulares são órgãos parenquimatosos de pouca atividade mitótica, que podem, em um curto espaço de tempo, constituírem-se em modelo de proliferação celular, devido a virem a apresentar grande número de células em mitose quando adequadamente estimuladas, seja pela administração de drogas ou pela amputação dos incisivos inferiores (BHASKAR, 1978). Estudos histométricos, histológicos e ultra-estruturais das referidas glândulas, foram efetuados após a amputação dos incisivos inferiores (TAKEDA e colabs., 1986).

Verificou-se que tais amputações, praticadas uma só vez em cada rato, eram suficientes para provocar aumentos das glândulas submandibulares destes animais. No quarto dia após a amputação dos incisivos inferiores, o número de células em mitose atingia o máximo e o maior aumento das glândulas ocorria no sétimo dia (TAKEDA e colabs., 1986).

Tais estudos demonstraram que os aumentos das glândulas eram decorrentes da hipertrofia e hiperplasia das

células dos ácinos e do aumento da síntese de proteínas. Estas células eram caracterizadas por organelas bem desenvolvidas, como o retículo endoplasmático de superfície rugosa e Aparelho de Golgi que ocupava o citoplasma quase por inteiro. Terminações nervosas, aumentadas com o desaparecimento de vesículas, eram frequentemente encontradas (TAKEDA e colabs., 1986).

Interessante que em células de proliferação lenta como das glândulas submandibulares, também após a administração do isoproterenol, ocorria aumento das células em mitose, aumento da síntese de proteínas, embora decorrente da administração de uma só dose da droga.

Em decorrência dos resultados dos experimentos pensamos na possibilidade de utilizar estas glândulas como modelo de proliferação celular para o estudo do mecanismo de proliferação celular (CANTAZARO GUIMARÃES, 1973). Por outros estudos, verificou-se que quando se administra isoproterenol e metotrexato não ocorre aumento das glândulas submandibulares e nem de células em mitose (MAKULU e colab., 1972).

Nas glândulas estimuladas então, seja por administração de isoproterenol ou por amputação de incisivos inferiores, podemos estudar as diversas fases do ciclo de proliferação celular e a ação de drogas antineoplásicas.

Como as glândulas submandibulares sofrem alterações morfológicas e bioquímicas em consequência das mais variadas condições, quer do tipo de alimentação, da situação hormonal ou de administração de drogas, de amputação dos incisivos inferiores, efetuamos em experiências anteriores, administração de metotrexato em ratos normais e castrados (LIMA JUNIOR, 1990), com incisivos inferiores amputados.

Nos ratos castrados foi constatado que, mesmo administrando metotrexato e fazendo amputações dos incisivos inferiores, as glândulas apresentaram aumento quando comparadas com os grupos controle de ratos normais e castrados.

Em vista dos resultados obtidos nas referidas experiências, efetuamos outras, trabalhando com ratos machos castrados, porém injetados com testosterona, nos quais efetuamos amputações dos incisivos inferiores além de administrar metotrexato nos animais.

Era de se esperar que apesar da amputação de incisivos inferiores, quando se administra metotrexato, não viesse a ocorrer aumento das glândulas, tal como ocorre com ratos normais.

Trabalhos anteriores haviam demonstrado que em ratos machos normais, quando se amputava os incisivos inferiores e se administrava metotrexato, não ocorria aumento das glândulas submandibulares (LIMA JUNIOR, 1990) e aumento das glândulas e das células em mitose (MAKULU e colab., 1972).

É sabido ser a síntese de DNA dependente de hormônios, seja em ratos machos ou fêmeas, e isto foi evidenciado quando outros pesquisadores estimulavam as glândulas pela administração de isoproterenol (BARKA, 1965; BARKA, 1965; BARKA, 1967; BAKER e colabs., 1964).

Efetuamos estudos com ciclofosfamida nas mesmas condições da experiência com o metotrexato, porém trabalhando unicamente com grupos de ratos machos castrados.

A ciclofosfamida, ao contrário do metotrexato, atua em todas as fases do ciclo proliferativo celular, enquanto o metotrexato somente na fase S.

É sabido que em consequência de amputações dos

incisivos inferiores, em ratos que sofreram simpatectomia, não ocorre aumento das glândulas do lado operado, isto é, do lado onde foi efetuado gangliectomia (WELLS e colabs., 1961).

Para verificar o papel do simpático nos aumentos das glândulas submandibulares, quando se administra metotrexato ou ciclofosfamida, fizemos a simpatectomia química com os bloqueadores do simpático, pindolol ou reserpina.

Também, experimentos foram feitos com ratos tratados com reserpina ou pindolol e que foram submetidos a amputações dos incisivos inferiores.

Em todos os experimentos do presente trabalho são utilizamos ratos machos castrados.

II. REVISTA DA BIBLIOGRAFIA

II. REVISTA DA BIBLIOGRAFIA

II.1. CONSIDERAÇÕES SOBRE A FORMAÇÃO DAS GLÂNDULAS SUBMANDIBULARES

As glândulas salivares principais de ratos, iniciam-se com o desenvolvimento do espessamento do epitélio de revestimento da cavidade bucal em locais específicos, devendo-se ressaltar que este fenômeno ocorre em época definida para cada glândula.

Os espessamentos epiteliais que correspondem ao início do desenvolvimento das glândulas submandibulares e sublingual, aparecem junto ao sulco lingual, no décimo terceiro dia de vida intra-uterina (GERSTNER e colabs., 1963; REDMAN e colab., 1970). Inicialmente, tais espessamentos epiteliais formam um cordão cilíndrico de células, que cresce segundo orientação definida, mas variável, de glândula para glândula, no interior do mesênquima subjacente. A este cordão sólido e único denomina-se rudimento glandular (GROBSTEIN, 1953; LAWSON, 1970).

O crescimento do rudimento glandular ocorre rapidamente e assume configuração arredondada em sua extremidade distal e a essa massa esferóide, denomina-se broto terminal. Deste originam-se ramificações tubulares sólidas que também formam brotos terminais (RAYNAUD, 1943; BORGHESE, 1950; LAWSON, 1970; REDMAN e colab., 1970).

Os brotos terminais são sólidos e constituídos por uma camada de células cilíndricas que envolvem um maciço celular central, cujas células apresentam morfologia irregu-

lar (BORGHESE, 1950). Originando-se dos brotos terminais, verifica-se intensa ramificação dos cordões celulares, aparecendo novos brotos.

A atividade proliferativa nas estruturas terminais varia de intensidade de acordo com a glândula considerada, sendo que durante a vida intra-uterina ela é mais intensa na submandibular e lingual do que na parótida. Tais diferenças proliferativas na fase pré-natal são traduzidas ao nascimento, pelo aspecto de indiferenciação da glândula parótida (GABE, 1956; REDMAN e colab., 1970) em comparação com a glândula submandibular (ALVARES e colab., 1975) e sublingual (LEESON e colab., 1961). À medida que vai se acentuando a ramificação do parênquima epitelial, concomitantemente, observa-se condensação mesenquimal ao redor dos brotos terminais.

Observa-se na luz dos brotos terminais o aparecimento dos primeiros sinais de secreção (CUTLER e colab., 1974), visíveis histoquimicamente, pela microscopia óptica (DIGIOVINI VECCHIONE, 1936). Durante e imediatamente após o aparecimento da luz, as células dos brotos terminais apresentam aumento gradativo do número e do tamanho dos grânulos de secreção, assim como da quantidade de membranas do retículo endoplasmático rugoso.

Em razão deste fato, podem ser encontrados na fase final da vida intra-uterina e/ou durante os primeiros 30 dias após o nascimento, células em diferentes fases de maturação em uma glândula (GABE, 1956; VILLA, 1968; REDMAN e colab., 1971).

Os ácinos mostram-se bem definidos em torno do quinto dia de vida extra-uterina, caracterizando-se por apresentarem formas diversas, luz diminuta, estando formados por

células piramidais, cujo citoplasma se apresenta acentuadamente acidófilo e granuloso, com fraca basofilia na porção basal das células, onde se pode observar que o núcleo é esférico e vesiculoso. Os ductos intercalares curtos e ramificados se apresentam revestidos por células achatadas, de limites imprecisos, com citoplasma predominantemente acidófilo; seus núcleos são alongados. Os ductos estriados são formados por camada única de células alongadas, que mostram citoplasma nitidamente estriado em sua porção média. Os ductos excretores estão dispostos interlobularmente na glândula, possuem camada única de células em citoplasma acidófilo de limites pouco precisos e núcleo quase sempre esférico, com cromatina frouxa e nucléolo bem evidente (RABELO, 1971). Aos 15 dias, as células continuam a proliferar, estando o número de ácinos presentes em maior proporção do que nos períodos anteriores. Torna-se maior a quantidade de grânulos de secreção das células acinosas, sendo que existe diminuição evidente dos espaços interparenquimatosos (TAGA, 1976).

A porção epitelial da glândula continua a aumentar, enquanto que suas características morfológicas apresentam-se cada vez melhor definidas. Nas três primeiras semanas após o nascimento, verifica-se moderada e intensa atividade mitótica, respectivamente para a glândula submandibular e parótida, diminuindo tal atividade, consideravelmente, após o vigésimo quinto dia (REDMAN e colab., 1970).

Ainda neste período, a atividade proliferativa e de morfodiferenciação é intensa na glândula submandibular (LEESON e colab., 1959), sendo que o citoplasma das células acinosas exibe características muito semelhantes às descritas para o período anterior.

Aos 60 dias, a principal característica é a diversificação do parênquima glandular, com aparecimento de ductos granulosos típicos, sendo que tal diferenciação verifica-se a partir dos ductos estriados, acontece de forma gradual, mostra-se mais intensa na porção proximal dos ductos e, num mesmo ducto, podemos observar diversos estágios de diferenciação (JACOBY e colab., 1959; SRINIVASAN e colab., 1975).

II.2. INTERRELAÇÃO GÔNADAS, GLÂNDULAS SUBMANDIBULARES

A interrelação glândulas salivares e glândulas sexuais tem sido demonstrada, ficando comprovado que as glândulas salivares são profundamente influenciadas por hormônios androgênicos (GRAD e colab., 1949).

Assim é que LACASSAGNE e colab. (1969) observaram que camundongos castrados apresentam atrofia das glândulas submandibulares, atrofia esta que se acentua com a hipofisectomia e que sofre reversão após a administração de andrôgenos. ISTRATE (1955) constatou que o pleno desenvolvimento das glândulas submandibulares depende dos hormônios sexuais.

Ainda segundo BIXLER e colabs. (1955), a remoção das glândulas salivares resulta em nítida diminuição do peso dos testículos.

A presença de um eixo submandibular-gônadas tem sido sugerida e encontra apoio principalmente no fato de que a gonadectomia influencia as glândulas submandibulares (RAYNAUD, 1950; 1960) e estas têm influência sobre as gônadas (NARASIMHAN e colab., 1968).

Por outro lado, PLAZA e colabs. (1974), ao es-

tudarem o efeito da extirpação das glândulas submandibulares de ratos sobre o metabolismo do sistema nervoso central, adrenais, tireóide, testículos, concluíram que nestes locais a atividade metabólica mostrava-se aumentada.

Especificamente com relação às glândulas submandibulares do rato, seu desenvolvimento tem início ainda durante a vida intra-uterina e sua diferenciação somente se completa após o nascimento (RABELO, 1971).

A porção acinosa antecede à porção tubulosa, de maneira que esta última se completa aos três meses de idade (SREEBNY e colabs., 1955; JACOBY e colab., 1959). Ao nascimento, a glândula submandibular está constituída dos seguintes compartimentos morfológicos, considerando-se em sequência próximo-distal: túbulos terminais, ductos intercalares, ductos estriados e ductos excretores (CHANG, 1974; ALVARES e colab., 1975).

Os túbulos terminais são estruturas transitórias e, no rato, o parênquima destas glândulas constitui unidades morfofuncionais, denominadas adenômeros, os quais possuem diversos compartimentos celulares representados por ácinos, ductos intercalares, ductos granulosos, ductos estriados e ductos excretores (JUNQUEIRA e colab., 1965).

Nas glândulas submandibulares dos roedores, na época da maturidade sexual, ocorre, na porção proximal dos ductos estriados intralobulares (adjacentes aos ductos intercalares), uma "ESPECIALIZAÇÃO" para formar um segmento de túbulo granular. As células do túbulo granular são grandes, com núcleos situados basalmente, e restos de invaginações basais e um grande número de grânulos elétron-densos de vários tamanhos no citoplasma apical. Os túbulos granulares são muito sen

síveis às influências hormonais. Geralmente são menores nas fêmeas do que nos machos, mas a administração de testosterona às fêmeas, resulta no desenvolvimento de uma estrutura como a dos machos; inversamente, a castração de machos resulta em glândulas semelhantes às das fêmeas (BHASKAR, 1989).

Pesquisas têm demonstrado a interrelação entre glândulas submandibulares, hipófise e tireóide. O camundongo macho mostra um desenvolvimento maior dos túbulos granulares e proteínas com atividades biológicas específicas. A maioria destas tem pesos moleculares semelhantes, embora com atividades diferentes sobre os tecidos (BHASKAR, 1989). Os ductos granulosos típicos aparecem aos 60 dias de idade no rato, acontecendo de forma gradual a partir dos ductos estriados, sendo mais intensa na porção proximal dos ductos e, num mesmo ducto, podem ser observados diversos estágios de diferenciação (JACOBY e colab., 1959; SRINIVASAN e colab., 1975).

Aos 100 dias de idade, os ductos granulosos predominam sobre os ductos estriados, e com 180 dias as glândulas apresentam as características de glândulas completamente desenvolvidas; os ductos granulosos contorcidos são proeminentes, sem, no entanto, predominarem sobre os ácinos. Há pequeno número de ductos estriados (JACOBY e colab., 1959).

Os efeitos da castração na modulação estrutural e bioquímica dos ductos granulosos da glândula submandibular do camundongo foram realizados por TAMES, em 1979, que observou que esses ductos nos animais castrados eram semelhantes aos das fêmeas, isto é, menores e com menor número de grânulos. A castração de ratos machos foi efetuada antes dos animais completarem 60 dias de idade, época em que estes atingem a maturidade sexual e também o completo desenvolvimento dos

túbulos granulares (JACOBY e colab., 1959).

Dos ductos granulosos, têm sido isoladas diversas substâncias ativas, denominadas de fatores (MATHEUS, 1982). A maioria destes fatores tem pesos moleculares semelhantes, entretanto, seus efeitos sobre os tecidos e animais são absolutamente diferentes.

Dentre tais fatores citam-se: fator de crescimento nervoso (COHEN, 1960), fator de crescimento epidermal (COHEN, 1962), fator de crescimento das células cardíacas (BAST e colab., 1963), fator de crescimento das células do tubo neural (ADLER e colab., 1956), fator de crescimento das células mesenquimais (ATTARDI e colab., 1967), fator depressor do sistema linfático (TAKEDA e colabs., 1967), fator letal das glândulas submandibulares relacionado ao sexo e influenciado por andrôgenos (HOSHINO e colab., 1968, 1969), fator de crescimento dos linfócitos tímicos (NAUGHTON e colabs., 1969), fator hemorrágico (LIN e colab., 1969), fator de crescimento das células epiteliais (JONES e colab., 1970), proteína supressora da mitose (BARKA, 1973), fator anti-complemento (WALLACE e colabs., 1976) e fator hiperglicemiante (LAWRENCE e colabs., 1977).

II.3. ALTERAÇÕES DAS GLÂNDULAS SUBMANDIBULARES DEVIDO A ESTÍMULOS POR AMPUTAÇÕES DOS INCISIVOS INFERIORES E ADMINISTRAÇÃO DE DROGAS

A grande labilidade das glândulas salivares do rato, alterando-se estruturalmente ante variados estímulos, tornam estas, ideais para o estudo bioquímico, histológico e

farmacológico (HANDLEMAN e colab., 1963; SCHNEYER e colab., 1963; WELLS, 1967).

Alterações hiperplásicas e/ou hipertróficas ocorrem quando se administra isoproterenol, ou se procede à amputação dos incisivos inferiores, ou quando os animais são submetidos a uma dieta volumosa (SELYE e colabs., 1961; BROWN-GRANT, 1961; BARKA, 1965; BASERGA, 1966; MALAMUD e colab., 1968).

A administração crônica de isoproterenol induz hipertrofia das glândulas salivares de ratos (SELYE e colabs., 1961) e camundongos (BROWN-GRANT, 1961).

Com uma única injeção de isoproterenol, ocorre um acentuado estímulo da síntese do DNA nas glândulas salivares de roedores; a síntese atinge o máximo 24 horas após a administração da droga (BARKA, 1965; BASERGA, 1966).

A administração do isoproterenol, num período de 10 dias, induz um aumento de 2,5 vezes das glândulas submandibulares (SELYE e colabs., 1961).

Conforme já nos referimos, a hipertrofia causada pelo isoproterenol foi completamente evitada quando o metotrexato foi administrado simultaneamente com o isoproterenol (MAKULU e colab. 1972).

Os resultados destas experiências indicaram que os inibidores metabólicos podem ser úteis como ferramentas na elucidação do mecanismo de estimulação da síntese do DNA pelo isoproterenol (BASERGA, 1966) e da atividade de glândulas submandibulares de ratos e camundongos (BARKA, 1965; SELYE e colabs., 1961; BAKER e colabs., 1964).

Foram efetuadas pesquisas com a finalidade de verificar se estes fenômenos eram sexo-dependentes, isto é,

se a síntese do DNA poderia ser hormonalmente influenciada e se as alterações hormonais ofereciam alguma explicação para as variações biológicas em resposta à administração do isoproterenol (BARKA, 1965; BARKA, 1967; BAKER e colabs., 1964). Os resultados indicaram que o sexo afeta a estimulação da síntese do DNA, porém, em ambos os sexos ocorre aumento da síntese do DNA (BARKA, 1967).

Verificou-se também, que a teofilina tem efeito bastante significativo no aumento de peso das glândulas submandibulares de ratos (WELLS, 1967) e que este aumento não ocorre se houver destruição prévia da inervação autonômica (WELLS e colab., 1964). Ainda pelas pesquisas efetuadas por estes autores, constatou-se que a administração contínua de teofilina e outros estímulos sialoadenotróficos, como amputação dos incisivos inferiores em ratos, ou com a administração de alimentação volumosa, acarretava um aumento grande de peso das glândulas submandibulares. No caso de dieta volumosa, o efeito sinérgico dos estímulos sialoadenotróficos acarretava aumento das glândulas destituídas de inervação simpática. O mesmo autor conclui que a teofilina não altera significativamente o efeito de catecolaminas e do isoproterenol no peso das glândulas salivares.

É sabido que amputações periódicas da porção erupcionada dos incisivos inferiores dos ratos resultam em aumento das glândulas submandibulares. O aumento destas é devido à hipertrofia das células dos ácinos e não tem sido encontrada proliferação mitótica de quaisquer células de estruturas das glândulas, ao contrário do que ocorre quando se administra drogas simpatomiméticas (PEREC e colabs., 1965; WELLS e colabs., 1959; WELLS, 1960; WELLS e colab., 1960; WELLS,

1963).

Por outro lado, uma simples amputação dos incisivos inferiores provoca hipertrofia e hiperplasia, explicando, assim, o aumento das glândulas (TAKEDA e colabs., 1986; WELLS e colabs., 1959; HANDLEMAN e colab., 1963; PEREC e colabs., 1965).

TAKEDA e colabs. (1986), estudando glândulas submandibulares de ratos que tiveram os incisivos inferiores amputados uma só vez, encontraram um número aumentado de células acinosas em mitose, entre 2 e 7 dias após a amputação. O maior número de mitoses atingia o máximo após o 4º dia. Verificaram, ainda, que a hipertrofia dos ácinos alcançava o máximo no 7º dia.

Este trabalho permitiu concluir haver respostas diferentes das glândulas submandibulares quando se fazem amputações periódicas, ou uma única amputação.

Estudos da ultra-estrutura das glândulas submandibulares de ratos, efetuados após uma única amputação dos incisivos inferiores, revelaram aumento de grânulos de secreção e células mais ricas em organelas.

Este número aumentado de organelas era maior entre o 4º e o 7º dias da amputação e o retículo endoplasmático de superfície rugosa e o Aparelho de Golgi ocupavam uma grande porção do citoplasma. A arquitetura das células dos ácinos se assemelhava àquelas alterações que ocorrem nas glândulas submandibulares, induzidas pela administração de isoproterenol (SEIFERT, 1967; TAKAHAMA e colab., 1967).

Por outro lado, 10 a 14 dias após a amputação dos incisivos inferiores dos ratos, foram encontradas células em degeneração nos ácinos, e o tamanho e a estrutura das células

las remanescentes tornaram-se gradualmente similares àquelas das glândulas do grupo controle. Tais alterações degenerativas das células dos ácinos após hiperplasia, são similares àquelas alterações verificadas em células acinares destituídas de estímulo neural ou após tratamento com drogas que bloqueiam a estimulação simpática ou parassimpática (WELLS, 1960; WELLS e colabs., 1961).

A maioria dos tecidos sofre um constante processo de renovação, graças à contínua multiplicação e morte de suas células. A velocidade de renovação das células varia muito de um tecido para outro, podendo ser rápida, como no caso do epitélio intestinal, ou lenta, como no caso do pâncreas e tireóide.

Considera-se o ciclo celular com intervalo existente entre a mitose da célula-mãe e de uma ou ambas células-filhas (BASERGA, 1971). Pode, ainda, ser subdividido em 4 períodos consecutivos: (a) G_1 , período que compreende o término da mitose e o início da replicação do DNA; (b) S, período de replicação ou biossíntese semi-conservativa do DNA; (c) G_2 , período que se estende do término da síntese do DNA até o início da mitose; (d) M, que compreende todo o período cariocinético (HOWARD e colab., 1953; LAMERTON e colab., 1963).

As células do organismo animal comportam-se de três maneiras diferentes quanto ao ciclo celular. Assim, algumas têm a propriedade de se dividirem continuamente, ou seja, atravessam periodicamente o ciclo. Outras células raramente se dividem, mas podem fazê-lo quando sob estímulos apropriados. Estas últimas são células que atravessam longo período interfásico, por serem provavelmente células paralisadas em ponto G_1 (PRESCOT, 1969), recebendo, então, de alguns autores

a denominação de células G_0 (PATT e colab., 1963; BASERGA, 1968).

Alguns tecidos são caracterizados por células paralisadas no período G_1 . Tais células manifestam, via de regra, várias funções bioquímicas em consonância com seu estado de diferenciação e sô ocasionalmente se dividem por terem presumivelmente perdido esta capacidade. São de interesse particular para o estudo da cancerologia, como muito bem caracteriza COOPER (1971), pois, embora atravessando um longo período interfásico, adquirem rapidamente a capacidade de proliferação quando sob impacto de estímulos apropriados. Algumas mostram elevado índice metabólico como os hepatócitos e as células acinosas das glândulas salivares, e outras são de restrito metabolismo como os linfócitos, por exemplo, e alguns autores sugerem para estas células a denominação de células em repouso, células G_0 (PATT e colab., 1963; BASERGA, 1968), ou, ainda, células estimuláveis (FUJOKA e colabs., 1963).

O uso destas classificações é válido, pois permite a distinção de dois grupos celulares de acordo com o desenvolvimento do ciclo: as células G_0 , que normalmente não se dividem, mas o fazem quando sob estímulos apropriados; e as células G_1 , que estão normalmente se preparando para a divisão mitótica e que, por isso, atravessam periodicamente o ciclo celular (FUJOKA e colabs., 1963).

Dentre as condições bioquímicas que diferenciam estes dois tipos celulares podem estar envolvidos os próprios agentes que controlam a proliferação celular (COOPER, 1971). Vê-se, então, que os estudos das células com longo período interfásico permitem um duplo enfoque do ciclo celular. Primeiro, análise do fator ou fatores que levam as células G_0

a iniciarem o ciclo; segundo, análise dos eventos bioquímicos que preparam as células durante o período G_1 , para a fase S, na qual duplica-se todo o material genômico. É no período G_1 que a célula manifesta seu caráter fenotípico particular (MUELLER, 1971). É ainda neste período que se manifestam os processos bioquímicos preliminares à duplicação do DNA (BASERGA, 1968).

Embora os conhecimentos sobre a verdadeira natureza desses processos, isto é, de como eles atuam na cinética de conversão G_1 -S, sejam ainda incipientes (MUELLER, 1969), alguns fatores bioquímicos e biofísicos começam a ser delineados com impressionante exatidão, como: aumento da síntese do RNA e de proteínas, variação na atividade de timidina-quinase, modificações na massa seca, no conteúdo de potássio e sódio e na capacidade transcritiva da cromatina (CANTAZARO GUIMARÃES, 1974).

Como se vê, as glândulas salivares estimuladas pelo isoproterenol ou por qualquer outro meio ou droga, constituem importantes modelos de proliferação celular, no qual as células estimuláveis, células acinosas principalmente, adquirem a capacidade de iniciar o ciclo reprodutivo celular imediatamente após o estímulo, sendo, portanto, autênticas células G_0 (PATT e colab., 1963; BASERGA, 1968; TAKEDA e colabs., 1986; BASERGA, 1971).

Em suma, a proliferação celular pode ser induzida por uma substância cromatograficamente pura, em uma única dose, como o isoproterenol; pela amputação dos incisivos inferiores nos ratos, que pode provocar hipertrofia e hiperplasia das glândulas salivares.

O número de células estimuladas à proliferação

pode ser extremamente grande, sendo que o estímulo pode ser de curta duração.

Todo o referido mostra que tanto a utilização do isoproterenol para estimular a biossíntese do DNA como a amputação de incisivos inferiores em ratos, tornam estes métodos, meios para obter ensaios em que se utilizam inibidores mitóticos, principalmente aqueles que deprimem a função celular.

No sistema em apreço, a rápida atuação do estímulo permite não só uma avaliação mais criteriosa do efeito dos inibidores mitóticos, como também a oportunidade de se estudar mais a fundo os eventos bioquímicos do próprio ciclo celular.

II.4. CONTROLE DAS GLÂNDULAS SUBMANDIBULARES

A secreção das glândulas salivares está sob o controle de estímulo simpático e parassimpático. A inervação vagal submandibular e sublingual se inicia no núcleo vagal superior e prossegue, via nervo facial, à corda tímpano, daí segue pelo nervo lingual dando dois ramos: um segue até um pequeno glânglio perto da glândula submandibular, onde faz sinapse com as fibras pós-ganglionares colinérgicas, continuando até a glândula submandibular. O segundo vai ao glânglio submandibular e daí, por fibras pós-ganglionares à glândula sublingual. A inervação simpática das glândulas salivares se inicia nas raízes simpáticas C_2 a C_6 , seguindo através do gânglio estrelado, ao gânglio cervical superior, de onde se dirige com as fibras simpáticas às respectivas glândulas (GLASS, 1973).

A liberação de neurotransmissores das vesículas das terminações nervosas junto às células do parênquima, estimula-as a liberar seus grânulos de secreção e a secretar água e eletrólitos. Os eventos moleculares que ocorrem durante o processo, chamado ligação estímulo-secreção, têm sido muito estudados.

Os nervos transmissores interagem com receptores específicos localizados na membrana plasmática da célula acinosa. A norepinefrina interage tanto com receptores alfa como beta-adrenérgicos, enquanto a acetilcolina interage com receptores colinérgicos.

A secreção proteica é mediada primeiramente pelos receptores beta-adrenérgicos. A estimulação dos receptores alfa-adrenérgicos e colinérgicos provoca baixos níveis de secreção proteica, porém, estes dois receptores parecem estar envolvidos principalmente com a secreção de água e eletrólitos. Receptores para o transmissor peptídico, tipo substância P, estão também presentes nas células das glândulas salivares. A substância P estimula a secreção semelhante àquela provocada pelos agonistas alfa-adrenérgicos e colinérgicos. Polipeptídeos intestinais, vasoativos (VIP), presentes nas terminações nervosas das glândulas salivares, agiriam como indutores de secreção em algumas glândulas.

A estimulação de receptores provoca aumento de concentração intracelular de "segundos mensageiros", os quais disparam eventos adicionais que levam à resposta celular (BHASKAR, 1989).

WELLS e colabs. (1961) verificaram que 24 horas após a extirpação unilateral do gânglio cervical superior ocorre um aumento de peso das glândulas submandibulares no la

do operado, sendo que 8 dias após já quase não se verifica este aumento da glândula ipsilateral quando se estimula amputando o incisivo inferior. O aumento do peso da glândula que se segue a uma simples amputação dos incisivos, foi significativamente inibido em ratos tratados com reserpina e bretílio, drogas que interferem com o armazenamento e liberação de norepinefrina pelos nervos simpáticos.

Estes resultados levaram à hipótese de que o sistema nervoso simpático está envolvido tanto na aceleração do aumento das glândulas submandibulares que se segue à amputação dos incisivos inferiores, quanto com a manutenção do tamanho normal da glândula.

II.5. O PINDOLOL NO CONTROLE DO SISTEMA SIMPÁTICO

O pindolol é classificado como antiarrítmico do grupo II — conforme a classificação conveniente adotada e proposta (WILLIAMS e colab.; GILMAN e colab., 1990). Este grupo de fármacos, que tem em comum a capacidade de bloquear os receptores adrenérgicos do tipo beta, diferencia-se por algumas características, isto é: apresentam atividade simpaticomimética intrínseca, possuem uma ação inotrópica negativa, são cardio-seletivos e dispõem de um grau de penetração no sistema nervoso central. Estudos farmacológicos sugerem que betabloqueadores agem a nível central (nem todos) e periférico, onde ocorre o bloqueio dos receptores pré-sinápticos ou pós-sinápticos. ABLAD e colabs., citados por ZANINI e colab., 1989, sugerem como mecanismo principal: (1) a possibilidade de ação no neurônio adrenérgico periférico, onde ocorreria

bloqueio de liberação neuronal de norepinefrina pelo bloqueio no mecanismo positivo; (2) o sítio primário de ação poderia ser o sistema nervoso central através de redução do fluxo simpático para a periferia, obtida pelo bloqueio dos receptores beta-adrenérgicos pré ou pós-sinápticos; (3) ocorrência de uma redução na liberação neuronal de norepinefrina, porque a angiotensina facilita a atividade nervosa simpática, tanto no sistema nervoso central como nos nervos periféricos. Quando administrado por via oral, o pindolol é bem absorvido e atinge uma concentração máxima 1 a 3 horas após a administração. O pindolol é eliminado por metabolismo e mecanismo renal.

A meia vida dos bloqueadores beta-adrenérgicos quando eliminados por metabolismo é de 2 a 3 horas, enquanto aqueles com eliminação predominantemente renal é de 9 a 12 horas. Entre esses extremos estão os beta-bloqueadores eliminados por ambos os mecanismos. A duração do efeito anti-hipertensivo dos beta-bloqueadores é bem mais longa do que a meia vida de cada um.

Com exceção do propranolol, existe uma dose acima da qual o efeito hipotensor não é aumentado e, em alguns casos, o pindolol, por exemplo, em doses muito elevadas pode causar elevação da tensão arterial devido a atividade agonística que não só o pindolol tem, mas a maioria dos beta-bloqueadores possui, e se torna pronunciada.

Com os beta-bloqueadores adrenérgicos a frequência e o débito cardíaco são diminuídos, e daí pode-se ter como critério para a escolha da dose a ser injetada, aquela que reduz a frequência cardíaca.

II.6. A RESERPINA NO CONTROLE DO SISTEMA SIMPÁTICO

A reserpina é um alcalóide extraído da planta *Rauwolfia*. Inicialmente foi introduzida como tranquilizante, posteriormente passou a ser indicada na hipertensão leve e moderada.

Seu mecanismo de ação consiste basicamente em bloquear a membrana das vesículas contidas nos axônios adrenérgicos. Semelhantemente ao que ocorre com a guanetidina, a dopamina não pode mais penetrar na vesícula para término da síntese de norepinefrina. Além desta ação, a reserpina penetra na vesícula competindo com a norepinefrina na sua estocagem, deslocando-a para o citoplasma. No citoplasma, parte desta norepinefrina deslocada é metabolizada pela MAO. De fato, no início da administração de reserpina, os metabólitos desaminados da norepinefrina estão aumentados. Como a reserpina não impede o processo de exocitose, a atividade simpática basal continua liberando-o enquanto houver estoque. A síntese, agora inibida, não conseguirá repor o mediador, sobrevivendo a depleção.

Os efeitos clínicos da reserpina surgem após um tempo de latência, dependendo da via de administração. Por via oral, leva 5 a 7 ou mais dias nas doses usuais, enquanto por via muscular, os efeitos surgem após poucas horas. Não está esclarecida a razão pela qual há uma diferença tão grande no tempo de instalação do efeito, dependente da via de administração.

Admite-se que após 36 horas de bloqueio da mem

brana vesicular pela reserpina, este passará a ser irreversível. Para que haja nova síntese é necessária a neoformação de vesículas. A duração dos efeitos por aproximadamente 20 dias após a suspensão da administração da droga, deve-se provavelmente a este fato.

A reserpina consegue também depletar a suprarrenal, embora não se tenha conseguido depleção total como pode ocorrer em outros tecidos. Além das catecolaminas a reserpina depleta os tecidos de serotonina.

Tanto a depleção de catecolaminas como da serotonina se dá em nível central. Acredita-se que seu efeito tranquilizante se deva a esta ação central.

A reserpina apresenta os efeitos comuns ao grupo de bloqueadores de neurônios adrenérgicos. Com efeito próprio, induz sedação e discreta depressão psíquica.

Há referências de que a incidência de câncer da mama está aumentando nos pacientes que fazem uso crônico da reserpina.

II.7. O METOTREXATO: EFEITO SOBRE O PESO DAS GLÂNDULAS SUBMANDIBULARES ESTIMULADAS

O metotrexato (ametofterina) é uma droga usada em quimioterapia do câncer, e exerce profundos efeitos, tanto em células normais como anormais de homens e animais (CHABNER, 1982; MC BRIDE e colab., 1988; MC BRIDE e colab., 1987).

Acredita-se que o metotrexato se liga à enzima dihidrofolato-redutase, reduzindo, assim, as coenzimas folicas, necessárias para a síntese de ácido nucleico, reduzindo

também a amilase e RNA das glândulas parótidas e submandibulares de ratos (CHABNER, 1982; MC BRIDE e colab., 1988).

O mecanismo de ação do metotrexato é o exercido na fase S do ciclo celular, inibindo a síntese do DNA, sendo, por isso, altamente efetivo em tecidos de replicação rápida.

O metotrexato, como outros agentes citotóxicos, pode ter efeitos colaterais indesejáveis, principalmente na medula óssea e mucosa oral (WOLF e colabs., 1989).

Já dissemos que as células acinares e as dos ductos das glândulas salivares não proliferam rapidamente (WOLF e colabs., 1989; YAGIL e colabs., 1985) e devido a isso, as drogas antimitóticas não interferem de maneira satisfatória, a menos que aquelas sejam estimuladas.

Como já vimos também, é possível alterar esta situação, seja administrando isoproterenol nos ratos ou procedendo a amputação dos incisivos inferiores, para provocar hiperplasia e hipertrofia das glândulas submandibulares (TAKEDA e colabs., 1986).

A administração por 10 dias de isoproterenol ou isoproterenol + metotrexato em dois grupos de ratos, provocou alterações significativas, sendo que no primeiro houve um aumento de peso das glândulas submandibulares e do DNA; e no segundo grupo não houve aumento de peso glandular e da quantidade de DNA, isto em se comparando com os animais controle (WELLS e colab., 1964).

TAKEDA e colabs., 1986, conforme já nos referimos anteriormente, trabalhando em ratos, cujos incisivos foram amputados uma só vez, encontraram aumento de mitoses das células acinares e, também, aumento de peso de glândulas sub-

mandibulares. Surgiu, então, a idéia de utilizar as glândulas submandibulares estimuladas como modelo de proliferação celular e verificar a ação do metotrexato sobre elas. A amputação dos incisivos inferiores era efetuada uma só vez a cada dois dias, em dose que comprovadamente produzia inibição da síntese do DNA (TAKEDA e colabs., 1986; MAKULU e colab., 1972).

LIMA JUNIOR, 1990, estudou a ação do metotrexato nas doses de 0,75 mg/kg e 1,5 mg/kg sobre pesos relativos de glândulas submandibulares de ratos machos, estimuladas pela amputação dos incisivos inferiores. Procedia-se a amputação dos incisivos inferiores em ratos castrados e não castrados. Esses animais recebiam injeções de metotrexato, via intraperitoneal, uma vez a cada dois dias, e no sétimo dia as glândulas eram removidas e pesadas. No grupo de ratos não castrados, que foram submetidos à amputação dos incisivos inferiores, nos quais se administrou metotrexato, verificou-se aumento de peso relativo das glândulas submandibulares, quando comparadas ao grupo controle, isto é, ratos castrados submetidos somente à amputação dos incisivos inferiores.

II.8. CICLOFOSFAMIDA: GENERALIDADES, ATIVIDADE ANTIPROLIFERATIVA

Algumas drogas podem agir durante vários ou todos os estágios do ciclo celular. Embora inespecíficos do ciclo celular, seus efeitos citotóxicos podem ainda ser dependentes de proliferação.

A ciclofosfamida é um agente alquilante e, tal como estes, liberam, em seu metabolismo, produtos que têm a

capacidade de impedir a proliferação celular.

Esses produtos podem se fixar nos dois radicais livres dos ácidos aminados e de diversas enzimas, bloqueando, portanto, a cadeia metabólica da síntese dos ácidos nucleicos e proteínas. A molécula da ciclofosfamida deve ser ativada por enzimas hepáticas, razão pela qual seus efeitos podem ser influenciados por drogas que tenham interferência sobre essas enzimas. Assim, os barbitúricos podem potencializar sua ação, enquanto os corticóides e hormônios sexuais costumam diminuí-la.

A ciclofosfamida é bem absorvida por via oral. Como foi mencionado, ela é ativada por mecanismo hepático, pelo sistema de oxidase de função mista do retículo endoplasmático liso, formando vários metabólitos tóxicos (GILMAN e cols., 1990). O sistema hepático de oxidase de função mista do citocromo P-450 converte a ciclofosfamida em 4-hidroxíciclofosfamida, que está em equilíbrio dinâmico com o tautômero acíclico, a aldofosfamida. Estes compostos podem ser ainda oxidados pelo aldeído oxidase hepática e, talvez, outras enzimas, liberando os metabólitos carboxifosfamida e 4-cetociclofosfamida, sendo que nenhum deles possui atividade importante.

Parece que a lesão hepática é minimizada por essas reações secundárias, enquanto quantidades significativas de metabólitos ativados, tais como a aldofosfamida, são transportadas para locais-alvo pelo sistema circulatório. Propôs-se que nas células que são suscetíveis à citólise, a aldofosfamida é clivada por uma reação de beta-eliminação, gerando quantidade estequiométrica de mostarda de fosforamida e acroleína, ambas altamente citotóxicas. Além disso, mostardas

nitrogenadas foram identificadas no plasma de pacientes tratados com ciclofosfamida. Não se sabe qual dos metabólitos ativos (por exemplo, mostarda de fosforamida, 4-hidroxíciclofosfamida ou mostarda nitrogenada) desempenha o principal papel em ações terapêuticas e tóxicas da ciclofosfamida.

A ciclofosfamida, que é, do ponto de vista biológico, relativamente inativa, é eliminada do corpo muito lentamente. Os metabólitos ativados (por exemplo, aldofosfamida) alquilam os alvos nas células suscetíveis, através de uma reação tipo "tudo ou nada", ou são desintoxicados pela formação de metabólitos inativos, eliminados rapidamente pelos rins. Os efeitos citotóxicos estão relacionados à quantidade total e não à velocidade de produção de metabólitos ativados (GILMAN e colabs., 1990). Assim, parece provável que as ações biológicas da ciclofosfamida podem ser afetadas mais drasticamente pelas alterações nas taxas de desintoxicação e eliminação, do que pelas alterações na taxa de produção de metabólitos ativados (GILMAN e colabs., 1990).

A recuperação urinária e fecal de ciclofosfamida inalterada é mínima após administração intravenosa. As concentrações plasmáticas máximas são obtidas uma hora após a administração oral e uma significativa quantidade de droga inalterada é encontrada nas fezes, quando se emprega esta via.

A meia vida da ciclofosfamida no plasma é cerca de sete horas (GILMAN e colabs., 1990).

II.9. REPOSIÇÃO DA TESTOSTERONA PELO DURATESTON 250^R

O Durateston 250^R é um preparado androgênico a dequado para reposição de testosterona devido ao seu efeito prolongado, permitindo a administração de menor número de injeções. Este preparado contém quatro ésteres diferentes do hormônio natural, a testosterona: propionato de testosterona, fenilpropionato de testosterona, isocaproato de testosterona, caproato de testosterona.

O propionato de testosterona tem um rápido início e uma curta duração de ação. O fenilpropionato, de ação mais lenta, tem, porém, uma duração mais prolongada. Devido às propriedades dos componentes do Durateston 250^R, a ação deste inicia logo após a injeção e é mantida por três semanas.

III. PROPOSIÇÃO

III. PROPOSIÇÃO

O presente trabalho tem por objetivo verificar se ocorrem alterações de peso das glândulas submandibulares de ratos machos castrados, nos quais se amputaram os incisivos inferiores, com os seguintes objetivos:

1. Pesquisar o peso de glândulas submandibulares de ratos castrados, nos quais se efetuaram amputações de incisivos inferiores e se administrou Durateston 250^R para verificar se ocorrem diferenças entre grupos.
2. Fazer verificação análoga, administrando ciclofosfamida ou metotrexato em animais machos castrados, que tiveram os incisivos inferiores amputados.
3. Verificar as alterações ou não de peso glandular relativo em ratos, nos quais, além da administração de ciclofosfamida ou metotrexato, administrou-se pindolol ou reserpina, com intenção de bloqueio do simpático.
4. Administrar reserpina ou pindolol em ratos machos castrados para verificar se mesmo assim ocorria aumento das glândulas submandibulares, após a amputação dos incisivos inferiores.

IV. MATERIAL E MÉTODOS

IV. MATERIAL E MÉTODOS

1. ANIMAIS UTILIZADOS

Para a realização do presente trabalho foram utilizados ratos machos (*Rattus norvegicus albinus*, Wistar), que foram castrados aos 30 dias de idade. Estes animais foram mantidos antes e durante a fase experimental com ração granulada, marca Ceres, e água "ad libitum".

Para a formação de grupos experimentais, os ratos foram pesados, marcados e sorteados. Foram utilizados 200 ratos, procedentes do Biotério Central da Universidade Estadual de Campinas.

2. PREPARAÇÃO DOS ANIMAIS

2.1. ANESTESIA

Para a marcação dos animais e amputação dos incisivos inferiores, os ratos foram anestesiados com éter sulfúrico, por inalação.

2.2. CASTRAÇÃO DOS RATOS

Os ratos utilizados eram castrados depois de 30 dias de idade, sob anestesia com hidrato de cloral a 10% — dose de 0,01 g/kg — i.p.. Para efetuar a castração, depilava-se a região do escroto, em ambos os lados, e se praticavam duas pequenas incisões (1 cm) verticais para expor os testícuu

los. Exteriorizados os testículos, ligavam-se em massa os pedículos e se seccionava imediatamente por baixo da ligadura. Uma vez realizada a extirpação, suturavam-se as feridas, dando um par de pontos em cada lado. Os animais, assim castrados, eram utilizados depois de decorridos um mês de cirurgia.

2.3. AMPUTAÇÃO DOS INCISIVOS INFERIORES

No início do experimento fazia-se a amputação dos dois incisivos inferiores, utilizando uma pinça goiva. As amputações eram efetuadas ao nível da margem gengival.

2.4. REMOÇÃO DAS GLÂNDULAS SUBMANDIBULARES

No sétimo dia após a amputação dos incisivos inferiores, as glândulas submandibulares eram expostas, separadas das glândulas sublinguais, removidas e imediatamente pesadas. Em seguida, os animais eram sacrificados com éter sulfúrico.

2.5. AVALIAÇÃO PONDERAL

Os pesos dos ratos eram determinados em balança de 0,1g de sensibilidade, e os pesos úmidos das glândulas submandibulares em balança analítica de 0,01 mg de sensibilidade.

O peso glandular foi relacionado ao do animal, obtendo-se o peso relativo das glândulas submandibulares aplicando-se a seguinte fórmula:

$$\text{Peso relativo das glândulas submandibulares \%} = \frac{\text{peso das glândulas (g)} \times 100}{\text{peso dos ratos (g)}}$$

Obteve-se, dessa maneira, pesos relativos das glândulas submandibulares.

3. DROGAS, DOSES E VIAS DE ADMINISTRAÇÃO

3.1. O metotrexato (ametofterina, U.S.P.), do Laboratório Lederle, foi escolhido. O sal era dissolvido em água destilada, obtendo as soluções nas concentrações a serem injetadas.

A droga era utilizada nas doses de 0,75 mg/kg e injetada por via intraperitonal, uma vez a cada dois dias, iniciando com amputação dos incisivos inferiores, totalizando duas injeções durante a realização dos experimentos.

3.2. A ciclofosfamida, do Laboratório Abbot, foi administrada aos ratos uma semana antes da amputação dos incisivos inferiores, e no dia em que se procediam as amputações dos incisivos inferiores. A droga era utilizada nas doses de 25 mg/kg e injetada via intraperitonal.

3.3. O Durateston 250^R, do Laboratório Organon, devido à combinação de ésteres de testosterona inicia sua ação logo após a injeção, que é mantida por aproximadamente 3 semanas, e, por isso, o referido medicamento era injetado intramuscularmente, uma semana antes do início das amputações dos incisivos inferiores, em dose que equivalia a 30 mg/kg de propionato de testosterona. Também se injetava em um grupo de ani-

mais o Durateston 250^R na dose de 0,1 ml/kg, via intraperitoneal.

3.4. O pindolol, marca Sigma, era injetado em doses diárias após a amputação dos incisivos inferiores até o fim do experimento. A dose injetada era de 0,25 mg/kg, administrada via i.p..

3.5. A reserpina, marca Merck, era injetada em doses diárias após o início das experiências, também até o fim do experimento. A dose injetada era 0,1 mg/kg, administrada via i.p..

3.6. Éter sulfúrico comercial, marca Colombina, foi utilizado para a anestesia dos animais, por inalação.

3.7. O hidrato de cloral, de marca Merck, a 10%, era administrado em dose de 0,01 g/kg, via i.p..

V. SISTEMATIZAÇÃO DA PESQUISA

V. SISTEMATIZAÇÃO DA PESQUISA

Foi estudada a influência da ciclofosfamida e do metotrexato no aumento de peso das glândulas submandibulares de ratos castrados, cujo simpático foi bloqueado farmacologicamente com o pindolol ou reserpina.

Sabe-se que a amputação dos incisivos inferiores em ratos provoca aumento das glândulas submandibulares, havendo aumento das mitoses, hipertrofia e hiperplasia até o sétimo dia, permitindo a observação e estudo destes parâmetros em experimentos diversos.

Conforme já nos referimos, em ratos castrados, submetidos à amputação dos incisivos inferiores e à administração de metotrexato, observamos aumento de peso das glândulas, quando se comparava com o grupo controle de ratos castrados, também submetidos à amputação dos incisivos inferiores. Assim, este trabalho consistiu em avaliar a ação do metotrexato e da ciclofosfamida sobre glândulas submandibulares, estimuladas por amputação dos incisivos inferiores, em ratos castrados, escolhendo para avaliação a determinação do peso relativo das glândulas submandibulares. No primeiro dia amputava-se os incisivos inferiores num grupo de ratos, no segundo grupo, além da amputação dos dentes referidos, injetava-se ciclofosfamida ou metotrexato, via intraperitonal, e, num terceiro grupo, além da administração da ciclofosfamida ou do metotrexato, administrava-se, diariamente, pindolol ou reserpina.

O metotrexato e a ciclofosfamida eram administrados uma vez a cada dois dias. No sétimo dia após a primei-

ra injeção, isto é, à amputação dos incisivos inferiores, removia-se as glândulas submandibulares, que eram então pesadas.

1. DESENVOLVIMENTO EXPERIMENTAL

Os animais foram divididos nos seguintes grupos experimentais:

GRUPO A

- A1 - Animais controle castrados
- A2 - Animais castrados submetidos à amputação
- A3 - Animais castrados submetidos à amputação dos incisivos inferiores + administração de metotrexato (0,75 mg/kg), via i.p.

GRUPO B

- B1 - Animais controle castrados
- B2 - Animais castrados submetidos à amputação dos incisivos inferiores + administração de Durateston 250^R na dose de 0,1 ml/kg, via i.m.
- B3 - Animais castrados submetidos à amputação dos incisivos inferiores + administração de Durateston 250^R na dose de 0,1 ml/kg, via i.p.

GRUPO C

- C1 - Animais controle castrados
- C2 - Animais castrados + administração de reserpina na dose de 0,1 mg/kg, via i.p.

- C3 - Animais castrados com incisivos inferiores amputados + administração de reserpina na dose de 0,1 mg/kg, via i.p.

GRUPO D

- D1 - Animais controle castrados submetidos à amputação dos incisivos inferiores
- D2 - Animais castrados com incisivos inferiores amputados + administração de pindolol na dose de 0,25 mg/kg, via i.p.
- D3 - Animais castrados com incisivos inferiores amputados + administração de reserpina na dose de 0,1 mg/kg, via i.p.

GRUPO E

- E1 - Animais controle castrados
- E2 - Animais castrados submetidos à amputação dos incisivos inferiores + administração de reserpina na dose de 0,1 mg/kg, via i.p.
- E3 - Animais castrados submetidos à amputação dos incisivos inferiores + administração de reserpina na dose de 0,1 mg/kg, via i.p., + injeções de metotrexato, 0,75 mg/kg, i.p.
- E4 - Animais castrados submetidos à amputação dos incisivos inferiores + administração de reserpina, dose 0,1 mg/kg, via i.p., + ciclofosfamida, 25 mg/kg, i.p.
- E5 - Animais castrados submetidos à amputação dos incisivos inferiores + administração de reserpina, dose 0,1 mg/kg, via i.p., + ciclofosfamida, dose de 50 mg/kg, via i.p.

GRUPO F

- F1 - Animais controle castrados submetidos à amputação dos incisivos inferiores + administração de pindolol, dose de 0,25 mg/kg, via i.p.
- F2 - Animais castrados submetidos à amputação dos incisivos inferiores + administração de pindolol, dose de 0,25 mg/kg, via i.p., + ciclofosfamida, dose de 25 mg/kg, via i.p.

2. AVALIAÇÃO ESTATÍSTICA

Os dados obtidos foram submetidos à análise estatística. Utilizou-se uma análise de variância com um critério de classificação e o teste de Tukey para comparação de médias ao nível de 10% de significância.

Foram anotados os pesos dos ratos e o peso absoluto e relativo das glândulas submandibulares. Como havia variação de peso dos ratos, fez-se a análise de relação entre os pesos das glândulas e o peso do animal.

VI. RESULTADOS.

VI. RESULTADOS

1. RESULTADOS DO GRUPO A

TABELA I - GRUPO A

Peso dos ratos castrados e respectivas glândulas submandibulares.

1. grupo de animais controle;
2. grupo de ratos castrados com incisivos inferiores amputados;
3. grupo de animais castrados com incisivos inferiores amputados + administração de metotrexato 0,75 mg/kg, i.p..

GRUPO A1 CONTROLE		GRUPO A2 ANIMAIS CASTRADOS + AMPUTAÇÃO		GRUPO A3 ANIMAIS CASTRADOS + AMPUTAÇÃO + METOTREXATO 0,75 mg i.p.	
peso dos ratos (g)	peso das gl. submandibul. direita e es- querda (g)	peso dos ratos (g)	peso das gl. submandibul. direita e es- querda (g)	peso dos ratos (g)	peso das gl. submandibul. direita e es- querda (g)
320	0,3978	280	0,4320	240	0,6749
315	0,4628	317	0,3956	245	0,3994
398	0,4772	302	0,3773	266	0,6885
293	0,3155	256	0,3938	285	0,6661
341	0,4124	338	0,4986	246	0,4186
350	0,3884	252	0,4356	287	0,3931
337	0,4091	293	0,4532	284	0,4704
308	0,3537	324	0,4311	238	0,4166
340	0,4207	268	0,4552	269	0,3734
266	0,3785	—	—	321	0,4292
—	—	—	—	284	0,4305
médias:					
326,0	0,4016	292,4	0,4307	269,4	0,4873
Peso Glan- dular — Relativo	0,1229	—	0,1473	—	0,1808

TABELA I-A - GRUPO A

ANÁLISE DE VARIÂNCIA DOS VALORES CONSTANTES NA TABELA I

Em relação ao peso absoluto das glândulas submandibulares (g):

CAUSAS DE VARIÂÇÕES	GRAUS DE LIBERDADE	SOMA DOS QUADRADOS	QUADRADOS MÉDIOS	F
GRUPO	2	0,1345	0,06725	22,279
RESTÍDUO	27	0,0815	0,00301	
TOTAL	29	0,2160		

* nível de significância de 10%

Os dados da tabela I foram submetidos à análise de variância e ao teste de Tukey a 10% de significância. O valor de "F" é significativo. O teste de Tukey tem d.m.s. = 0,05409, para comparar A1 e A2; d.m.s. = 0,0522, para comparar A1 e A3; d.m.s. = 0,0537, para comparar A2 e A3.

As médias dos grupos são:

A1 X1 = 0,4016

A2 X2 = 0,4307

A3 X3 = 0,4873

PARES DE MÉDIAS	DIFERENÇAS ABSOLUTAS	DIFERENÇA. MÍNIMA SIGNIFICATIVA (dms)
A1 e A2	0,0291	0,05409
A1 e A3	0,0857	0,0522
A2 e A3	0,0566	0,0537

Verifica-se que A3 é estatisticamente maior que A1 e A2, o que confirma os resultados da tabela I. Entre os grupos A1 e A2, a diferença não foi significativa.

TABELA I-B - GRUPO A

ANÁLISE DE VARIÂNCIA DOS VALORES CONSTANTES NA TABELA I

Em relação ao peso relativo das glândulas submandibulares (g):

CAUSAS DE VARIÂÇÕES	GRAUS DE LIBERDADE	SOMA DOS QUADRADOS	QUADRADOS MÉDIOS	F
GRUPO	2	0,025	0,0125	13,88
RESTIDUO	27	0,0243	0,0009	
TOTAL	29	0,0493		

* nível de significância de 10%

Os dados da tabela I foram submetidos à análise de variância e ao teste de Tukey a 10% de significância. O valor de "F" é significativo. O teste de Tukey tem d.m.s. = 0,02958, para comparar A1 e A2; d.m.s. = 0,02813, para comparar A1 e A3; d.m.s. = 0,028937, para comparar A2 e A3.

As médias dos grupos são:

A1 X1 = 0,1229

A2 X2 = 0,1473

A3 X3 = 0,1808

PARES DE MÉDIAS	DIFERENÇAS ABSOLUTAS	DIFERENÇA. MÍNIMA SIGNIFICATIVA (dms)
A1 e A2	0,0244	0,02958
A1 e A3	0,0579	0,02813
A2 e A3	0,0355	0,02894

Verifica-se que A3 é estatisticamente maior que A1 e A2, o que confirma os resultados da tabela I. Entre os grupos A1 e A2, a diferença não foi significativa.

TABELA I-C - GRUPO A

ANÁLISE DE VARIÂNCIA DOS VALORES CONSTANTES NA TABELA I

Em relação ao peso absoluto dos ratos (g):

CAUSAS DE VARIÂÇÕES	GRAUS DE LIBERDADE	SOMA DOS QUADRADOS	QUADRADOS MÉDIOS	F
GRUPO	2	15574,367	7787,1835	16,3932
RESÍDUO	27	12825,633	475,0234	
TOTAL	29	28400		

* nível de significância de 10%

Os dados da tabela I foram submetidos à análise de variância e ao teste de Tukey a 10% de significância. O valor de "F" é significativo. O teste de Tukey tem d.m.s. = 21,59, para comparar A1 e A2; d.m.s. = 20,43, para comparar A1 e A3; d.m.s. = 22,02, para comparar A2 e A3.

As médias dos grupos são:

A1 X1 = 326,800

A2 X2 = 292,400

A3 X3 = 269,500

PAIRES DE MÉDIAS	DIFERENÇAS ABSOLUTAS	DIFERENÇA. MÍNIMA SIGNIFICATIVA (dms)
A1 e A2	34,4	21,59
A1 e A3	57,3	20,43
A2 e A3	22,9	21,02

Verifica-se que A1 e A3 são estatisticamente maiores que A1 e A2 e também maiores que A2 e A3. Portanto, A1 é maior que A2 e maior que A3, ou seja, $A1 > A2$ e $A3$, e também $A3 > A2$.

2. RESULTADOS DO GRUPO B

TABELA 11 - GRUPO B

Peso dos ratos castrados e respectivas glândulas submandibulares.

1. grupo de animais controle;
2. grupo de ratos castrados com incisivos inferiores amputados, que foram injetados com Durateston 250^R 0,1 ml/kg, via i.m.;
3. grupo de animais castrados com incisivos inferiores amputados, injetados com Durateston 250^R 0,1 ml/kg, via i.p..

GRUPO B1 CONTROLE		GRUPO B2 ANIMAIS CASTRADOS + INJEÇÃO DE DURATESTON 250 0,1 ml/kg i.m. + AMPUTAÇÃO DOS INCISIVOS INFERIORES		GRUPO B3 ANIMAIS CASTRADOS + INJEÇÃO DE DURATESTON 250 0,1 ml/kg i.p. + AMPUTAÇÃO DOS INCISIVOS INFERIORES	
peso dos ratos (g)	peso das gl. submandibul. direita e es- querda (g)	peso dos ratos (g)	peso das gl. submandibul. direita e es- querda (g)	peso dos ratos (g)	peso das gl. submandibul. direita e es- querda (g)
257	0,2665	244	0,1896	289	0,1576
265	0,2930	265	0,1344	287	0,1370
253	0,2935	247	0,1474	252	0,1445
278	0,2661	205	0,2401	267	0,1517
270	0,3290	252	0,1594	252	0,1365
350	0,3325	268	0,1676	288	0,1136
270	0,3062	229	0,1936	255	0,1498
médias: 263,3	0,2901	244,3	0,1760	270,0	0,1415
Peso Glandular Relativo	0,1132	—	0,0721	—	0,0524

TABELA II-A - GRUPO B

ANÁLISE DE VARIÂNCIA DOS VALORES CONSTANTES NA TABELA II

Em relação ao peso absoluto das glândulas submandibulares (g):

CAUSAS DE VARIÂÇÕES	GRAUS DE LIBERDADE	SOMA DOS QUADRADOS	QUADRADOS MÉDIOS	F
GRUPO	2	0,1065	0,05325	75,71
RESÍDUO	18	0,0132	0,0007	
TOTAL	20	0,1197		

* nível de significância de 10%

Os dados da tabela II foram submetidos à análise de variância e ao teste de Tukey a 10% de significância. O valor de "F" é significativo. O teste de Tukey tem d.m.s. = 0,0219.

As médias dos grupos são:

B1 X1 = 0,2981

B2 X2 = 0,1760

B3 X3 = 0,1415

PARES DE MÉDIAS	DIFERENÇAS ABSOLUTAS	DIFERENÇA. MÍNIMA SIGNIFICATIVA (dms)
B1 e B2	0,12	0,0219
B1 e B3	0,1566	0,0219
B2 e B3	0,0345	0,0219

Verifica-se que B1 é estatisticamente maior que B2 e B3, o que confirma os resultados da tabela II. Entre os grupos B2 e B3, a diferença também foi significativa. Portanto, $B1 > B2$ e $B3$ e $B2 > B3$.

TABELA II-B - GRUPO B

ANÁLISE DE VARIÂNCIA DOS VALORES CONSTANTES NA TABELA II

Em relação ao peso relativo das glândulas submandibulares (g):

CAUSAS DE VARIÂÇÕES	GRAUS DE LIBERDADE	SOMA DOS QUADRADOS	QUADRADOS MÉDIOS	F
GRUPO	2	0,02135	0,0106	62,35
RESTÍDUO	18	0,00304	0,00017	
TOTAL	20	0,02439		

* nível de significância de 10%

Os dados da tabela II foram submetidos à análise de variância e ao teste de Tukey a 10% de significância. O valor de "F" é significativo. O teste de Tukey tem d.m.s. = 0,0285.

As médias dos grupos são:

B1 X1 = 0,1132

B2 X2 = 0,0721

B3 X3 = 0,0524

PARES DE MÉDIAS	DIFERENÇAS ABSOLUTAS	DIFERENÇA. MÍNIMA SIGNIFICATIVA (dms)
B1 e B2	0,0411	0,0285
B1 e B3	0,0608	0,0285
B2 e B3	0,0197	0,0285

Verifica-se que B1 é estatisticamente maior que B2 e B3, o que confirma os resultados da tabela II. Entre os grupos B2 e B3, a diferença não foi significativa. Portanto, B1 > B2 e B3.

TABELA II-C - GRUPO B

ANÁLISE DE VARIÂNCIA DOS VALORES CONSTANTES NA TABELA II

Em relação ao peso absoluto dos ratos (g):

CAUSAS DE VARIÂÇÕES	GRAUS DE LIBERDADE	SOMA DOS QUADRADOS	QUADRADOS MÉDIOS	F
GRUPO	2	2490,3810	1245,1905	4,2108
RESÍDUO	18	5322,8571	295,7143	
TOTAL	20	7813,2381		

* nível de significância de 10%

Os dados da tabela II foram submetidos à análise de variância e ao teste de Tukey a 10% de significância. O valor de "F" é significativo. O teste de Tukey tem d.m.s. = 14,247.

As médias dos grupos são:

B1 X1 = 363,2857

B2 X2 = 244,3

B3 X3 = 270,000

PARES DE MÉDIAS	DIFERENÇAS ABSOLUTAS	DIFERENÇA. MÍNIMA SIGNIFICATIVA (dms)
B1 e B2	19	14,247
B1 e B3	6,72	14,247
B2 e B3	26	14,247

Verifica-se que B3 é estatisticamente maior que B2, e não foi acusada significância entre B3 e B1. Portanto, B1 > B2 e B2 > B3.

3. RESULTADOS DO GRUPO C

TABELA III - GRUPO C

Peso dos ratos castrados e respectivas glândulas submandibulares.

1. grupo de animais castrados;
2. grupo de ratos castrados e injetados com reserpina 0,1 mg/kg, i.p.;
3. grupo de animais castrados com incisivos inferiores amputados e injetados com reserpina 0,1 mg/kg, i.p..

GRUPO C1 CONTROLE		GRUPO C2 INJETADOS COM RESERPINA 0,1 mg/kg i.p.		GRUPO C3 INJETADOS COM RESERPINA 0,1 mg/kg i.p. E SUBMETIDOS A AMPUTAÇÕES DOS INCISIVOS INFERIORES	
peso dos ratos (g)	peso das gl. submandibul. direita e es- querda (g)	peso dos ratos (g)	peso das gl. submandibul. direita e es- querda (g)	peso dos ratos (g)	peso das gl. submandibul. direita e es- querda (g)
278	0,2536	245	0,2940	228	0,3994
254	0,3815	205	0,2902	239	0,3856
212	0,3314	212	0,2039	257	0,3201
244	0,3847	256	0,3055	250	0,3124
203	0,2556	274	0,3401	252	0,2870
274	0,3850	198	0,2223	248	0,3840
207	0,3169	250	0,3403	212	0,3443
211	0,2920	262	0,3023	210	0,3274
médias: 235,4	0,3251	237,3	0,2873	237	0,3445
Peso Glandular Relativo	0,1381	—	0,1211	—	0,1454

TABELA III-A - GRUPO C

ANÁLISE DE VARIÂNCIA DOS VALORES CONSTANTES NA TABELA III

Em relação ao peso absoluto das glândulas submandibulares (g):

CAUSAS DE VARIÂÇÕES	GRAUS DE LIBERDADE	SOMA DOS QUADRADOS	QUADRADOS MÉDIOS	F
GRUPO	2	0,0135	0,0068	2,840
RESTDUO	21	0,0500	0,0024	
TOTAL	23	0,0635		

* nível de significância de 10%

Os dados da tabela III foram submetidos à análise de variância e ao teste de Tukey a 10% de significância. O valor de "F" é significativo. O teste de Tukey tem d.m.s. = 0,0375.

As médias dos grupos são:

C1 X1 = 0,3251

C2 X2 = 0,2873

C3 X3 = 0,3445

PARES DE MÉDIAS	DIFERENÇAS ABSOLUTAS	DIFERENÇA. MÍNIMA SIGNIFICATIVA (dms)
C1 e C2	0,0378	0,0375
C1 e C3	0,0194	0,0375
C2 e C3	0,0567	0,0375

Verifica-se que C3 é estatisticamente maior que C1, o que confirma os resultados da tabela III. Entre os grupos C1 e C3, a diferença não foi significativa. Portanto, C3 > C2 e C1 > C2.

TABELA III-B - GRUPO C

ANÁLISE DE VARIÂNCIA DOS VALORES CONSTANTES NA TABELA III

Em relação ao peso relativo das glândulas submandibulares (g):

CAUSAS DE VARIAÇÕES	GRAUS DE LIBERDADE	SOMA DOS QUADRADOS	QUADRADOS MÉDIOS	F
GRUPO	2	0,0028	0,0014	3,5294
RESTÍDUO	21	0,0083	0,0004	
TOTAL	23	0,0111		

* nível de significância de 10%

Os dados da tabela III foram submetidos à análise de variância e ao teste de Tukey a 10% de significância. O valor de "F" é significativo. O teste de Tukey tem d.m.s. = 0,01532.

As médias dos grupos são:

C1 X1 = 0,1381

C2 X2 = 0,1211

C3 X3 = 0,1454

PARES DE MÉDIAS	DIFERENÇAS ABSOLUTAS	DIFERENÇA. MÍNIMA SIGNIFICATIVA (dms)
C1 e C2	0,017	0,01532
C1 e C3	0,0073	0,01532
C2 e C3	0,0243	0,01532

Verifica-se que C3 é estatisticamente maior que C2, o que confirma os resultados da tabela III. Entre os grupos C1 e C3, a diferença não foi significativa. Portanto, $C3 > C2$ e $C1 > C2$.

TABELA III-C - GRUPO C

ANÁLISE DE VARIÂNCIA DOS VALORES CONSTANTES NA TABELA III

Em relação ao peso absoluto dos ratos (g):

CAUSAS DE VARIÂÇÕES	GRAUS DE LIBERDADE	SOMA DOS QUADRADOS	QUADRADOS MÉDIOS	F
GRUPO	2	347,6	173,8	0,255
RESÍDUO	21	1461,90	69,61	
TOTAL	23	1808,90		

* nível de significância de 10%

Os dados da tabela III foram submetidos à análise de variância e ao teste de Tukey a 10% de significância. O valor de "F" não é significativo. Portanto, não houve diferenças estatísticas entre os grupos.

As médias dos grupos são:

C1 X1 = 235,3750

C2 X2 = 237,2500

C3 X3 = 237,0000

Não se conseguiu notar diferenças, estatisticamente, entre os grupos.

4. RESULTADOS DO GRUPO D

TABELA IV - GRUPO D

Peso dos ratos castrados e respectivas glândulas submandibulares.

1. grupo de animais controle, que tiveram os incisivos inferiores amputados;
2. grupo de animais que foram tratados pelo pindolol 0,25 mg/kg, i.p., e que tiveram os incisivos inferiores amputados;
3. grupo de animais castrados com incisivos inferiores amputados e tratados com reserpina 0,1 mg/kg, i.p..

GRUPO D1 SUBMETIDOS A AMPUTAÇÕES DOS INCISIVOS INFERIORES		GRUPO D2 INJETADOS COM PINDOLOL 0,25 mg/kg i.p. + AMPUTAÇÕES DOS INCISIVOS INFERIORES		GRUPO D3 INJETADOS COM RESERPINA 0,1 mg/kg i.p. E SUBMETIDOS A AMPUTAÇÕES DOS INCISIVOS INFERIORES	
peso dos ratos (g)	peso das gl. submandibul. direita e es- querda (g)	peso dos ratos (g)	peso das gl. submandibul. direita e es- querda (g)	peso dos ratos (g)	peso das gl. submandibul. direita e es- querda (g)
284	0,1764	250	0,1143	170	0,1756
248	0,1821	263	0,2464	169	0,2022
216	0,2462	259	0,2129	262	0,2055
263	0,2185	280	0,2565	247	0,1548
268	0,1536	259	0,1749	259	0,1431
212	0,1966	287	0,1923	186	0,2069
228	0,1753	258	0,1419	202	0,1958
188	0,2170	254	0,1758	229	0,2063
245	0,1544	177	0,2037	262	0,2337
222	0,2883	266	0,2242	178	0,1400
médias: 237,4	0,2000	255,3	0,1943	216,4	0,1864
Peso Glandular Relativo	0,0846	—	0,0761	—	0,0861

TABELA IV-A - GRUPO D

ANÁLISE DE VARIÂNCIA DOS VALORES CONSTANTES NA TABELA IV

Em relação ao peso absoluto das glândulas submandibulares (g):

CAUSAS DE VARIÂÇÕES	GRAUS DE LIBERDADE	SOMA DOS QUADRADOS	QUADRADOS MÉDIOS	F
GRUPO	2	0,0010	0,00058	0,3125
RESÍDUO	27	0,0430	0,0016	
TOTAL	29	0,0440		

* nível de significância de 10%

Os dados da tabela IV foram submetidos à análise de variância e ao teste de Tukey a 10% de significância. O valor de "F" não é significativo.

As médias dos grupos são:

D1 X1 = 0,2008

D2 X2 = 0,1943

D3 X3 = 0,1864

Não houve diferenças estatisticamente significantes entre os grupos.

TABELA IV-B - GRUPO D

ANÁLISE DE VARIÂNCIA DOS VALORES CONSTANTES NA TABELA IV

Em relação ao peso relativo das glândulas submandibulares (g):

CAUSAS DE VARIÂÇÕES	GRAUS DE LIBERDADE	SOMA DOS QUADRADOS	QUADRADOS MÉDIOS	F
GRUPO	2	0,0008	0,00038	0,7676
RESÍDUO	27	0,0133	0,00050	
TOTAL	29	0,0141		

* nível de significância de 10%

Os dados da tabela IV foram submetidos à análise de variância e ao teste de Tukey a 10% de significância. O valor de "F" não é significativo.

As médias dos grupos são:

D1 X1 = 0,0846

D2 X2 = 0,0761

D3 X3 = 0,0861

Não houve diferenças estatisticamente significantes entre os grupos.

TABELA IV-C - GRUPO D

ANÁLISE DE VARIÂNCIA DOS VALORES CONSTANTES NA TABELA IV

Em relação ao peso absoluto dos ratos (g):

CAUSAS DE VARIÂÇÕES	GRAUS DE LIBERDADE	SOMA DOS QUADRADOS	QUADRADOS MÉDIOS	F
GRUPO	2	7582,0667	3791,0333	3,4278
RESTDUO	27	29860,900	1105,9593	
TOTAL	29	37422,9667		

nível de significância de 10%

Os dados da tabela IV foram submetidos à análise de variância e ao teste de Tukey a 10% de significância. O valor de "F" é significativo. A d.m.s. pelo teste de Tukey, é 22,56.

As médias dos grupos são:

D1 X1 = 237,400

D2 X2 = 255,300

D3 X3 = 246,400

PARES DE MÉDIAS	DIFERENÇAS ABSOLUTAS	DIFERENÇA. MÍNIMA SIGNIFICATIVA (dms)
D1 e D2	17,9	22,56
D1 e D3	21,0	22,56
D2 e D3	38,9	22,56

Verifica-se que D2 é estatisticamente maior que D3, as demais comparações não são significantes. Portanto, D2 > D3.

5. RESULTADOS DO GRUPO E

TABELA V - GRUPO E

Peso dos ratos castrados e respectivas glândulas submandibulares.

1. grupo controle de ratos castrados; 2. grupo de ratos castrados, injetados com reserpina 0,1 mg/kg, i.p., + amputação dos incisivos inferiores; 3. grupo injetado com reserpina 0,1 mg/kg, i.p. + metotrexato 0,75 mg/kg, i.p., submetido à amputação dos incisivos inferiores; 4. grupo injetado com reserpina 0,1 mg/kg, i.p., + ciclofosfamida 25 mg/kg, i.p., + amputação dos incisivos inferiores; 5. grupo injetado com reserpina 0,1 mg/kg, i.p., + ciclofosfamida 50 mg/kg, i.p., e submetido à amputação dos incisivos inferiores.

GRUPO E1 CONTROLE		GRUPO E2 - INJETADOS COM RESERPINA 0,1 mg/kg i.p. + AMPUTAÇÃO DOS INCISIVOS INFERIORES		GRUPO E3 - INJETADOS COM RESERPINA 0,1 mg/kg i.p. + METOTREXATO 0,75 mg/kg i.p. + AMPUTAÇÃO DOS INCISIVOS INFERIORES		GRUPO E4 - INJETADOS COM RESERPINA 0,1 mg/kg i.p. + CICLOFOSFAMIDA 25 mg/ kg i.p. + AMPUTAÇÃO DOS INCISIVOS INFERIORES		GRUPO E5 - INJETADOS COM RESERPINA 0,1 mg/kg i.p. + CICLOFOSFAMIDA 50 mg/ kg i.p. + AMPUTAÇÃO DOS INCISIVOS INFERIORES	
peso dos ratos (g)	peso das gl. submandibul. direita e es- querda (g)	peso dos ratos (g)	peso das gl. submandibul. direita e es- querda (g)	peso dos ratos (g)	peso das gl. submandibul. direita e es- querda (g)	peso dos ratos (g)	peso das gl. submandibul. direita e es- querda (g)	peso dos ratos (g)	peso das gl. submandibul. direita e es- querda (g)
216	0,1694	214	0,2292	246	0,1705	221	0,1999	188	0,1587
226	0,1888	220	0,1352	226	0,1529	211	0,1890	189	0,1628
241	0,1866	223	0,1456	232	0,1918	204	0,1789	177	0,1395
244	0,2063	248	0,163	235	0,1733	239	0,2195	207	0,1424
219	0,2000	220	0,1338	225	0,1810	230	0,1859	208	0,1834
262	0,2095	217	0,1958	215	0,1577	255	0,2555	183	0,1632
212	0,2225	191	0,2398	243	0,1794	260	0,1543	203	0,1741
228	0,1805	250	0,1834	212	0,1406	213	0,1589	225	0,1643
258	0,1783	219	0,1478	245	0,2166	175	0,1743	186	0,1918
248	0,1613	—	—	200	0,1653	248	0,4529	182	0,1593
médias: 235	0,1903	222,4	0,1748	228	0,1729	225,6	0,2169	194,8	0,1640
Peso Glandular Relativo	0,0807	—	0,0786	—	0,0758	—	0,0961	—	0,0842

TABELA V-A - GRUPO E

ANÁLISE DE VARIÂNCIA DOS VALORES CONSTANTES NA TABELA V

Em relação ao peso absoluto das glândulas submandibulares (g):

CAUSAS DE VARIÂÇÕES	GRAUS DE LIBERDADE	SOMA DOS QUADRADOS	QUADRADOS MÉDIOS	F
GRUPO	4	0,0229	0,0057	2,1509
RESÍDUO	45	0,1197	0,0027	
TOTAL	49	0,1426		

* nível de significância de 10%

Os dados da tabela V foram submetidos à análise de variância e ao teste de Tukey a 10% de significância. O valor de "F" é significativo. O teste de Tukey tem d.m.s. = 0,05.

As médias dos grupos são:

$$E1 \quad X1 = 0,1903$$

$$E2 \quad X2 = 0,1740$$

$$E3 \quad X3 = 0,1729$$

$$E4 \quad X4 = 0,2169$$

$$E5 \quad X5 = 0,1640$$

PARES DE MÉDIAS	DIFERENÇAS ABSOLUTAS	DIFERENÇA. MÍNIMA SIGNIFICATIVA (dms)
E1 e E2	0,0163	0,05
E1 e E3	0,0176	0,05
E1 e E4	0,0266	0,05
E1 e E5	0,0263	0,05
E2 e E3	0,0011	0,05
E2 e E4	0,05	0,05
E2 e E5	0,01	0,05
E3 e E4	0,05	0,05
E3 e E5	0,0089	0,05
E4 e E5	0,0529	0,05

Verifica-se, estatisticamente, que E4 é significativamente maior que E5, E3 e E2. Portanto, $E4 > E5, E3, E2$; as outras diferenças não são significativas.

TABELA V-B - GRUPO E

ANÁLISE DE VARIÂNCIA DOS VALORES CONSTANTES NA TABELA V

Em relação ao peso relativo das glândulas submandibulares (g):

CAUSAS DE VARIÂÇÕES	GRAUS DE LIBERDADE	SOMA DOS QUADRADOS	QUADRADOS MÉDIOS	F
GRUPO	4	0,0034	0,0008	1,722
RESTDUO	45	0,0221	0,0005	
TOTAL	49	0,0455		

* nível de significância de 10%

Os dados da tabela V foram submetidos à análise de variância e ao teste de Tukey a 10% de significância. O valor de "F" é significativo. O teste de Tukey tem d.m.s. = 0,02.

As médias dos grupos são:

E1 X1 = 0,0807

E2 X2 = 0,0717

E3 X3 = 0,0758

E4 X4 = 0,0961

E5 X5 = 0,0842

PARES DE MÉDIAS	DIFERENÇAS ABSOLUTAS	DIFERENÇA. MÍNIMA SIGNIFICATIVA (dms)
E1 e E2	0,0021	0,02
E1 e E3	0,0049	0,02
E1 e E4	0,02	0,02
E1 e E5	0,0035	0,02
E2 e E3	0,0028	0,02
E2 e E4	0,02	0,02
E2 e E5	0,0056	0,02
E3 e E4	0,0203	0,02
E3 e E5	0,0087	0,02
E4 e E5	0,0119	0,02

Verifica-se, estatisticamente, que E4 é significativamente maior que E3, E2, E1. Portanto, $E4 > E3, E2, E1$; as outras diferenças não são significativas.

TABELA V-C - GRUPO E

ANÁLISE DE VARIÂNCIA DOS VALORES CONSTANTES NA TABELA V

Em relação ao peso absoluto dos ratos (g):

CAUSAS DE VARIÂÇÕES	GRAUS DE LIBERDADE	SOMA DOS QUADRADOS	QUADRADOS MÉDIOS	F
GRUPO	4	13256,4	3314,1	24,77
RESTÍDUO	45	60138,10	1336,402	
TOTAL	49	73394,50		

* nível de significância de 10%

Os dados da tabela V foram submetidos à análise de variância e ao teste de Tukey a 10% de significância. O valor de "F" é significativo. O teste de Tukey tem d.m.s. = 41,3.

As médias dos grupos são:

$$E1 \quad X1 = 235,8$$

$$E2 \quad X2 = 222,4$$

$$E3 \quad X3 = 228,1$$

$$E4 \quad X4 = 225,6$$

$$E5 \quad X5 = 194,8$$

PARES DE MÉDIAS	DIFERENÇAS ABSOLUTAS	DIFERENÇA. MÍNIMA SIGNIFICATIVA (dms)
E1 e E2	13,4	41,3
E1 e E3	7,7	41,3
E1 e E4	10,2	41,3
E1 e E5	41,3	41,3
E2 e E3	5,7	41,3
E2 e E4	3,2	41,3
E2 e E5	27,6	0,02
E3 e E4	2,5	0,02
E3 e E5	33,3	0,02
E4 e E5	30,8	0,02

Verifica-se, estatisticamente, que E1 é significativamente maior que E5; portanto, $E1 > E5$; as outras diferenças não são significativas.

6. RESULTADOS DO GRUPO F

TABELA VI - GRUPO F

Peso dos ratos castrados e respectivas glândulas submandibulares.

1. grupo de animais controle, tratados com pindolol 0,25 mg/kg, i.p., e que tiveram os incisivos inferiores amputados;
2. grupo de animais que tiveram os incisivos inferiores amputados e foram tratados com pindolol 0,25 mg/kg, i.p., e injetados com ciclofosfamida 25 mg/kg, i.p..

GRUPO F1 - CONTROLE SUBMETIDOS À AMPUTAÇÃO DOS INCISIVOS INFERIORES E ADMINISTRAÇÃO DE PINDOLOL 0,25 mg/kg i.p.		GRUPO F2 - ANIMAIS SUBMETIDOS À AMPUTAÇÃO DOS INCISIVOS INFERIORES E ADMINISTRADOS COM PINDOLOL 0,25 mg/kg i.p. + CICLOFOSFAMIDA 25 mg/kg i.p.	
peso dos ratos (g)	peso das gl. submandibul. direita e es- querda (g)	peso dos ratos (g)	peso das gl. submandibul. direita e es- querda (g)
375	0,1766	322	0,2155
318	0,2907	325	0,2083
284	0,1395	326	0,2111
319	0,1854	330	0,1505
330	0,1586	320	0,1597
324	0,2037	320	0,1900
médias: 325,0	0,2	323,8	0,2
Peso Glandular Relativo	0,0592	—	0,0584

TABELA VI-A - GRUPO F

ANÁLISE DE VARIÂNCIA DOS VALORES CONSTANTES NA TABELA VI

Em relação ao peso absoluto das glândulas submandibulares (g):

CAUSAS DE VARIÂÇÕES	GRAUS DE LIBERDADE	SOMA DOS QUADRADOS	QUADRADOS MÉDIOS	F
GRUPO	1	0,0432	0,0432	24,00
RESÍDUO	10	0,018	0,0018	
TOTAL	11	0,0612		

* nível de significância de 10%

Os dados da tabela VI foram submetidos à análise de variância e ao teste de Tukey a 10% de significância. O valor de "F" é significativo. O teste de Tukey tem d.m.s. = 0,0313.

As médias dos grupos são:

$$F1 \quad X1 = 0,1924$$

$$F2 \quad X2 = 0,1892$$

PARES DE MÉDIAS	DIFERENÇAS ABSOLUTAS	DIFERENÇA. MÍNIMA SIGNIFICATIVA (dms)
F1 e F2	0,0032	0,0313

Verifica-se que entre F1 e F2 não houve diferença significativa.

TABELA VI-B - GRUPO F

ANÁLISE DE VARIÂNCIA DOS VALORES CONSTANTES NA TABELA VI

Em relação ao peso relativo das glândulas submandibulares (g):

CAUSAS DE VARIÂÇÕES	GRAUS DE LIBERDADE	SOMA DOS QUADRADOS	QUADRADOS MÉDIOS	F
GRUPO	1	0,00000302	0,00000302	0,0167
RESTDUO	10	0,00180659	0,00018066	
TOTAL	11	0,00180961		

* nível de significância de 10%

Os dados da tabela VI foram submetidos à análise de variância e ao teste de Tukey a 10% de significância. O valor de "F" não é significativo.

As médias dos grupos são:

F1 X1 = 0,058400

F2 X2 = 0,058443

Não houve diferenças estatisticamente significantes entre os grupos.

TABELA VI-C - GRUPO F

ANÁLISE DE VARIÂNCIA DOS VALORES CONSTANTES NA TABELA VI

Em relação ao peso absoluto dos ratos (g):

CAUSAS DE VARIÂÇÕES	GRAUS DE LIBERDADE	SOMA DOS QUADRADOS	QUADRADOS MÉDIOS	F
GRUPO	1	4,0833	4,0833	0,0093
RESTÍDUO	10	4368,833	436,883	
TOTAL	11	4372,91		

* nível de significância de 10%

Os dados da tabela VI foram submetidos à análise de variância e ao teste de Tukey a 10% de significância. O valor de "F" não é significativo.

As médias dos grupos são:

F1 X1 = 325,000

F2 X2 = 323,000

Não houve diferenças estatisticamente significantes entre os grupos.

VII. DISCUSSÃO

VI. DISCUSSÃO

Quando do início de nossos trabalhos sobre glândulas submandibulares, pensávamos em utilizá-las como modelo de proliferação celular, devido a sua labilidade e possibilidade de provocar nelas, usando drogas ou efetuando amputações dos incisivos inferiores, proliferação celular, hiperplasia e hipertrofia.

A estimulação por um destes meios (LIMA JUNIOR, 1990) possibilita o estudo de eventos bioquímicos nas diversas fases do ciclo proliferativo celular.

TAKEDA e colabs. (1986), estudando as alterações das glândulas submandibulares, consequentes a uma única amputação dos incisivos inferiores, verificaram ocorrer hiperplasia e hipertrofia e aumento do índice mitótico, que atingia o máximo 7 dias após a referida amputação. Há trabalhos que indicam ser o aumento das glândulas submandibulares, quando se amputam os incisivos inferiores, devido a um mecanismo neural (WELLS, 1960; HOUSSAY, 1966).

Em nosso trabalho anterior foi estudado o efeito da administração do metotrexato e sua relação com o aumento de glândulas submandibulares, quando estimuladas por uma única amputação dos incisivos inferiores, em ratos castrados e não castrados (LIMA JUNIOR, 1990).

No caso de dieta volumosa, o efeito sinérgico com os estímulos sialoadenotróficos acarretavam aumento das glândulas destituídas de inervação simpática.

Foi verificado, comparando glândulas submandibulares de ratos machos castrados, que estas apresentavam maior

peso nos animais em que se procedia à administração de metotrexato e amputação dos incisivos inferiores.

Conforme já nos referimos, resolvemos estudar a ação de drogas que bloqueavam a atividade simpática, e de a n i m a i s castrados tratados com Durateston 250^R e, também, usando a ciclofosfamida e, ainda, o metotrexato.

A ciclofosfamida atua em todas as fases do ciclo proliferativo, ao contrário do metotrexato que atua só na fase S.

Os dados da tabela I mostram que os pesos relativos das glândulas submandibulares dos ratos castrados, que receberam administração de metotrexato e foram submetidos à amputação dos incisivos inferiores (**grupo A3**), foram maiores do que os do grupo controle (constituído por ratos castrados apenas), confirmando nossos experimentos anteriores (LIMA JUNIOR, 1990).

Comparando-se os pesos absolutos das glândulas submandibulares, verificamos, também, que o aumento destas glândulas foi maior no **grupo A3**, isto é, ratos submetidos à amputação dos incisivos inferiores mais administração de metotrexato.

Comparando-se as diferenças entre pesos, tanto relativos quanto absolutos, de glândulas submandibulares, os resultados foram maiores para aqueles procedentes de animais que sofreram amputação dos incisivos inferiores do que aqueles do grupo controle, isto é, os resultados foram maiores para o **grupo A2** do que para **A1**, embora não tenham sido encontradas diferenças estatisticamente significantes entre eles.

Com relação aos pesos corporais dos ratos, a análise estatística mostra que os animais do **grupo A3** apresen-

tavam-se maiores que os do grupo A2 e, também, que A1 foi maior do que A2 e A3. Comparando pesos absolutos e relativos de glândulas submandibulares, verificamos que não houve diferenças estatísticas significantes entre eles; em princípio, atribuímos isto ao fato dos animais serem castrados (LIMA JUNIOR, 1990).

Reverendo a literatura, sabemos que o aumento das glândulas é sexo-dependente, isto é, que a síntese do DNA pode ser influenciada por injeções de isoproterenol (BARKA, 1965; BARKA, 1967; BAKER e colabs., 1964) e se constatou que em ambos os sexos a síntese do DNA é dependente de hormônios sexuais. LACASSAGNE e colab., 1969, observaram que as glândulas salivares são profundamente influenciadas por hormônios androgênicos (GRAD e colab., 1949) e que esta atrofia sofre reversão após administração de andrôgenos.

Para esclarecer, fizemos os experimentos constantes da tabela II.

O peso glandular relativo das glândulas submandibulares do grupo B2 (animais castrados, com incisivos inferiores amputados e que receberam administração de Durateston 250^R, i.m.) apresentou-se maior do que B3, diferença estatisticamente significativa maior do que B3 (animais castrados mais amputação dos incisivos inferiores mais Durateston 250^R, i.p.). O grupo B1 (castrado) foi estatisticamente maior que os grupos B2 e B3, pois se tratava de ratos castrados apenas. Comparando-se os pesos absolutos das glândulas dos grupos referidos, verificamos que B1 foi maior que B2 e B3.

Verificando os pesos corporais dos ratos, vimos que B3 é maior que B2 — que entre B1 e B2 não houve diferenças estatisticamente significantes.

É sabido que o Durateston 250^R deve ser injetado via intramuscular para ser eficiente e, por isso, admitimos corroborado pela análise estatística, que os ratos castrados do grupo B2 tiveram menor peso que os do grupo B3. Conforme já referimos, experimentos indicam que quando se procede a destruição do sistema nervoso simpático não ocorre aumentos significativos de peso das glândulas submandibulares de ratos (WELLS, 1967; WELLS e colab., 1964).

Pesquisas destes autores revelaram, no entanto, que a administração contínua de teofilina e de outros estímulos sialoadenotróficos, como amputação dos incisivos inferiores em ratos ou com a administração de alimentação volumosa, acarretava um grande aumento de peso das referidas glândulas.

Na tabela III estão relacionados os experimentos do grupo C, mostrando que os pesos relativos das glândulas submandibulares de ratos castrados, injetados com reserpina 0,1 mg/kg, i.p., e que tiveram os incisivos inferiores amputados (grupo C3), apresentaram peso glandular relativo maior que o grupo C2 (castrados que só receberam administração de reserpina, 0,1 mg/kg, i.p.) e do que o grupo C1 (ratos castrados). Também comparando os pesos glandulares relativos de C1 e C2, verifica-se ainda que C2 foi menor do que C1. Entre C3 e C1 não foram encontradas diferenças estatisticamente significantes, embora enquanto o peso glandular relativo dos animais de C2 foi verificado ser menor do que C1.

Comparando-se a média dos pesos absolutos das glândulas submandibulares, C3 foi estatisticamente maior do que o grupo C2. Não houve diferenças estatisticamente significantes entre o grupo C1 e demais grupos, embora as médias dos

pesos das glândulas do grupo C3 sejam maiores do que as dos grupos C1 e C2 e que a média do grupo C1 seja menor que a do grupo C2 e este, menor do que as médias das glândulas do grupo C3.

Já comparando os pesos corporais de ratos machos castrados dos grupos C1, C2 e C3, verificamos que C1 foi menor do que C2 e C3 e que as médias de C3 e C2 e C3 foram iguais. A análise estatística não revelou diferenças significativas entre as médias.

A tabela IV relaciona os experimentos do grupo D. Os animais do grupo D3 foram injetados com reserpina 0,1 mg/kg, i.p., submetidos à amputação dos incisivos inferiores e apresentaram peso glandular relativo maior do que o do grupo D1 (ratos castrados submetidos à amputação dos incisivos inferiores) e maior também do que o do grupo D2 (animais castrados, injetados com pindolol 0,25 mg/kg, i.p., e submetidos à amputação dos incisivos inferiores).

Comparando-se os pesos absolutos das glândulas submandibulares dos animais dos grupos D1, D2 e D3, verificamos que as glândulas do grupo D1 apresentaram maior peso médio do que as glândulas do grupo D2 e estas, do que as do grupo D3. Seja comparando pesos glandulares relativos e absolutos de glândulas submandibulares, as diferenças entre grupos não foram estatisticamente significantes. Verificando-se os pesos corporais dos ratos, os animais do grupo D2 apresentaram maior média de peso do que os do grupo D1 e a destes foi maior do que a do grupo D3.

O peso corporal médio dos animais do grupo D2 revelou-se maior do que o peso médio corporal dos animais do grupo D3, tendo sido a diferença entre eles estatisticamente

significante, porém não entre D1 e D2 e D1 e D3.

A tabela V mostra resultados dos experimentos com os ratos do grupo E. Os animais do grupo E4 (injetados com reserpina 0,1 mg/kg, i.p., mais ciclofosfamida 25 mg/kg, i.p., submetidos à amputação dos incisivos inferiores) apresentaram peso glandular relativo estatisticamente maior do que o grupo E3 (ratos castrados injetados com reserpina 0,1 mg/kg, i.p., mais metotrexato 0,75 mg/kg, i.p., mais amputação dos incisivos inferiores). Já comparando-se simplesmente as médias, verificou-se não serem significantes as diferenças entre as médias de E5, E1, E2 e E3.

Comparando as médias dos pesos absolutos das glândulas submandibulares, verifica-se que o peso glandular médio dos animais do grupo E4 apresentou peso absoluto maior que E1, E5, E3 e E2.

Por outro lado, E4 foi significativamente maior do que E2 (ratos injetados com reserpina 0,1 mg/kg, i.p., e submetidos à amputação dos incisivos inferiores). Verificamos pela análise estatística dos pesos relativos das glândulas submandibulares que E4 foi maior que E2.

Relacionando a média dos pesos corporais de ratos, verificamos que o grupo E1 (controle) apresentou-se maior que E3, E4, E2 e E5.

Analisando-se as médias destes pesos corporais, verificamos que E1 apresenta-se significativamente maior que o grupo E3 (ratos injetados com reserpina 0,1 mg/kg, i.p., mais 50 mg/kg de ciclofosfamida, i.p., e submetidos à amputação dos incisivos inferiores).

Com relação a E4, verificamos ser maior do que E2 e E5. As médias dos pesos corporais dos ratos do grupo E1

foram maiores do que as do grupo E5 e estas, maiores do que as do grupo E4 e maiores do que E2 e E5. Pela análise estatística, verificamos que os pesos médios dos ratos do grupo E1 foram maiores do que os do grupo E5.

A tabela VI registra os dados dos experimentos do grupo F. O peso glandular relativo dos animais do grupo F2 (ratos castrados submetidos à amputação dos incisivos inferiores mais administração de pindolol 0,25 mg/kg, i.p., mais ciclofosfamida 25 mg/kg, i.p.) apresentou-se menor do que o do grupo F1 (ratos castrados - controle, submetidos à amputação dos incisivos inferiores e administração de pindolol 0,25 mg/kg, i.p.). Comparando-se as médias dos pesos absolutos das glândulas submandibulares, verifica-se que a média de peso glandular absoluto foi maior para animais do grupo F1.

O peso corporal dos ratos foi maior nos ratos do grupo F1. Efetuando-se as análises estatísticas, não se encontrou diferenças estatisticamente significantes, quer comparando pesos glandulares relativos, peso glandular absoluto das glândulas submandibulares ou peso corporal de ratos.

VIII. CONCLUSÕES

VIII. CONCLUSÕES

Nas condições em que foram realizados os experimentos, julgamos válidas as seguintes conclusões:

1. Os pesos relativos das glândulas submandibulares de ratos castrados, que tiveram os incisivos inferiores amputados e aos quais se administrou metotrexato, apresentaram aumentos significantes quando comparados com os animais castrados, que tiveram somente os incisivos inferiores amputados, e também em relação com o peso relativo das glândulas de ratos castrados apenas (Tabela I).

2. Em ratos castrados, cujas glândulas submandibulares foram estimuladas por amputação dos incisivos inferiores, aos quais se administrou, previamente, Durateston 250^R, via i.m., observamos um aumento significativo no peso glandular relativo com aquele dos animais castrados, aos quais se havia administrado Durateston 250^R, via intraperitonal. Porém, estes resultados foram menores do que o apresentado pelo grupo de animais castrados do grupo controle (Tabela II).

3. Comparando-se pesos glandulares relativos de ratos castrados, a cujos grupos administramos reserpina e fizemos amputações dos incisivos inferiores, o peso glandular relativo foi significativamente maior nos animais castrados do que o peso glandular relativo dos animais castrados, aos quais se administrou reserpina. Verificou-se, também, que entre os pesos glandulares relativos dos grupos citados e do grupo de animais castrados não houve diferenças estatísticas significan-

tes (Tabela III).

4. Comparando-se pesos relativos das glândulas submandibulares de ratos castrados, que sofreram amputações dos incisivos inferiores e que receberam injeções de pindolol ou reserpina, com o grupo de animais castrados que sofreram amputação dos incisivos inferiores, não encontramos diferenças estatisticamente significantes (Tabela IV).

5. Comparando-se pesos relativos das glândulas submandibulares de ratos castrados, que tiveram os incisivos inferiores amputados, verificamos que o peso glandular relativo do grupo de ratos que receberam administração de reserpina mais ciclofosfamida 25 mg/kg e tiveram amputação dos incisivos inferiores, foi significativamente maior do que o peso glandular relativo do grupo de ratos, aos quais se administrou sô reserpina mais metotrexato, com amputação dos incisivos inferiores, e que não houve diferenças significantes com os pesos glandulares relativos do grupo de ratos castrados, injetados com a reserpina, e do grupo injetado com reserpina mais ciclofosfamida — 50 mg/kg, via i.p. — e que tiveram os incisivos inferiores amputados (Tabela V).

6. Comparando-se os pesos glandulares relativos de ratos castrados, verificamos que as glândulas submandibulares do grupo que recebeu administração de pindolol e ciclofosfamida, não apresentaram diferenças significantes em comparação com o peso glandular relativo das glândulas dos animais castrados, submetidos à administração de pindolol (Tabela VI).

IX. RESUMO

IX. RESUMO

Foi estudado o efeito da amputação dos incisivos inferiores sobre as glândulas submandibulares de ratos machos castrados. Demonstramos que nestes animais, injetados com metotrexato 0,75 mg/kg, i.p., e submetidos à amputação dos incisivos inferiores, ocorre aumento do peso relativo das glândulas submandibulares — não ocorrendo o mesmo em ratos castrados que são sofreram amputação dos incisivos inferiores. Assim, utilizando-se ratos que foram castrados aos 30 dias de idade, procedemos a amputação dos incisivos inferiores e administramos Durateston 250^R. Os resultados indicam um peso glandular relativo menor para as glândulas dos ratos que receberam a administração da referida droga, por via i.m.. Animais machos castrados também foram submetidos à administração de metotrexato ou ciclofosfamida e à amputação única dos incisivos inferiores e administração de reserpina ou pindolol, com a finalidade de verificar se tais drogas bloqueadoras do simpático impediriam os aumentos relativos das glândulas submandibulares, que eram retiradas e pesadas no 7º dia após a amputação dos incisivos inferiores. Nos animais que se injetou metotrexato mais reserpina e se fez amputação dos incisivos inferiores, não houve significante aumento ou diminuições dos pesos glandulares relativos quando comparado com os controles, apesar de o peso glandular médio ter sido menor. Já os ratos injetados com reserpina 25 mg/kg e ciclofosfamida, apresentaram pesos relativos maiores que os ratos do grupo injetados com reserpina e metotrexato e com incisivos inferiores amputados. Comparando-se ratos castrados, nos quais se injetava

pindolol mais ciclofosfamida, não foi verificado diferença significativa entre os pesos glandulares médios destes ratos e do grupo controle, isto é, ratos castrados, com incisivos inferiores amputados mais administração de pindolol. Os resultados dos experimentos foram submetidos à análise de variância e ao teste de Tukey.

X. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

X. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABLAD, B.; CARLSSON, E.; DAHLOF, C.; EK, L. Apud Zanin, A.C.; Oga, S. Pathophysiology and management of arterial hiper-tensions. Farmacologia Aplicada, 3.^a edição, Atheneu Editora, São Paulo, 1989.
- ADLER, R. & NARBAITZ, R. Action of rat submaxillary gland extract on neural tube growth in organ culture. J. Em-bryol. exp. Morph., 14: 281-6, 1956.
- ÁLVARES, E.P. & SESSO, A. Cell proliferation, differentiation and transformation in the rat submandibular gland during early post natal growth. A quantitative and morphological study. Arch. histol jap, 38: 177-208, 1975.
- ATTARDI, D.C. & SCHLESIN GER, M.J. Submaxillary gland of mouse. Properties of a purified protein affecting muscle tissue in vitro. Science, 156: 1253-55, 1967.
- BAKER, B.L.; CLAPP JR., H.W.; LIHT, J.A. Salivary glands and their secretions: An International Conference. Pergamon Press, The Macmillan Company, New York, 1964. p. 63.
- BARKA, T. Stimulation of DNA synthesis by isoproterenol in salivary gland. Exp. Cell Res., 39: 355-64, 1975.
- _____. Stimulation of desoxyribonucleic acid synthesis in the salivary gland by isoproterenol. The effect of sex. Exp. Cell Res., 48: 53-60, 1967.

BARKA, T. Induced cell proliferation: the effect of isoproterenol. Exp. Cell Res., 37: 662-79, 1965.

_____. Partial purification of mitotic suppressor from the salivary gland. Exp. molec Path., 18: 225-33, 1973.

BASERGA, R. Inhibition of stimulation DNA synthesis by isoproterenol in submandibular glands of mice. Life Sciences, 5: 2033-9, 1966.

_____. Biochemistry of the cell cycle: a review. Cell Tissue Kinet, 1: 167-91, 1968.

_____. The control of cell proliferation in mamalian cells. In: Drugs and regulation. E. Mihich ed. Academic Press, New York and London, 1971. p. 35-50.

BAST, E.M. & MILLS, K.S. Mouse submaxillary gland extract as a growth stimulator and orientor of chick cardiac cells in vitro. Growth, 72: 295-301, 1963.

BHASKAR, S.N. Histologia e Embriologia Oral de Orban. 10^a ed. Trad. N.D. Martelo, Artes Médicas, São Paulo, 1989.

BIXLER, D.; MUHLER, J.C.; SNAFER, W.G. Effect of desalivation on adrenals, uterus and testes, in the rat. J. dent. Res., 34: 919-14, 1955.

- BORGHESE, E. The development in vitro of the submandibular and sublingual of MUS musculus. J. Anat., 84: 287-302, 1950.
- BROWN-GRANT, K. Enlargement of salivary gland in mice treated with isopropylnoradrenaline. Nature, 191: 1076-8, 1961.
- CANTAZARO GUIMARÃES, S.A. Glândulas salivares estimuladas pelo isoproterenol: um modelo de proliferação celular. Ciência e Cultura, 26(8): 725-44, 1974.
- CHABNER, B.A. Pharmacological principles of cancer treatment. In: Methotrexato. (B.A. Chabner, ed.). W.B.Saunders, Co., Philadelphia, 1982. p. 229-55.
- CHANG, W.W.L. Cell population changes during acinus formation in the post natal rat submandibular gland. Anat. Rec., 178: 187-202, 1974.
- COHEN, S. Purification of a nerve growth promoting protein from the mouse salivary gland and its neurocytotoxic antiserum. Proc. nat. Acad. Sci, 46: 306-11, 1960.
- _____. Isolation of a mouse submaxillary gland protein accelerating incisor eruption and eyelid, opening in newborn animal. J. biol. chem, 237: 1555-62, 1962.
- COOPER, H.L. Biochemic alteration accompanying initiation of growth in resting cell. In: R. Baserga, ed. The cell cycle and cancer. Marcel Decker, New York, 1971. p. 191-224.

- CUTLER, L.S. & CHAUDHRY, A.P. Cytodifferentiation of the acinar cells of the rat submandibular gland. Dev. Biol., 41: 31-41, 1974.
- DI GIOVINI VECCHIONE, L. Osservazioni sulla secrezione delle ghiandole sottomandibulare e sottolinguale normali e in cultura in vitro. Histochemec., 9: 203-16, 1936.
- FUJOKA, M.; KOGA, M.; LIEBERMAN, I. Metabolism of ribonucleic acid after partial hepatectomy. J. Biol. Chem., 238: 3401-6, 1963.
- GABE, M. Contribution à l'histogenese des glandes salivares chez la souris albino. Z. Zellforsch., 45: 74-95, 1956.
- GERSTNER, R.; FLON, H.; BUTCHER, E.D. Onset and type of salivary secretion in fetal rat. J. dent Res., 42: 1250-60, 1963.
- GILMAN, A.G. e colabs. As Bases Farmacológicas da Terapêutica. 7.^a edição. Editora Guanabara, Rio de Janeiro, 1990.
- GLASS, G.B.J. Introdução à Fisiologia Gastrointestinal. Sarvier Ed. de Livros Médicos, São Paulo, 1973.
- GRAD, B. & LEBLOND, C.P. The necessity of testis and thyroid hormones for the maintenance of the serous tubules of the submaxillary gland in the male rat. Endocrinology, 45: 250-66, 1949.

- GROBSTEIN, C. Analysis in vitro of the early organization of rudiment of the mouse submandibular gland. J. Morph., 93: 19-43, 1953.
- HANDLEMAN, C.S. & WELLS, H. Morphological and histochemical studies of experimentally enlarged and atrophied salivary glands of the rat. Am. J. Anat., 112: 65-71, 1963.
- HOSHINO, K. & LIN, C.D. Transplantability of salivary glands of mice and its lethal effects on the hosts. Anat. Rec., 160: 474-5, 1968.
- _____ & _____. Lethal factor released from submandibular grafts in mice. Can. J. Physiol. Pharmacol., 46: 329-34, 1969.
- HOWARD, A. & PELC, S.R. Synthesis of desoxyribonucleic acid in normal and irradiated cells and its relation to chromosome breakage. Heredity (supl.), 6: 261-73, 1953.
- ISTRATE, 1955. Apud Nova Cruz, J.L. Influência da sialoadenectomia sobre os testes de sensibilidade à insulina e de tolerância à glicose em cães. Rev. Fac. Odont. Pelotas, 5: 43-70, 1964.
- JACOBY, F. & LEESON, C.R. The postnatal development of the rat submandibular gland. J. Anat., 93: 201-16, 1959.

- JONES, R.O. & ASHWOOD SMITH, M.J. Some preliminary observations on the biochemical and biological properties of an epithelial growth factor. Exp. cell Res., 59: 161-3, 1970.
- JUNQUEIRA, L.C.V. & FAVA DE MORAES, F. Comparative aspects of the vertebrate major salivary glands biology. In: Funktionelle und morphologische organization der zelle sekretion und excretion. Berlim, Springer-Verlag, 1965. p. 36-48.
- LACASSAGNE, A. & CHAMORRO, A. Réation a la testosterone de la glande sous maxillaire, atrophiée consectivement a l'hy pophysectomie chez la souris. Arch. oral Biol., 14: 87-90, 1969.
- LAMERTON, L.F. & FRY, R.J. Cell proliferation. Blackwell, Oxford, 1963.
- LAWRENCE, A.M.; TAN, S.; HOJVAT, S.; KIRSTEINS, L. Salivary gland hiperglicemic factor: an extrapancreatic source of glucagon like material. Science, 195: 702, 1977.
- LAWSON, K.A. Morphogenesis and functional differentiation of the rat parotid gland in vivo and in vitro. J. Embryol. Exp. Morphol., 24: 411-24, 1970.
- LEESON, C.R. & BOOTH, W.G. Histological, histochemical and electron microscopic observations on the postnatal development of the major sublingual gland of the rat. J. dent. Res., 40: 838-45, 1961.

- LEESON, C.R. & JACOBY, F. An electron microscopic study of the rat submaxillary gland during its postnatal development in the adult. J. Anat., 93: 287-95, 1959.
- LIMA JR., G.M. Influência do metotrexato sobre glândulas submandibulares de ratos normais e castrados estimulados pela amputação dos incisivos inferiores. Piracicaba, S.P., Faculdade de Odontologia da UNICAMP, 1990 (Tese de Mestrado).
- LIN, C.D. & HOSHINO, K. Hemorrhagic phenomenon caused in the host mice by submandibular isografts from male. Proc. Can. Fed Biol. Soc., 12: 8-21, 1969.
- MAKULU, D.R. & ASHMORE, J. Glucose oxidation in isoproterenol stimulated salivary glands of the rat. Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 139(1): 19-23, 1972.
- MALAMUD, D. & BASERGA, R. Glycogen concentration and synthesis in isoproterenol stimulated salivary glands. Exp. Cell. Res., 50: 581-8, 1968.
- MATHEUS, G. Estudo morfológico e morfométrico das glândulas parótidas e submandibulares de animais nascidos de ratos injetados com Parotín. Araçatuba, Faculdade de Odontologia, 1982 (Tese de Doutorado).
- MC BRIDE, R.K. & SIEGEL, I.A. Effect of methotrexate on protein and amylase secretion by rat parotid and submaxillary salivary glands. Archs oral Biol., 33(4): 245-9, 1988.

MUELLER, G.C. Biochemical events in the animal cell cycle.
Fed Proc. Fed. Soc. Exp. Biol., 28: 1780-9, 1969.

_____. Biochemical perspectives of G₁ and S intervals in
the replication cycle of animal growth. In: The cell cycle
and cancer. R. Baserga ed., 1971. p. 269-304.

NARIMSHAN, M.J. & GANHA, V.G. The regulatory influence of the
submandibular gland on growth. Ann. Endocr., 29: 513-22,
1968.

NAUGHTON, M.A.; KOCK, J.; HOFFMAN, H.; BENDER, V.; HAGOPIAN,
H.; HAMILTON, E. Isolation of activity of a thymocyte
transforming factor from the mouse submaxillary gland.
Exp. Cell Res., 57: 95-103, 1969.

PATT, H.M. & QUASTLER, H. Radiation effects on cell renewal
and related systems. Phys Rev., 43: 357-96, 1963.

PEREC, C.J.; HOUSSAY, A.B.; PERONACE, A.A.V.; HARFIN, J.F.
Submaxillary and retrolingual gland hypertrophy by different
incisors amputations in the rat. J. dent. Res., 44: 683-
-9, 1965.

PLAZA, A.V.; MENENDEZ-PATTERSON, A.; MARIN, B. Effects of the
extirpation of submandibular salivary glands on the oxida-
tive activity of nervous and glandular structures in the
male rat. Arch. Oral Biol., 24: 245-7, 1974.

- PRESCOTT, D.M. Composition of cell life cycle. In: Fry, R. J.M.; Grien, M.L.; Kirsten, W.H. eds. Normal and malignant cell growth, recent results in cancer research. Springer-Verlag, Berlim, 1969. v.17. p. 79-90.
- RABELO, A.S. Contribuição para o estudo morfológico e funcional da glândula submandibular do rato (Rattus norvegicus albinus, Rodentia, Mammalia) durante o desenvolvimento embrionário e pós-natal. Rev. Fac. Odont. USP, 9: 149-67, 1971.
- RAYNAUD, J. Controle hormonal de la glande sous maxillaire de la souris. Bull. Biol. for Belg., 94: 339-523, 1960.
- _____. Action locale de la testosterone injecté dans la sous-maxillaire de la souris. C.R. Acad., 230: 2045-7, 1950.
- _____. Développement embryonnaire des glandes sous maxillaire et retro-lingual de la souris. C.R. Soc. Biol., 127: 717-8, 1943.
- REDMAN, R.S. & SREEBNY, L.M. The prenatal phase of the morphogenesis of the rat parotid gland. Anat. Rec., 168: 127-38, 1970.
- _____ & _____. Morphologic and biochemical observation on the development of the rat parotid gland. Dev. Biol., 25: 248-79, 1971.
- SCHNEYER, C.A. & SHACHLEFORD, J.M. Accelerated development glands of early postnatal rats following isoproterenol. Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 112: 520-4, 1963.

SEIFERT, G. Experimental sialoadenosis by isoproterenol and other agents: histochemistry and electron microscope. In: Secretory mechanisms of salivary glands. L.H. Schneyer & C.A. Schneyer eds. Academic Press Inc., New York, 1967. p. 191-208.

SELYE, H.; VEILLEUX, R.; CANTIN, M. Excessive stimulation of salivary gland growth by isoproterenol. Science, 133: 44-5, 1961.

SREEBNY, L.M.; MEYER, J.; BACHEM, E.; WEINMANN, S. Postnatal changes in proteolytic activity and in morphology of the submaxillary gland in male and female albino rats. Growth, 19: 57-74, 1955.

SRINIVASAN, R. & CHANG, W.W.L. The development of the granular convoluted duct in the submandibular gland. Anat. Rec., 182: 29-40, 1975.

TAGA, R. Evolução das populações celulares das glândulas parótida e sublingual do rato durante a vida pós-natal inicial avaliada por estudos morfométricos, bioquímicos, radioautográficos e ultra-estruturais. São Paulo, Instituto de Ciências Biomédicas, USP, 1976 (Tese de Doutorado).

TAKAHAMA, M. & BARKA, T. Electron microscopic alterations of submaxillary gland produced by isoproterenol. J.Ultrastruct. Res., 17: 452-74, 1967.

TAKEDA, Y.; HIROSE, H.; ENOMOTO, S. Enlargement of rat submandibular salivary gland induced by single amputation of lower incision teeth. J. oral Pathol., 15: 327-33, 1986.

_____; YAMASAKI, R.; YAMABE, H.; SUZUKI, H.; HAEBARA, H.; IRINO, T.; GROLIMAN, A. Atrophy of the lymphoid tissues of mice induced by extracts of the submaxillary gland. Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 126: 212-6, 1967.

TAMES, D.R. Efeitos da castração e modulação estrutural e bioquímica dos ductos granulosos de glândulas submandibulares do camundongo. São Paulo, Instituto de Ciências Biomédicas, USP, 1979 (Tese de Doutorado).

VILLA, N. Alguns dados histológicos e histoautorradiográficos da glândula parótida do rato (Rattus norvegicus albinus, Rodentia Mammalia) durante o desenvolvimento pós-natal. São Paulo, Faculdade de Odontologia, USP, 1968 (Tese de Doutorado).

WALLACE, L.J.; PARTLOW, L.M.; ELLIS, M. A adrenergic regulation of the secretion of an anticomplementary factor in mouse saliva. Proc. Soc. exp. Biol. Med., 152: 99-104, 1976.

WELLS, H.; ZACKIN, S.J.; GODHABER, P.; MUNSON, P.L. Increase in weight of the submandibular salivary glands of rats following periodic amputation of erupted portion of the incisors teeth. Am. J. Physiol., 196(4): 827-39, 1959.

WELLS, H. & MUNSON, P.L. Experimental enlargement of submandibular salivary glands of rats. Am. J. Physiol., 199(1): 63-6, 1960.

_____. Inhibition by surgical procedure and drugs accelerated growth of salivary glands of rats. Am. J. Physiol., 199: 1037-40, 1960.

_____; HANDELMAN, C.; MILGRAM, E. Regulation by sympathetic nervous system of accelerated growth of salivary glands of rats. Am. J. Physiol., 201: 707-10, 1961.

_____. The neural regulation of salivary gland growth. Ann. N.r. Acad. Sci., 106: 654-67, 1963.

_____. Salivary gland enlargement in rats after administration of the threophyline. Am. J. Physiol., 212: 1293-6, 1967.

_____ & PERONACE, A.A.V. Synergistic and nervous regulation of accelerated salivary gland growth. Am. J. Physiol., 207: 313-8, 1964.

WOLF, A.; MOREIRA, J.E.; FOX, P.C. Lack of acute effects of methotrexate on rat parotid salivary gland function. Archs oral Biol., 34(2): 109-15, 1989.

YAGIL, C.; MICHAELI, Y.; ZAJICEK, G. Compensatory proliferative response of the rat submandibular salivary gland to unilateral extirpation. Virchows Arch, 49: 83-92, 1985.

ZANINI, A.C. & OGA, S. Farmacologia Aplicada. 3.^a edição. São Paulo, Atheneu Editora, 1989.