



1150016075



FOP

T/UNICAMP T235e

A MARIA HELENA E FILHOS:

Mônica, Luis Fernando, Cristiane e Luis Claudio

*pelo carinho, compreensão, apoio e
razões do meu viver*

J. 398

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE PIRACICABA
BIBLIOTECA

AOS PROFESSORES DOUTORES:

HOMERO MORAES BARROS

AGENOR MELLO SOBRINHO E

CARLOS EDUARDO NEGREIROS DE PAIVA

pela minha formação científica

A memória de meu *Pai*

A minha *mãe e irmãs*

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

- Ao Professor Doutor *ZEFERINO VAZ*, Ex-Reitor e Reitor Emérito da Universidade Estadual de Campinas, que ao designar-nos para instalar e reger a disciplina de Fisiologia e Biofísica da Faculdade de Odontologia de Piracicaba, honrou-nos com sua confiança;
- Ao Professor Doutor *CARLOS EDUARDO NEGREIROS DE PAIVA*, Titular do Departamento de Fisiologia e Biofísica do Instituto de Biologia da Universidade Estadual de Campinas, que ao convidar-nos para integrar a sua equipe, distinguiu-nos com sua amizade e estímulo;
- Ao Professor Doutor *ANTONIO CARLOS NEDER*, Diretor da Faculdade de Odontologia de Piracicaba, pela desinteressada colaboração;
- Ao *MASAAKI YAMAMOTO*, Ph.D. Manager, Pharmaceutical and Manufacturing Technology of the TEIKOKU HORMONE MFG. Co., LTDA., pelo fornecimento do Parotin;
- Ao Professor Doutor *ALCIDES GUIMARÃES*, Professor Assistente Doutor da Área de Fisiologia e Biofísica do Departamento de Biologia e Patologia Buco-Dental, pela lealdade, companheirismo e colaboração;
- Ao Professor *JAIME APARECIDO CURY*, Professor da Área de Bioquímica do Departamento de Biologia e Patologia Buco-Dental, pelas sugestões e colaboração na execução das técnicas bioquímicas;
- Ao Professor *ROBERTO SIMIONATO DE MORAES*, Professor Assistente Doutor do Departamento de Matemática e Estatística da Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiróz" pela programação e orientação estatística;

- À Senhora *IVANY DO CARMO GUIDOLIN GEROLA*, Bibliotecária Chefe da Faculdade de Odontologia de Piracicaba, pela revisão bibliográfica;
- Aos funcionários do Departamento de Biologia e Patologia Buco-Dental da Faculdade de Odontologia de Piracicaba, Srs. *FRANCISCO LAZARO A. DAS NEVES*, *CARLOS A. A. FELICIA NO*, pela colaboração técnica, Sr. *JOSE VITI*, pela confecção gráfica e Srta. *MARIA APARECIDA NALIN*, pela dedicação e presteza nos serviços datilográficos;
- Ao Senhor *SEBASTIÃO RODRIGUES DE BARROS* pelos serviços de impressão e encadernação;
- À todos aqueles que direta ou indiretamente possibilitaram a execução deste trabalho.

C O N T E Ú D O

CAPÍTULO I

1- INTRODUÇÃO	9
1.1- Proposição	15

CAPÍTULO II

2- REVISTA DA LITERATURA	17
2.1- Atividades Biológicas do Princípio Ativo das Glândulas Salivares (Parotin)	17
2.2- Papel das Glândulas Salivares e do Paro tin sobre a Glicemia	25
2.3- Diabetes Experimental	32
2.4- Consumo de Oxigênio e Incorporação da Glicose "In Vitro"	39

CAPÍTULO III

3- MATERIAL E MÉTODOS	44
3.1- Sequência do Estudo "In Vivo"	44
3.2- Produção de Ratos Diabéticos e seu Tratamento	47
3.3- Dosagens Glicêmicas	48
3.4- Sequência do Estudo "In Vitro"	50
3.5- Determinação do Consumo de Oxigênio por Manometria	51
3.6- Sistemas Experimentais Empregados	52
3.7- Tratamento Estatístico	54

CAPÍTULO IV

4- RESULTADOS	56
4.1- Estudo "In Vivo"	56
4.1.1- Dosagens Glicêmicas	56
4.2- Estudo "In Vitro"	74
4.2.1- Incorporação da Glicose	74
4.2.2- Consumo de Oxigênio	78

CAPÍTULO V

5- DISCUSSÃO	85
5.1- Estudo da Glicemia	85
5.2- Estudo "In Vitro"	96

CAPÍTULO VI

6. CONCLUSÕES	103
---------------------	-----

CAPÍTULO VII

7- REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	106
-------------------------------------	-----

CAPÍTULO VIII

8- RESUMO	128
-----------------	-----

APÊNDICE	131
----------------	-----

GRÁFICOS

TABELAS

C A P Í T U L O I

I N T R O D U Ç Ã O

1 - INTRODUÇÃO

A função das glândulas salivares como órgãos de secreção interna tem sido amplamente estudada por diversos pesquisadores.

O primeiro a propor uma possível atividade endócrina das glândulas salivares foi HARDIN (1886), quando observou que a dor provocada pela tumefação bilateral das parótidas, de uma paciente, diminuía durante o período de gestação.

FARRONI (1911) extraiu das parótidas bovinas, um fator de ação hipoglicemiante em coelhos, além de prevenir a glicosúria produzida por diversas drogas.

Posteriormente, UTIMURA (1927) e SEELIG (1928) sugeriram uma ação hipoglicemiante das glândulas parótidas de cães.

Embora alguns trabalhos já tivessem revelado uma possível função endócrina das glândulas salivares relacionada com o metabolismo de carboidratos (HIKI et alii 1929, 1930, 1932, 1933, 1934), somente em 1934, OGATA propôs a "Teoria Endócrina das Glândulas Salivares" demonstrando que as glândulas parótidas bovinas elaboram uma substância hormonal.

Sucessivamente, FUKUSHIMA (1940 e 1942) observou que a hipofunção das glândulas salivares determinava retardo no desenvolvimento da estrutura dos dentes incisivos de ratos e camundongos.

OGATA et alii (1944 e 1945) obtiveram das glân

dulas salivares de bovinos, uma substância proteica, solúvel em água com pH = 8,0 e precipitável em pH = 5,4. Essa substância, considerada como hormônio, que apresentava um efeito suplementar nos casos de deficiência das glândulas salivares, recebeu a denominação de Parotin.

Procurando explicar a teoria endócrina das glândulas salivares, os mesmos pesquisadores salientaram - que essas glândulas não são providas especificamente de um tecido endócrino, comparável, por exemplo, com as ilhotas de Langerhans do pâncreas. Sua função seria realizada pela reabsorção da saliva, a qual ocorreria nos túbulos estriados (Streifusteick, de Zimmermam) do sistema eferente da glândula salivar. Os túbulos estriados, situados entre os pequenos ductos do istmo, os quais estão diretamente conectados com os ácinos e os ductos eferentes verdadeiros, apresentam lúmen mais largo, quando comparados com outras porções do sistema. Os túbulos estriados teriam a função de um reservatório, onde a saliva é temporariamente retida antes de ser excretada para a cavidade oral. A camada epitelial dos túbulos estriados não estaria fixada sobre a membrana basal, mas exposta livremente, circundada pelo espaço linfático. Assim, a camada epitelial poderia estar internamente em contacto com a saliva e externamente com a linfa.

O citoplasma das células epiteliais dos túbulos estriados é provido de um sistema granular relacionado com a secreção e de um sistema canalicular, com função de reabsorção.

O sistema granular assemelha-se com o epitélio dos túbulos renais principais. As mitocôndrias que estão dis-

postas longitudinalmente na base das células e vistas como grânulos de secreção, estão distribuídas sobre o núcleo e o citoplasma (YUASA, 1940). Este sistema passa por marcadas alterações durante o processo de secreção. A ação secretória desses túbulos tem sido conhecida há muitos anos com distintos nomes, como "Speichelrohr" (PFLÜGER) ou "Sekretrohr" (STÖHA) propostos para designar esta especial função.

A atividade de reabsorção dos túbulos estriados, ficou demonstrada nas experiências de YUASA (1940 e 1941), que injetando uma solução de albumina de ovo com corante, no ducto eferente da glândula salivar de cães, sob baixa pressão, verificou através da titulação de antígeno, que após 10 minutos, a albumina já se encontrava no sangue. Essas observações provam que o poder de reabsorção dos túbulos estriados é rápido e ativo. Essas experiências foram repetidas e acredita-se que a saliva é reabsorvida como um todo nos túbulos estriados, sofrendo aí, algumas modificações. Assim a saliva, reabsorvida para dentro das células epiteliais, que apresenta ação específica de reabsorção, é primeiramente atraída para os espaços linfáticos circundantes dos túbulos estriados e então é impelida para o sangue.

O princípio ativo no trato digestivo é inteiramente inativo, mas quando encontrado no sangue após sua reabsorção, exibe sua verdadeira função de hormônio. Desse modo, esse hormônio é indispensável no desenvolvimento e nutrição do sistema esquelético, particularmente dos tecidos cartilaginosos e ósseos, e para prevenir algumas alterações específicas que poderiam aparecer também nas estruturas dentais (ISHII, 1943).

Posteriormente, OGATA et alii (1944), ITO &

MIZUTANI (1952) e ITO (1954 e 1960) cristalizaram e descreveram as propriedades físico-químicas do Parotin. Trata-se de uma proteína, constituída de 17 aminoácidos:- glicina, alanina, valina, leucina, fenilalanina, tirosina, ácido aspártico, ácido glutâmico, lisina, arginina, histidina, cistina, metionina, serina, treonina, triptofano e prolina. Ainda é composto de C, 50,84; H, 7,31; N, 14,53; P, 0,06; S, 0,77, contendo uma constante de sedimentação de $3,81 \times 10^{-15}$ (cm/sec); constante de difusão de $2,84 \times 10^{-7}$ cm²/sec; viscosidade específica 0,428; peso molecular calculado em 128.000 e um ponto isoelétrico de pH = 5,7.

Segundo TAKIZAWA (1954), OGATA (1955) e ITO (1960) as glândulas parótidas seriam a principal fonte do "hormônio salivar (Parotin)", discretamente auxiliadas pelas submandibulares, sendo que as glândulas sub-linguais não participariam desta função.

Subsequentemente, foram isoladas das glândulas submandibulares de bovinos, equinos e suínos, da saliva humana e da urina humana e de cobaias, substâncias semelhantes ao Parotin (Parotinlike), que receberam respectivamente, as denominações de S-Parotin, saliva Parotin-A e Uroparotin.

O Parotin e as substâncias semelhantes, são proteínas naturais que apresentam diversas atividades biológicas.

Outras investigações tem demonstrado a existência de outros princípios ativos das glândulas salivares.

Assim, COHEN (1960) isolou um fator de crescimento nervoso (NGF) do extrato de glândulas submandibulares de camundongos, que seletivamente estimula o crescimento e

a diferenciação das células nervosas sensoriais e simpáticas. O mesmo COHEN (1962) isolou também das glândulas submandibulares, um outro polipeptídeo, que denominou de fator de crescimento epidermal (EGF), que acelera a erupção dos dentes incisivos de ratos recém-nascidos. Essas observações foram confirmadas por ANGELETTI, LEVI MONTALCIN & CALISSANO (1968).

Dentre outros princípios ativos isolados das glândulas salivares, observa-se o fator de crescimento das células cardíacas (BAST & MILLS, 1963), fator de crescimento de células do tubo neural (ADLER & NARBAITZ, 1965) e um fator que estimula o crescimento de células mesenquimais e que causa diferenciação do tecido muscular e cartilaginoso (ATTARDI, SCHLESINGER & SCHLESINGER, 1967).

TAKEDA et alii (1967) identificaram das glândulas submandibulares de camundongos machos, uma substância que promove a linfopenia e atrofia do tecido linfóide.

HOSHINO & LIN (1968 e 1969) descreveram a existência de um fator letal das glândulas submandibulares de camundongos machos que era liberado quando se transplantavam essas glândulas para um hospedeiro. A atividade do fator letal está diretamente relacionada com o sexo masculino e é influenciada por andrógenos.

A existência de um fator hemorrágico foi verificado em transplantes subcutâneos de glândulas submandibulares em camundongos, que promoveu também hematoma local e intensa hemorragia sistêmica (LIN & HOSHINO, 1969).

Mais recentemente, BARKA (1973) purificou parcialmente, das glândulas salivares de camundongos de ambos

os sexos, uma proteína com ação supressora da mitose celular.

LAWRENCE et alii (1977) isolaram um fator hiperglicemiante existente nas glândulas submandibulares de ratos, camundongos e coelhos, que denominaram de "glucagon salivar", com um peso molecular de aproximadamente 70.000 . Injeção endovenosa desse fator promove um efeito comparável ao obtido pela administração de glucagon pancreático.

ARRUDA VEIGA (1979) isolou um peptídeo do extrato de glândulas submandibulares de camundongos machos - que quando injetado subcutaneamente provoca poliúria e albuminúria e uma série de alterações nas estruturas renais.

Como se pode observar, os resultados desses inúmeros trabalhos, reforçam e suportam as prévias especulações sobre o possível papel endócrino das glândulas salivares.

1.1 - PROPOSIÇÃO

Apesar da existência de inúmeras pesquisas , que contribuíram, efetivamente, para o conhecimento da função das glândulas salivares, tanto como órgão de secreção externa quanto da secreção de substâncias biologicamente ativas e de sua interação com glândulas endócrinas, encontra-se acentuadas discrepâncias quanto a participação dessas glândulas no metabolismo de carboidratos.

Desse modo, propusemo-nos a:-

a) Determinar a curva glicêmica em animais-normais e diabéticos experimentais controles e diabéticos experimentais tratados com diferentes concentrações de Parotin e Insulina;

b) Avaliar a ação do Parotin e da Insulina sobre a incorporação de glicose e o consumo de oxigênio pelo epidídimo de ratos normais e de diabéticos experimentais.

C A P Í T U L O I I

REVISTA DA LITERATURA

2 - REVISTA DA LITERATURA

2.1 - Atividades Biológicas do Princípio Ativo das Glândulas Salivares (Parotin)

O conhecimento das propriedades físico-químicas do princípio ativo das glândulas salivares, denominado de Parotin (ITO & MIZUTAMI, 1952) passou a atrair a atenção de numerosos pesquisadores, no sentido de estudarem as suas possíveis atividades biológicas.

Desse modo, TAKAOKA (1952) constatou que injeções de Parotin na dose de 10 mg/kg de peso corporal, promovia em ratos intactos, uma diminuição rápida de leucócitos-circulantes durante as 2 ou 3 primeiras horas, e em ratos a drenalectomizados, um marcado aumento, que durava até 24 horas após a sua administração. A conclusão de que o Parotin deve atuar diretamente na função hematopoiética da medula, foi confirmada por TASAKA (1953), que observou por injeção endovenosa de 25 mg de Parotin em coelhos, uma transitória-diminuição seguido de um acentuado aumento do número de leucócitos durante um período de 12 horas.

SATO (1953) estudando o efeito do extrato de parótida sobre a calcificação da dentina de coelhos, determinou que a dose mínima efetiva do Parotin, via endovenosa era de 0,3 mg/kg de peso e 3 mg/kg de peso, via subcutânea. Doses maiores como 3 mg/kg de peso pela via endovenosa e 5 mg/kg de peso via subcutânea, causavam não só a inibição da calcificação e deteriorização da dentina, como também diminuíam o seu crescimento.

Essas observações foram posteriormente confirmadas tanto para o Parotin quanto para o Saliva Parotin-A (ITO & OKABE, 1959).

MORI (1953) estudando o efeito do Parotin sobre o desenvolvimento geral e ósseo, observou que após a administração de baixas doses desta substância, além de promover um maior crescimento, corrigia o desenvolvimento imperfeito do embrião de galinha.

SASAKI (1953), OKUDAIRA (1954) e ITO, TSURUFUKI & KUBOTA (1954) realizando, em ratos, estudos sobre a ação do Parotin na ossificação, verificaram um aumento da calcificação e um crescimento acelerado dos tecidos cartilaginosos das epífises da tíbia, articulação, septo nasal e osso alveolar.

TAKIZAWA (1954), descreve a eficácia do Parotin em manter a proliferação das fibras elásticas da aorta, pele e certos tecidos mesenquimais como sistema retículo endotelial, tecido conjuntivo e órgãos hematopoiéticos.

Procurando analisar a atividade do Parotin no crescimento longitudinal do fêmur e a deposição de cálcio em embrião de galinha, ITQ & ENDO (1956), demonstraram que efetivamente, o Parotin promove o crescimento e a deposição de cálcio no osso, sugerindo que esse princípio ativo poderia estimular diretamente o desenvolvimento dos tecidos duros "In Vivo".

As experiências de KONO (1955), NARITA (1955), AKITA (1956) e IMAGAWA (1957), sugerem que, em ratos, o Parotin acelera a maturação do tecido cicatricial. Por outro lado, BRACCINI & SIERVO (1962), ao estudarem o processo de

reparo de feridas cutâneas, em ratos tratados com Parotin, chegaram a resultados opostos.

FLEMING (1959) estudando a ação do Parotin sobre o crescimento do fêmur e incisivos de camundongos, relatou que a zona secretora de esmalte dos incisivos apresentava as seguintes alterações:- 1- aparecimento de grânulos no citoplasma; 2- distorção dos processos ameloblásticos de Thomes; 3- deficiências nos ameloblastos em secretar proteínas ordenadamente; 4- distorção da matriz proteica recentemente formada e 5- marcado aumento na vascularização da área. Quanto às alterações na zona de crescimento do fêmur, encontraram:- 1- diminuição na proliferação de células cartilaginosas; 2- modificação morfológica das células cartilaginosas; 3- intensa proliferação de osteóides e 4- aumento do número de vasos sanguíneos e de células. Essas alterações foram obtidas com 10 injeções intramusculares de 0,15 ou 0,30 mg/kg de peso a cada 3 dias. Entretanto, ITO (1960) descreve que doses menores de Parotin, 0,3 mg/kg de peso corporal, via endovenosa, em ratos e coelhos, resulta num aumento da calcificação dos incisivos, aceleração do crescimento do pêlo e hipertrofia da córtex da adrenal, enquanto que doses 10 vezes maiores levam a efeitos opostos.

Alterações no esmalte, no desenvolvimento ósseo, nos ovários e testículos de camundongos, após a administração do Parotin, também foram descritas por FLEMING (1960) e confirmados por LAZARUS & SHEPHERD (1969).

TANAKA & ITO (1958), procurando verificar "In Vivo" a distribuição, localização e degradação do Parotin, injetaram em ratos, via endovenosa, Parotin radioativo, mar

cado com I^{131} , numa concentração de 0,5 mg/100 g de peso corporal. A medida e localização da radioatividade foram determinadas no sangue, vesícula seminal, próstata, adrenais, tireóide, hipófise, testículos, rins, baço, fígado, timo, pâncreas, músculos, epífises e diáfises do fêmur, em intervalos de 5, 20, 60 e 180 minutos após a sua administração. Excluindo a tireóide, que acumulou iodeto inorgânico livre do Parotin marcado, as maiores amostras de radioatividade foram encontradas no fígado, rins e baço e em menor escala nos outros órgãos estudados.

Quanto ao metabolismo mineral, ITO (1960) comprovou que o Parotin baixou marcadamente o nível de cálcio não ionizável, em cobaias, cães e humanos mas não a fração do íon cálcio do soro. Além disso observou que, embora o Parotin aumentasse o nível de magnésio sérico, o nível de fosfato do soro não era afetado. O cloreto de sódio e potássio aumentaram transitoriamente, enquanto que na urina esses íons diminuíram durante o efeito do Parotin.

Por outro lado, com relação ao metabolismo proteico ITO & TSURUFUJI (1953) encontraram uma acentuada diminuição das proteínas totais do soro de coelho, após a administração do Parotin.

Subsequentemente, YAMAGUCHI (1954) observou em coelhos e cães, que três meses após a remoção das glândulas parótidas e submandibulares, a amostra total de proteínas no soro tinha aumentado consideravelmente; que a relação A/G era menor que aquelas dos animais normais enquanto que a administração do Parotin nos animais causava uma acentuada diminuição das proteínas séricas e um aumento da relação

A/G. Ainda esses mesmos investigadores descrevem que, injeções intraperitoneais de Parotin em cobaias, diminui marcamente a quantidade de nitrogênio comparada à excreção de creatina pela urina, como também o nível de cálcio e potássio no soro.

YUASA et alii (1955) observaram que o consumo de oxigênio de homogeneizado de fígado de rato aumentava durante o período de 6 horas após a administração de Parotin, e que o referido aumento era inibido em presença de ácido malônico. Desses resultados, concluíram que o Parotin acelerou primeiro o processo oxidativo do ciclo do ácido tricarbóxico e em seguida a fosforilação oxidativa.

YUASA (1957) observou que a relação entre o consumo de O_2 e a síntese de ATP do homogeneizado de fígado de rato era aumentada durante 6 horas após a injeção de Parotin. Afirmou ainda, que o Parotin não afeta a atividade da fosfatase alcalina no fígado, mas diminui a atividade da mesma no soro. Entretanto, encontrou maior atividade da transaminase no fígado e coração, e da catepsina no fígado, concluindo que o Parotin promove a síntese de proteínas "In Vivo".

SASE (1958) verificou que o Parotin aumentou a relação P/O da mitocôndria de hamster e que o mesmo atua anabolicamente no metabolismo proteico e inibe o seu catabolismo causado pela ação da tiroxina.

Quanto ao metabolismo lipídico, ARAI & YAGI (1958) observaram que o Parotin regula a relação entre o colesterol livre e colesterol esterificado, como também a relação do colesterol total e fosfolipídios do soro. Após a

administração de uma única dose de 1 a 6 mg de Parotin em coelho, o nível de colesterol aumentou no sangue durante as primeiras 24 horas, diminuindo abaixo dos valores iniciais após alguns dias, enquanto que a taxa de fosfolipídios do soro aumentou acentuadamente. Entretanto, na hipercolesterolemia experimental em coelhos, o colesterol total não só diminuiu como retornou a valores abaixo dos fisiológicos durante uma semana após a administração do Parotin.

ITO (1960) através de uma extensa revisão, confirmou que o Parotin e as substâncias semelhantes (Parotin-like) encontradas na saliva, glândulas submandibulares e urina, são biologicamente ativas; diminuem o nível de cálcio sérico em cobaias, diminuem e subsequentemente aumentam o número de leucócitos circulantes e promovem a calcificação da dentina dos incisivos. Além disso o Parotin tem sido, eficazmente, usado em humanos nas enfermidades primárias resultantes das condrodistrofias fetais, Kaschin-Beck's, artrites deformantes, espongilites e doenças periodontais.

CHAUNCEY et alii (1963), analisando o efeito parcial da dessalivação e da administração do Parotin sobre a cartilagem epifisária do fêmur de hamster, verificaram que a dessalivação induz alterações morfológicas da cartilagem epifisária do fêmur, com predominância da zona de multiplicação celular e estreitamento da placa epifisária, e que essas alterações são prevenidas pela administração do Parotin, enquanto que nos animais intactos o mesmo não tem efeito.

OSORIO & KRAEMER (1964) observaram que a administração sub-cutânea de Parotin em camundongos nas doses de 0,15 mg uma vez cada 4 dias, durante 5 semanas, aumentou

significativamente o peso corporal desses animais e apesar de ainda não ser conhecido o seu mecanismo de ação, aventaram a possibilidade de numa influência direta do Parotin sobre os centros de crescimento ou indireta através das glândulas endócrinas.

ITO, MORIWAKI & MORIYA (1965) comparando os efeitos da administração oral e sub-cutânea de Saliva Parotin-A (S.P.A.) sobre a morfologia das epífises ósseas e córtex adrenais de ratos sialoadenectomizados e submetidos à cirurgia simulada verificaram que os animais sialoadenectomizados do grupo controle que receberam solução salina, mostraram uma redução da largura da placa cartilaginosa e uma atrofia das epífises da tibia, 3 semanas após a extirpação. Entretanto, tanto os animais sialoadenectomizados que receberam injeções sub-cutâneas de 0,03 mg quanto os que receberam 3,0 mg/100 g de peso corporal, via oral, não revelaram as mesmas alterações do grupo controle, apresentando crescimento semelhante àquele encontrado nos animais submetidos à cirurgia simulada. Por outro lado, os ratos que receberam 0,6 mg/100 g de peso corporal de S.P.A., via oral mostraram o mesmo retardo ocorrido no grupo controle.

OSORIO & KRAEMER (1965) estudando o efeito da administração do Parotin sobre o peso corporal de ratos sialoadenectomizados, demonstraram que o aumento de peso nesses animais pode ser conseguido por um efeito estimulador do Parotin e que a ausência das glândulas salivares pode levar a profundas modificações da absorção e utilização dos alimentos.

CHATELUT et alii (1970) analisando os efeitos -

da ligadura dos ductos excretores, ablação das glândulas submandibulares e da administração do Parotin sobre o crescimento ponderal de ratos jovens, verificaram que a sialoadenectomia e a ligadura retardava o crescimento e que injeções de Parotin, numa concentração de 0,15 mg a 0,30mg cada 2 dias são incapazes de restabelecer o crescimento normal. Por outro lado, o Parotin foi efetivo sobre o pêso da hipófise e próstata.

Mais recentemente, TEIXEIRA et alii (1976) verificando os efeitos do Parotin e da sialoadenectomia sobre o desenvolvimento do tecido de granulação de ratos, notaram que a ausência das glândulas submandibulares e sublinguais produziu um atraso no desenvolvimento do tecido. Esse efeito foi parcialmente inibido com uma dose de 0,15 mg de Parotin injetado intraperitonealmente e totalmente eliminado pela administração de 0,30 mg. Quando foi administrado 0,30mg em ratos normais, verificou-se um aumento dos fibroblastos e da vascularização do tecido de granulação, enquanto que a dose de 0,15 mg não causou diferenças significativas quando comparados com os tecidos contrôles.

2.2 - Papel das Glândulas Salivares e do Parotín sobre a Glicemia

A relação entre as glândulas salivares e o me^{ta}bolismo de carboidratos, particularmente ligado à regula^{ção} da glicemia, tem sido proposta por diversos pesquisado^{res}.

FERRANNINI (1911) e FARRONI (1911) descreveram um caso de "Diabetes Salivar", no qual o paciente sofria de excessivo fluxo de saliva que continha dextrose. Poste^{ri}ormente verificaram que a glicosúria alternava e substi^{tu}ia a glicossialorréia, sugerindo uma possível relação re^{ci}proca entre glândulas salivares e pâncreas.

A seguir, os estudos desses pesquisadores mos^{tr}aram que o extrato das glândulas salivares de bovinos e^xercia ações hipoglicemiantes em coelhos, prevenindo ou controlando a glicosúria seguida da administração de epine^{fr}ina e morfina. Baseados nesses dados, os autores postula^{ra}m a ação endócrina das glândulas salivares análogas àque^{las} do pâncreas.

Essas afirmativas tornaram-se, aparentemente, insignificantes, quando GOLJANITZKI (1924) não confirmou os resultados de FERRANNINI & FARRONI, concluindo que a re^{mo}ção das glândulas parótidas e submandibulares de coelhos induzia a rápido edema, glicosúria e morte. O mesmo autor verificou que a ligação dos ductos da parótida prevenia a glicosúria devido à epinefrina e não trazia resultados be^{ne}fícios em pacientes diabéticos.

Entretanto, MANSFELD & SZIRTES (1928) verificando que a ligação da parte exócrina do pâncreas aumentava a produção de insulina, deduziram que a obstrução da secreção externa resultava em aumento da secreção interna. Esses resultados, acrescidos ao fato de que as glândulas de secreção interna são onto e filogeneticamente, glândulas de secreção externa, as quais podem desenvolver funções endócrinas quando perdem seus ductos, demonstram a possibilidade de uma glândula de secreção externa ser convertida em glândula de secreção interna pela perda de seus ductos excretores. Considerando ainda que as glândulas salivares se assemelham embriológica e morfológicamente com o pâncreas e desde que ambas estão relacionadas com a digestão de carboidratos, sugeriram que a ligação dos seus ductos poderia converte-la então em glândula endócrina, com a secreção de uma substância semelhante a insulina. Desse modo, ligaram os ductos da parótida de cães e verificaram que o nível sanguineo da glicose foi diminuído. Após a ligação, extirparam as glândulas e o nível de açúcar voltou aos seus valores do pré-operatório. Posteriormente, notaram que cães pancreatectomizados e com os ductos das parótidas ligados, o diabetes poderia ser controlado. A total extirpação do pâncreas em um animal no qual o ducto da parótida estava ligado, produziu grave diabetes como ocorre nos animais normais. Concluiram então que a ação era indireta ou seja, as glândulas parótidas estavam produzindo uma substância que estimulava o pâncreas para aumentar a sua função.

UTIMURA (1927), SEELIG (1928) e De TAKÁTS(1930) além de confirmar os dados de MANSFELD & SZIRTES, descrevem

uma série de casos, onde os sintomas clínicos do diabetes foram melhorados, após a ligação de ductos das glândulas parótidas.

ZIMMERMAN (1932) determinando em cães, curva de tolerância à glicose, antes e após a ligadura dos ductos, confirmou que as glândulas parótidas exercem alguma influência, até o momento não conhecida, no controle do metabolismo de carboidratos, e que a ligadura dos ductos resultou num aumento da tolerância à glicose.

Os primeiros trabalhos de HIKI et alii (1930, 1932, 1933, 1934) e de OGATA (1934) já sugeriram uma eventual relação entre a secreção interna das glândulas salivares e o metabolismo de carboidratos, os quais usando cães sialoadenectomizados, observaram a parada de absorção de saliva para o sangue e a tendência de forte hipoglicemia com aumento da tolerância à glicose. Opostamente, em hipersialoadenismo, um excesso de saliva era encontrado, com alta taxa de glicose no sangue e a tolerância à glicose diminuída.

AUNAP (1931) descreveu a correção da hiperglicemia de cães pancreatectomizados após a parotidectomia.

ROSENFELD (1933) confirmou que a hipoglicemia subsequente à ligadura dos ductos da parótida era, presumivelmente, induzida mais pela absorção da amilase ou ptialina, do que em decorrência de uma secreção interna de uma substância semelhante à insulina.

Por outro lado, FERRETI (1936) e DOBREFF (1936) afirmaram que a hipertrofia das glândulas parótidas de diabéticos poderia ser um mecanismo compensador, isto é, as parótidas assumiriam as funções do pâncreas na elaboração da

insulina.

Opostamente, BIRNKRANT (1941) e BIRNKRANT & SHAPIRO (1942) observaram uma diminuição temporária da glicemia em ratos parotidectomizados. Todavia, a ligadura dos ductos das glândulas parótidas induzia um aumento da taxa glicêmica. Posteriormente, analisando a influência do extrato de parótidas na glicemia e nas estruturas do pâncreas do mesmo animal, observaram que administrações repetidas deste extrato, produzia invariavelmente, além de uma hiperglicemia, alterações degenerativas das ilhotas de Langerhans. Estes autores concluíram que as glândulas parótidas devem elaborar uma substância que atua antagonicamente à ação da insulina.

A ausência das glândulas parótidas em ratos e camundongos não revelou alterações do nível glicêmico, indicando que nesses animais essas glândulas não desempenham papel significativo relacionado com o metabolismo de carboidratos (GAULT, 1954).

AONUMA & YOSHIMURA (1954) observaram uma diminuição dos níveis séricos de fosfato e piruvato, após a administração do Parotin em coelhos.

Ainda, no que se refere a interrelação entre glândulas salivares e pâncreas, TAKIZAWA (1954) e OGATA (1955) notaram que a ausência das parótidas e submandibulares induzia à uma hiperplasia das células beta do pâncreas.

TADOKORO et alii (1955) verificaram que a curva de tolerância à glicose de cães, foi aumentada pela administração do Parotin seguida da ingestão de glicose.

HILL et alii (1955) obtiveram de glândulas pa

rótidas bovinas, um fator hiperglicemiante e extremamente ativo em ratos.

A administração de um extrato de glândulas parótidas com ação anti-insulínica, provocou um prolongado estado hiperglicêmico. Com o mesmo extrato, foi obtido um aumento estável do nível glicêmico em pacientes portadores de hiperinsulinismo (PARHOM, BABES & PETREA, 1957).

Após a ablação bilateral das glândulas submandibulares e sublinguais de cães (GODLOWSKI & CALANDRA, - 1960), observaram um significativo aumento da sensibilidade à insulina e uma diminuição da tolerância à glicose com aumento da sua utilização. Resultados similares foram obtidos após a ligadura bilateral dos ductos excretores dessas glândulas em outro grupo de animais, nos quais ocorreu atrofia das glândulas submandibulares e sublinguais. Estes autores concluíram então, que as glândulas submandibulares e sublinguais produzem um fator inibidor da insulina.

GODLOWSKI (1962), além de confirmar a existência desse fator, notou que o efeito hipoglicêmico da tolbutamida (orinase) foi completamente abolido em cães nos quais as glândulas submandibulares e o trato gastrointestinal foram removidos, postulando a existência nesses órgãos, de células mediadoras da ação hipoglicêmica da tolbutamida.

HALMOS & SOMOGYI (1962) enfatizaram um sinergismo entre pâncreas e glândulas salivares, evidenciando a presença de uma hipertrofia compensadora das parótidas ao curso de hipofunções das ilhotas de Langerhans.

FLEMING (1962) observou que administração intramuscular de Parotin em camundongos normais, numa concen

tração de 0,30 mg cada 3 dias, num total de 10 injeções, durante um período de 24 a 30 dias, promoveu alterações - tanto no pâncreas exócrino, quanto no endócrino. Tais modificações foram mais evidentes nas ilhotas de Langerhans que se mostraram hiperplásicas e hipertróficas. Quanto ao nível glicêmico, notou uma acentuada diminuição, apesar do aumento da vascularidade e do número de células das adrenais.

GODLOWSKI (1968) e GODLOWSKI, GAZDA & WITHERS- (1971) procurando verificar o papel das glândulas submandibulares na homeostase da insulina, observaram através dos testes de tolerância à insulina e à glicose que a remoção das referidas glândulas em cães, levava a um aumento da ação da insulina e conseqüentemente, rápida remoção da glicose do sangue. Extratos dessas glândulas, dializados e fracionados eletroforéticamente e injetados endovenosamente, causaram inibição da ação insulínica. Esses experimentos também foram testados em seres humanos portadores de diabetes melito e, em três casos, encontraram completa remissão das manifestações clínicas do diabetes e retorno da tolerância à glicose dentro dos padrões normais, confirmando a existência de um fator inibidor da insulina produzido pelas glândulas submandibulares.

Comprovando os resultados anteriores, onde se postula a estreita relação entre a hipertrofia e hiperplasia das glândulas parótidas e diabetes, DAVIDSON, LEIBEL & BERRIS (1969) reconheceram que o aumento das glândulas parótidas precedem, em inúmeros casos, o diabetes e sugeriram que o teste de tolerância à glicose deve ser realizado,

rotineiramente, em todos os pacientes com aumento assintomático das glândulas parótidas.

DEMETRIOU et alii (1970) observaram relativa ausência ou poucas ilhotas de Langerhans em ratos salivariadectomizados. Relatou também uma predominância de eosinófilos nas ilhotas dos animais operados.

Entretanto, GARCIA, BLACKARD & TRAIL (1971) e STEINBERG & GWINUP (1972) propondo-se a estudar o efeito da extirpação bilateral das glândulas submandibulares em cães e sua eventual relação com as respostas glicêmicas, associadas às atividades da insulina, concluíram que o papel destas glândulas na patogênese e magnitude do diabetes melito é obscuro; todavia, preconizam que a atividade dessas glândulas pode ser uma forma de diagnosticar diferentes tipos de diabetes.

HOSHINO et alii (1976) procurando analisar os efeitos da ligação bilateral dos ductos salivares, sobre a glicemia de camundongos diabéticos experimentais, concluíram que o efeito hipoglicêmico foi mais acentuado e significativo somente quando ambos os ductos, parótida e submandibular, eram simultaneamente ligados; esses resultados foram interpretados como consequência da ausência do fator inibidor da insulina.

Mais recentemente, GUIMARÃES et alii (1979) propondo-se a verificar os efeitos da parotidectomia sobre o nível glicêmico e o teor de glicogênio hepático em ratos jovens, notaram que a ausência dessas glândulas promove um significativo aumento da glicemia com consequente diminuição do teor do glicogênio hepático.

2.3 - Diabetes Experimental

A descoberta da ação diabetogênica da aloxana permitiu uma série de estudos fisiopatológicos e patogênicos do diabetes melito.

O primeiro trabalho destinado a mostrar algumas propriedades biológicas da aloxana se deve a JACOBS (1937) que verificou em coelhos o aparecimento de hiperglicemia seguida de hipoglicemia transitória entre 3 e 8 horas após a administração endovenosa da aloxana.

A seguir, DUNN, SHEERHAN & McLETCHIE (1943) e DUNN e McLETCHIE (1943) demonstraram que a aloxana determinava, em coelhos e ratos, uma seletiva e maciça necrose das ilhotas de Langerhans do pâncreas.

Outras informações foram obtidas por GOMORI & GOLDNER (1943) e GOLDNER & GOMORI (1943) que induziram diabetes, respectivamente em ratos e cães, através de injeções intraperitoneais e endovenosas de aloxana em doses únicas. As alterações histológicas observadas foram necrose e desaparecimento completo das células beta, vacuolização do epitélio do ducto pancreático e trocas gordurosas no fígado, acarretando hiperglicemias mais acentuadas em coelhos e ratos (300 - 600 mg%). Esses dados são concordantes com aqueles obtidos por DUNN et alii (1943).

A administração da aloxana em coelhos, apresenta uma fase hipoglicêmica, e uma segunda e mais duradoura fase hiperglicêmica, análoga àquela encontrada no diabetes me

lito humano, com glicosúria, cetonúria e hiperlipemia - (BAILEY & BAILEY, 1943).

HARD & CARR (1944) estudando o diabetes experimental produzido pela aloxana em coelhos, concluíram que a administração de uma única dose (100 mg/kg de peso) é suficiente para produzir um diabetes pancreático, com hiperglicemia bastante acentuada durante semanas.

Por outro lado, LACKEY et alii (1944) confirmaram que a administração de grandes doses de aloxana, frequentemente, promove morte tóxica, com lesão renal e/ou hepática, enquanto, doses menores esporadicamente, produzem hiperglicemia crônica. Observaram ainda que 60% dos ratos injetados intraperitonealmente com 200 mg/kg de peso, desenvolveram moderado diabetes, enquanto os 40% restantes morreram durante as primeiras 72 horas, sem se tornarem diabéticos.

A probabilidade de êxito na obtenção do diabetes com hiperglicemia crônica em ratos, é muito maior quando a aloxana é administrada ao animal em jejum (KASS & WAISBREN, 1945).

Quase todas as espécies animais são sensíveis à ação diabetogênica da aloxana. Todavia, a sensibilidade varia com a dieta (MARTINEZ, 1945); com o peso corporal (BRUCKMANN, 1946); com a espécie animal e com a via de aplicação (LUKENS, 1948).

Segundo HOUSSAY, BRIGNONE & MAZOCCO (1946), a sintomatologia do animal aloxanizado apresenta 3 fases distintas:- a primeira, muito rápida, evidenciado por hiperglicemia devido à ação direta da aloxana no fígado; a se

gunda, também bastante rápida, caracterizada por hipoglicemia, devido à incapacidade do fígado em fornecer glicose para a corrente sanguínea e a terceira, frequentemente mais duradoura, onde a hiperglicemia é predominante devido às lesões produzidas nas células beta.

LAZAROW & PALAY (1946) utilizaram monoidrato de aloxana em solução aquosa (2 a 5%) e injetaram via endovenosa, doses que variaram de 15 a 200 mg/kg de peso e intraperitonealmente doses de 50 a 200 mg/kg de peso. Determinaram o nível de açúcar no sangue nos intervalos de tempo de 0, 3, 8, 24, 48 e 72 horas e concluíram que uma única injeção endovenosa de aloxana na concentração de 40 mg/kg de peso foi mais efetiva, resultando um diabetes mais uniforme, permitindo acompanhá-lo durante várias semanas, sem significantes lesões renais, com os níveis glicêmicos entre 400 e 600 mg% e total destruição das células beta.

A necrose total das ilhotas de Langerhans se completa em dois dias, e a reabsorção das regiões degeneradas termina após o 4º dia (CAVALLERO, 1947).

A dose ótima de aloxana na produção de hiperglicemia em camundongos é de 100 mg/kg de peso corporal, administrada diretamente na veia (WAISBREN, 1948).

Entretanto, RUANGSIRI (1949) afirma que a aloxana provoca lesões já na primeira meia hora após a administração, e já na primeira manifestação se observa um contínuo desaparecimento das granulações do citoplasma das células beta, que se estende até 12 horas. Esse período é denominado de período das degenerações hidrópicas. As modificações nucleares aparecem após 3 horas e, após 8 ou 9 horas,

os núcleos encontram-se totalmente fragmentados, quando tem início a remoção dos restos celulares através dos macrófagos que invadem a área. Como efeitos colaterais, o mesmo autor observou que a aloxana provoca poliúria, polidipsia, polifagia e glicosúria.

BEACH, BRADSHAW & CULLIMORE (1956) realizaram um estudo comparativo do diabetes aloxânico entre os ratos Osborne-Mendel e ratos albino Wistar e concluíram que os primeiros diferem por apresentar maior susceptibilidade à aloxana; ausência de severas respostas hipoglicêmicas durante as primeiras 48 horas após a sua administração; maior susceptibilidade dos machos à cetonúria; níveis sanguíneos de glicose mais elevados em jejum e curvas de tolerância à glicose mais elevadas e prolongadas.

Diabetes temporários foram produzidos em camundongos por injeções endovenosas de aloxana (75 mg/kg de pêso corporal). As células beta eram degranuladas dentro das 6 horas, mas as alterações das microcirculações com lesões de células beta não apareceram dentro das 24 horas. O total do número de ilhotas foi marcadamente diminuído após uma semana e já na 2ª semana verificou-se uma proliferação celular dos ductos e das ilhotas, com diminuição da glicose sanguínea. Embora não houvesse uma restauração completa das células das ilhotas, o nível glicêmico voltou aos índices normais (BUNNAG, WARNER & BUNNAG, 1967).

SOLOMON, BULKLEY & MAYER (1974) observaram, em camundongos, que a administração intraperitoneal de uma única dose de aloxana numa concentração de 170 mg/kg de pêso corporal, induzia uma hipoglicemia por volta da vigési-

ma hora após a administração e que a glicosúria e hiperglicemia (400 a 500 mg%) apareciam 48 horas após, persistindo por um período de 176 dias.

Outra substância diabetogênica que tem sido utilizada recentemente, é o antibiótico Estreptozotocina - (N-metilnitroso carbamilglucosamina) derivado do Streptomyces achromogenes.

Os primeiros a demonstrar que a referida droga provoca a destruição seletiva das células beta do pâncreas com produção de diabetes permanente foram RAKIETEN, RAKIETEN & NADKARNI, (1963).

EVANS et alii (1965) e ARISON et alii (1967) estudando a atividade hiperglicêmica, o mecanismo de ação e as lesões provocadas pelo Streptozotocin, chegaram à conclusão que este agente diabetogênico promove somente a degranulação das células beta sem necrose.

Por outro lado, JUNOD et alii (1967) demonstraram, em ratos, que a sua ação diabetogênica resulta, primariamente, da sua ação citotóxica específica nas células beta das ilhotas de Langerhans do pâncreas, com rápida e irreversível necrose, sugerindo que a intensidade da lesão das células beta pode ser graduada de acordo com a dosagem.

JUNOD et alii (1969) descreveram com detalhes a relação entre a dosagem do Streptozotocin (doses de 25 a 100 mg/kg de peso corporal) e as alterações metabólicas, incluindo os níveis glicêmicos e os níveis da insulina imunorreativa do soro. Os seus resultados demonstraram a alta especificidade do Streptozotocin sobre as células beta com a manutenção da hiperglicemia durante os 28 dias estudados,

exibindo características semelhantes ao estado diabético do humano, podendo o mesmo servir como modelo de estudo. Verificaram ainda, que após a administração do Streptozotocin, os animais apresentavam, a semelhança da aloxana, tres fases glicêmicas:- 1) hiperglicemia; 2) profunda hiperglicemia resultante da liberação da insulina e finalmente um estado diabétogênico irreversível, instalado 24 horas após a administração.

A especificidade do Streptozotocin pelas células beta causando seletiva necrose foi confirmada por BROSKY & LOGOTHETOPOULOS (1969); PITKIN & REYNOLDS (1970); STAUFFACHER et alii (1970) e VELEMINSKY, BURR & STAUFFACHER (1970).

MANSFORD & OPIE (1968) realizaram estudo comparativo entre a ação diabetogênica do Streptozotocin e aloxana e verificaram que o mesmo difere da aloxana nos seguintes itens:- a) hiperglicemia sem cetose; b) níveis normais de ácidos graxos livres na corrente sanguínea e c) níveis normais de intermediários glicolíticos no músculo cardíaco.

Não obstante outros pesquisadores terem realizado as mesmas comparações com os mesmos resultados (DULIN, LUND & GERRITSEN, 1967; SCHEIN & BATES, 1968; JUNOD et alii 1969 e STAUFFACHER et alii 1970), somente alguns estudos tem sido efetuados, comparando e utilizando ambos os agentes simultaneamente (RERUP & TARDING, 1968 e 1969; VELEMINSKY, BURR & STAUFFACHER, 1970 e HOFTIEZER, CARPENTER & HEGGESTAD, 1971).

Procurando analisar os efeitos do Streptozotocin no metabolismo de carboidratos e de lipídeos de ratos,

SCHEIN, ALBERTI & WILLIAMSON (1971) concluíram que todos os animais que receberam Streptozotocin em doses de 50 mg/kg - de peso corporal e que sobreviveram à fase hipoglicêmica inicial (7 horas), começaram a apresentar uma elevação da glicemia, e no curso de 48 horas já poderiam ser considerados diabéticos irreversíveis, sem, entretanto, apresentar alterações significativas dos níveis de corpos cetônicos, piruvato, lactato, acetoacetato e 3- hidroxibutirato sanguíneo e hepático.

HOFTIEZER & CARPENTER (1973) aplicaram a mesma quantidade molar de Streptozotocin e aloxana na indução do diabetes experimental. No curso clínico do diabetes durante 4 semanas, observando a taxa de mortalidade, hiperglicemia, perda de peso, polidipsia, hiperfagia, poliúria, glicosúria, e a quantificação volumétrica das ilhotas pancreáticas, concluíram que não existem diferenças significativas entre os dois grupos.

Recentemente, HOSHINO et alii (1976) utilizando Streptozotocin na indução do diabetes melito, em camundongo, afirmaram que a dosagem de 150 mg/kg de peso corporal, via intraperitoneal, promovia hiperglicemia permanente e hiperglicosúria com a mínima taxa de mortalidade.

2.4 - Consumo de Oxigênio e incorporação da glicose
"In Vitro"

Os estudos realizados sobre a atividade respiratória de diferentes tecidos, através do método manométrico, e a incorporação da glicose "In Vitro", em presença de diferentes substâncias, trouxeram importantes subsídios para a melhor compreensão do metabolismo dos carboidratos.

WIRTHEIMER & SHAPIRO (1948) através extensa revisão da literatura demonstraram a atividade respiratória do tecido adiposo "In Vitro". Concluíram ainda, que nesse tecido a insulina exerce direta influência sobre a síntese de glicogênio, entretanto, órgãos de ratos diabéticos aloxânicos são incapazes de sintetizar glicogênio, porém a presença de insulina restaura completamente essa função.

BALMAIN, FRENCH & FOLLEY (1950) observaram - que a insulina causou um aumento acentuado no consumo de oxigênio e no quociente respiratório de fatias de tecidos de ratos.

Foram observados em ratos diabéticos injetados, previamente, com glicose marcada C^{14} , que a amostra de glicose era menor e a fração transformada em CO_2 era reduzida quando comparada com os valores normais (STETTEN, WELT & INGLE, 1951).

KRAHL (1951) descreveu que o tecido adiposo do rato utiliza glicose "In Vitro" e que esta utilização é aumentada pela insulina. Esses experimentos indicam também que a insulina acelera a conversão da glicose em dióxido

de carbono e glicogênio, mas não aquela de frutose para dióxido de carbono ou do piruvato para glicogênio, o que vêm comprovar a reação da glicoquinase como local de ação da insulina.

Estudando o efeito da insulina sobre o tecido adiposo de ratos normais pelo método manométrico, verificaram que a adição de insulina "In Vitro", em presença da glicose, aumentou o consumo de oxigênio e que a insulina combina quimicamente com o tecido adiposo de maneira similar com aquela encontrada no diafragma de rato (HAUGAARD & MARSH, 1952).

HAUSBERGER, MILSTEIN & RUTMAN (1954), estudando a utilização da glicose no tecido hepático "In Vitro", verificaram que o tecido adiposo é mais efetivo e uniforme na conversão da glicose em ácidos graxos. Observaram ainda, que o diabetes aloxânico abole a lipogênese e deprime a oxidação dos carboidratos e a insulina tem a capacidade de restaurar as referidas funções; essas observações foram confirmadas por MILSTEIN & HAUSBERGER (1956) que concluíram ser o tecido adiposo um importante local de ação da insulina.

ITZHAKI & WERTHEIMER (1957) procurando determinar a importância do estado nutricional sobre o consumo de oxigênio e utilização da glicose "In Vitro" pelo tecido adiposo de ratos, pela técnica de Warburg, verificaram que o consumo de oxigênio foi aumentado nos ratos com 4 dias de jejum, no entanto, a utilização da glicose pelo tecido mesentérico não apresentou influência notável. A insulina aumentou significativamente a utilização da glicose, sendo maior, nos ratos em jejum, entretanto, não exerceu efeito

significativo sobre o consumo de oxigênio. Concluíram que o estado nutricional dos animais é importante na determinação da atividade metabólica e na sensibilidade à insulina em te
cido adiposo.

A adição da insulina "In Vitro", tem mostrado uma marcante e consistente ação em estimular a incorporação da glicose sem oxidação e sua conversão em lipídios pelo e
pidídimo de ratos (WINEGRAD & RENOLD, 1958).

RODBELL (1964) isolando, através da collagenase, células gordurosas do epidídimo de rato, fez um estudo com
parativo sobre o metabolismo da glicose, entre as células e o tecido intacto. Verificou que a magnitude do efeito da in
sulina sobre o metabolismo da glicose era maior nas células isoladas e que apenas 10 microunidades de insulina por mili
litro estimulou sensivelmente a incorporação da glicose nas células gordurosas isoladas, e que as mesmas mantêm a capa
cidade de metabolizar a glicose e triglicérides, além de responder a ação de diversos hormônios que afetam o seu me
tabolismo.

Procurando verificar o mecanismo de ação da in
sulina sobre o tecido adiposo de epidídimo de rato, CROFFORD & RENOLD (1965) concluíram que a difusão da glicose apresen
tava papel limitante na sua incorporação e que a insulina e
ra a principal responsável pelo transporte da glicose.

SALANS & DOUGHERTY (1971) verificaram que a a
tividade da insulina no metabolismo da glicose é inversamen
te proporcional ao tamanho das células. Além disso, constata
ram que a sensibilidade das células adiposas à insulina depende do pêso, estado nutricional e do crescimento do ani

mal.

O papel e o padrão do metabolismo da glicose sobre o tecido adiposo do epidídimo de ratos Wistar, hamsters e cobaias de diversas idades foram estudados "In Vitro" por GIROLAMO & MENDLINGER (1972). Os resultados foram baseados quanto ao número e tamanho das células gordurosas e a resposta das células no transporte da glicose sob o efeito da insulina foi determinado em relação à idade e ao volume das células. Esses autores concluíram que o metabolismo da glicose é relativamente constante nas três espécies, todavia o efeito da insulina foi maior nos ratos.

A presença da insulina aumentou consideravelmente a oxidação da glicose das células adiposas menores. Entretanto, o efeito máximo da insulina não deve ser relacionado basicamente com o processo de oxidação, mas sim, em virtude da diminuição dos receptores (30 a 40%) das células maiores ou devido a algum defeito intracelular do metabolismo da glicose (OLEFSKY, 1976).

Mais recentemente, JEANJEAN, DEHEZ-DELHAYE & GOMMERS (1977) estudando o efeito da idade (6 a 24 meses) na resposta da insulina sobre o metabolismo da glicose de tecido adiposo do epidídimo de rato, demonstraram que, efetivamente, há diminuição do metabolismo local da glicose na senescência, porém, na presença da insulina, o processo oxidativo da glicose é significativamente aumentado em todas as idades. Concluíram que a sensibilidade da insulina sobre o tecido adiposo de ratos não é afetada pela idade.

C A P Í T U L O I I I

M A T E R I A L E M É T O D O S

3 - MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizados 145 ratos machos (Rattus norvegicus, albinus, Wistar), com 2 a 4 meses de idade, pesando entre 120 e 250 gramas no início da experimentação.

Os animais foram alimentados antes e durante o período experimental com ração balanceada* e água "ad libitum".

O presente trabalho foi fundamentado e desenvolvido em 2 modelos experimentais:-

- 1- Determinação da taxa glicêmica
- 2- Incorporação da glicose e consumo de O_2 "In Vitro"

3.1-Sequência do Estudo. "In Vivo"

Foram utilizados 67 ratos, distribuídos, casualmente em 4 grupos, da seguinte forma (Tabela I):-

GRUPO I - Contrôlê - constituído por 6 ratos, os quais não sofreram qualquer tipo de intervenção, sendo injetado, via endovenosa, apenas solução fisiológica no mesmo volume dos demais grupos;

GRUPO II - Contrôlê-Diabéticos Experimentais - composto por 6 ratos, que à semelhança do grupo anterior, somente receberam solução fisiológica;

* Ração Balanceada Ceres, Piracicaba.

GRUPO III - Diabéticos + Insulina + constituído por 25 ratos, os quais foram redistribuídos em 5 subgrupos de 5 ratos. Em cada subgrupo foi administrado, através da veia dorsal do pênis, insulina protamino-zíncica, (Lilly) nas seguintes concentrações:- 0,10; 0,20; 0,30; 0,40; e 0,50 mg/100 g de pêso corporal, correspondendo, respectivamente, 2,5; 5,0; 7,5; 10,0 e 12,5 unidades;

GRUPO IV - Diabéticos + Parotin* - constituído por 30 ratos, redistribuídos de maneira semelhante a do grupo anterior, sendo porém cada subgrupo, composto de 6 ratos. Cada subgrupo recebeu, pela mesma via, doses de Parotin, respectivamente, nas concentrações de 0,10; 0,20; 0,30; 0,40; e 0,50 mg/100 g de pêso corporal.

Tanto a insulina, quanto o Parotin utilizados, foram preparados em solução fisiológica e o volume máximo injetado foi de 0,5 ml.

* Parotin - Teikoku Hormone MFG. Co., LTDA. Japan.

TABELA I - Distribuição dos animais nos grupos e subgrupos.

GRUPOS	SUB GRUPOS	Nº DE RATOS	TRATAMENTO
I		6	Contrôle (normais)
II		6	Contrôle Diabéticos Experimentais
III		25	Diabéticos + Insulina
	IIIa	5	Diabéticos + 0,10mg de Insulina
	IIIb	5	Diabéticos + 0,20mg de Insulina
	IIIc	5	Diabéticos + 0,30mg de Insulina
	IIId	5	Diabéticos + 0,40mg de Insulina
	IIIe	5	Diabéticos + 0,50mg de Insulina
IV		30	Diabéticos + Parotin
	IVa	6	Diabéticos + 0,10mg de Parotin
	IVb	6	Diabéticos + 0,20mg de Parotin
	IVc	6	Diabéticos + 0,30mg de Parotin
	IVd	6	Diabéticos + 0,40mg de Parotin
	IVe	6	Diabéticos + 0,50mg de Parotin

3.2- Produção de ratos diabéticos e seu tratamento

Para produção de ratos diabéticos, foi administrada na veia dorsal do pênis, após 24 horas de jejum, aloxana* a 2% em solução salina hipotônica (NaCl 0,45% p/v) na quantidade de 50 mg/kg de peso corporal (Lukens, 1948) e/ou Streptozotocin** na dosagem de 150 mg/kg de peso corporal, dissolvido em tampão citrato 0,1 M, pH=4,5 e injetado intraperitonealmente alguns minutos após sua preparação (HOSHINO et alii, 1976). O volume máximo de solução de aloxana e/ou Streptozotocin injetado foi de 1,0 ml.

Aproximadamente 60 minutos após a administração das drogas diabetogênicas, o alimento foi restituído e, com a finalidade de prevenir eventuais hipoglicemias, deixou-se a disposição dos animais uma solução de glicose a 15%, a qual foi retirada depois de 12 horas.

Decorridos 24 horas, com o objetivo de evitar choques hiperglicêmicos, foi iniciada a administração de insulina protamino zíncica, (Lilly) via subcutânea, com 1,0 unidade no primeiro dia, seguida de 2,0 unidades nos dias subsequentes, cada 24 horas, durante 6 dias.

Após a suspensão da administração da insulina, a constatação da glicosúria foi feita pela técnica da glicofita***.

* Monohidrato de Aloxana - Carlo Erba

** Streptozotocin (Lo s - 10518-GGS - 37U - 9889) Upjohn Company.

*** Glico-fita - Eli Lilly do Brasil Ltda.

3.3- Dosagens Glicêmicas

Os animais pertencentes aos 4 grupos, após um jejum de 24 horas, foram submetidos as dosagens da glicose sanguínea pelo método da glicose oxidase (SAIFER & GERSTENFELD, 1958). As leituras foram realizadas em espectrofotômetro (Spectronic - 20 - Bausch & Lomb) e os valores glicêmicos (mg/%) foram obtidos da curva padrão inserida no apêndice (Grafico 1).

O sangue foi coletado da ponta da cauda, em placa de vidro, previamente aquecida, contendo anticoagulante (fluoreto de sódio a 2%).

Para o procedimento das dosagens glicêmicas, nos diversos tempos, foram feitas dosagens iniciais denominadas de tempo 0 (zero) e os animais dos grupos II, III e IV, que apresentavam glicemia superior a 300 mg/100ml de sangue foram selecionados e incorporados nos grupos diabêticos.

Nos animais dos grupos I e II, foram realizadas dosagens glicêmicas nos intervalos de tempo de 1, 2, 4, 6, 8, 10, 12, 24, 48, 60, 72 e 84 horas. O mesmo procedimento ocorreu nos ratos dos grupos III e IV após a administração da insulina e do Parotin, respectivamente, isso quando os mesmos sobreviviam ou respeitavam-se os mesmos intervalos de tempo até que a glicemia voltasse a ultrapassar 300 mg/100 ml de sangue.

Durante o período experimental os animais foram alimentados com 10 a 12 g de ração/dia/rato, considerar

da o suficiente para a sua manutenção, (HOSHINO et alii , 1976),

3.4- Sequência do Estudo "In Vitro"

Foram utilizados 78 ratos, os quais foram distribuídos, casualmente, em três grupos:-

GRUPO I - Contrôles (normais) - composto de 30 ratos, dos quais, retirou-se tecido adiposo da cabeça do epidídimo. A seguir esse tecido foi incubado em frascos de Warburg, a fim de se proceder a determinação do consumo de oxigênio e da incorporação da glicose;

GRUPO II - Diabéticos - também constituídos de 30 ratos, os quais sofreram o mesmo procedimento do grupo anterior;

GRUPO III - Composto de 18 ratos normais, os quais foram utilizados para determinar eventuais variações na incorporação da glicose e consumo de oxigênio em relação à massa de tecido gorduroso do epidídimo utilizado em cada frasco (Gráficos 2 e 3 do apêndice).

A obtenção dos ratos diabéticos e seu tratamento obedeceu o mesmo procedimento do estudo "In Vivo".

Os animais pertencentes aos 3 grupos, após jejum de 24 horas, foram sacrificados por decapitação e o tecido adiposo da cabeça do epidídimo foi removido e mantido em tampão Krebs Ringer a 4°C (WINEGRAD & RENOLD, 1958). A seguir os tecidos foram pesados e cortados em pedaços não superior a 1,0 mm³ e incubados em frascos de Warburg.

3.5- Determinação do consumo de oxigênio por Manometria

As determinações de consumo de oxigênio pelo sistema manométrico foram executados segundo a técnica convencional de Warburg (1972).

Através este método clássico, analisou-se a capacidade oxidativa do tecido adiposo da cabeça do epidídimo, frente a glicose, glicose + insulina, glicose + Parotín e glicose + a associação insulina - Parotín, bem como a interferência produzida pelas drogas sobre a incorporação da glicose.

Após 2 horas de agitação numa temperatura de 37°C, os fragmentos teciduais foram removidos e baseado na diferença de concentração entre a glicose introduzida inicialmente e a glicose residual, calculou-se, também pelo método da glicose - oxidase, a quantidade da mesma incorporada, sendo expressa em micrograma/ grama de peso seco de tecido por hora.

Os valores expressos indicando o consumo de oxigênio (microlitro/ g de peso seco de tecido/hora) dos diferentes ensaios biológicos serão apresentados nos resultados, já subtraídos dos valores obtidos do endógeno.

3.6- Sistemas Experimentais Empregados

O sistema experimental para determinação do consumo de oxigênio e da incorporação da glicose, tanto para os animais normais, quanto para os diabéticos constava de:-

a) ENDÓGENO - (6 ratos):-

Meio de reação	2,30 ml
Fragmentos de Tecido	0,50 ml
KOH 20%	0,20 ml
H ₂ O qsp	3,30 ml

b) GLICOSE - (6 ratos):-

Meio de reação	2,30 ml
Fragmentos de Tecido	0,50 ml
Glicose	0,10 ml
KOH 20%	0,20 ml
H ₂ O qsp	3,30 ml

c) GLICOSE + INSULINA - (6 ratos):-

Meio de reação	2,30 ml
Fragmentos de Tecido	0,50 ml
Glicose	0,10 ml
Insulina	0,10 ml
KOH 20%	0,20 ml
H ₂ O qsp	3,30 ml

d) GLICOSE + PAROTIN - (6 ratos):-

Meio de reação	2,30 ml
----------------------	---------

Fragmentos de Tecido	0,50 ml
Glicose	0,10 ml
Parotin	0,10 ml
KOH 20%	0,20 ml
H ₂ O qsp	3,30 ml

c) GLICOSE + INSULINA + PAROTIN - (6 ratos):-

Meio de reação	2,30 ml (1)
Fragmentos de Tecido	0,50 ml (2)
Glicose	0,10 ml (3)
Insulina	0,10 ml (4)
Parotin	0,10 ml (5)
KOH 20%	0,20 ml
Volume final	3,30 ml

(1) O meio de reação utilizado foi Krebs - Rin-
ger Fosfato pH = 7,4.

(2) Tecido gorduroso da cabeça do epidídimo
cortado, pesando em média 400 mg. corres-
pondendo a um volume de 0,50 ml.

(3) Glicose dissolvida em solução fisiológica
numa concentração de 3,1 mg/ml.

(4) Insulina simples (Lilly) 20 unidades, dis-
solvida em solução fisiológica numa concen-
tração de 0,31 unidades/ml.

(5) Parotin preparado em solução fisiológica
numa concentração de 4,65 mg/ml.

3.7- Tratamento Estatístico

Para as análises estatísticas foram usados os esquemas de análise de variância de ensaios inteiramente casualizados, ou seja:-

C. variação	G.L.
Tratamentos	Nº de tratamento - 1
Residuo	Diferença (GL total - GL tratamentos)
Total	(Nº de trat. X Nº de Rep.) - 1

Para as comparações das médias (duas a duas) foi usado o teste de Tuckey ao nível de 5% de probabilidade, determinando-se as diferenças mínimas significativas a

través de $\Delta = q \frac{s}{\sqrt{r}}$

onde: Δ = diferença mínima significativa

q = valor da amplitude total estudentizada

s = estimativa do desvio padrão residual

r = número de repetições

C A P Í T U L O I V

R E S U L T A D O S

4 - RESULTADOS

4.1 - *Estudo "In Vivo"*

4.1.1 - *Dosagens Glicêmicas (mg%)*

Pela análise dos dados expressos na Tabela II, verificou-se que, excetuando os valores obtidos das dosagens de 1, 2, 4 e 6 horas, onde notou-se um discreto aumento da glicemia, nos demais intervalos de tempo, os valores médios glicêmicos dos animais contrôles intactos, pertencentes ao Grupo I, apresentaram-se dentro dos padrões fisiológicos (Gráfico 4).

Por outro lado, nos animais do Grupo II, contrôles diabéticos experimentais (Tabela III), os valores médios glicêmicos variaram entre $449,00 \pm 19,5$ e $530,00 \pm 41,2$ durante o período experimental e, que somente as dosagens obtidas nos tempos de 60,72 e 84 horas apresentaram uma discreta tendência em elevar a glicemia (Gráfico 4).

Observando-se os resultados das Tabelas IV, V, VI, VII e VIII as quais revelaram os valores glicêmicos dos subgrupos IIIa, IIIb, IIIc, IIId e IIIe, antes (tempo 0) e após (tempos 1, 2, 4, 6, 8) a administração da insulina, respectivamente nas concentrações de 0,10; 0,20; 0,30; 0,40 e 0,50 mg/100g de peso corporal, verificou-se que o efeito da insulina na diminuição da glicemia foi rápido e marcante, causando uma acentuada hipoglicemia, acarretando a morte de todos os animais, num período máximo de 8 horas (Gráficos 5, 6, 7, 8 e 9).

TABELA II - Glicemia dos animais do Grupo I

Ratos Horas	1	2	3	4	5	6	Médias $\pm s_{\bar{x}}$
0	90	110	115	90	90	90	97,50 $\pm 11,7$
1	110	115	115	100	100	100	106,70 $\pm 7,5$
2	110	115	120	120	120	120	117,50 $\pm 4,2$
4	130	115	130	120	130	130	125,80 $\pm 6,6$
6	130	130	135	130	140	140	134,25 $\pm 4,9$
8	110	115	100	110	120	120	112,50 $\pm 7,6$
10	100	100	100	110	110	110	105,00 $\pm 5,5$
12	100	90	90	100	90	90	93,30 $\pm 5,2$
24	110	115	120	100	110	115	111,75 $\pm 6,8$
36	90	100	115	90	110	100	100,80 $\pm 10,2$
48	90	100	100	90	120	115	102,50 $\pm 12,5$
60	100	115	100	100	100	120	105,85 $\pm 9,2$
72	90	110	100	90	90	90	95,00 $\pm 8,4$
84	100	90	100	90	90	110	96,75 $\pm 5,2$

Valôres glicêmicos (mg %) dos animais contrôles normais, suas médias e respectivos desvios padrões ($s_{\bar{x}}$), nos diferentes intervalos de tempo.

mg% de glicose

-----• CONTROLE DIABÉTICO
———• CONTROLE NORMAL

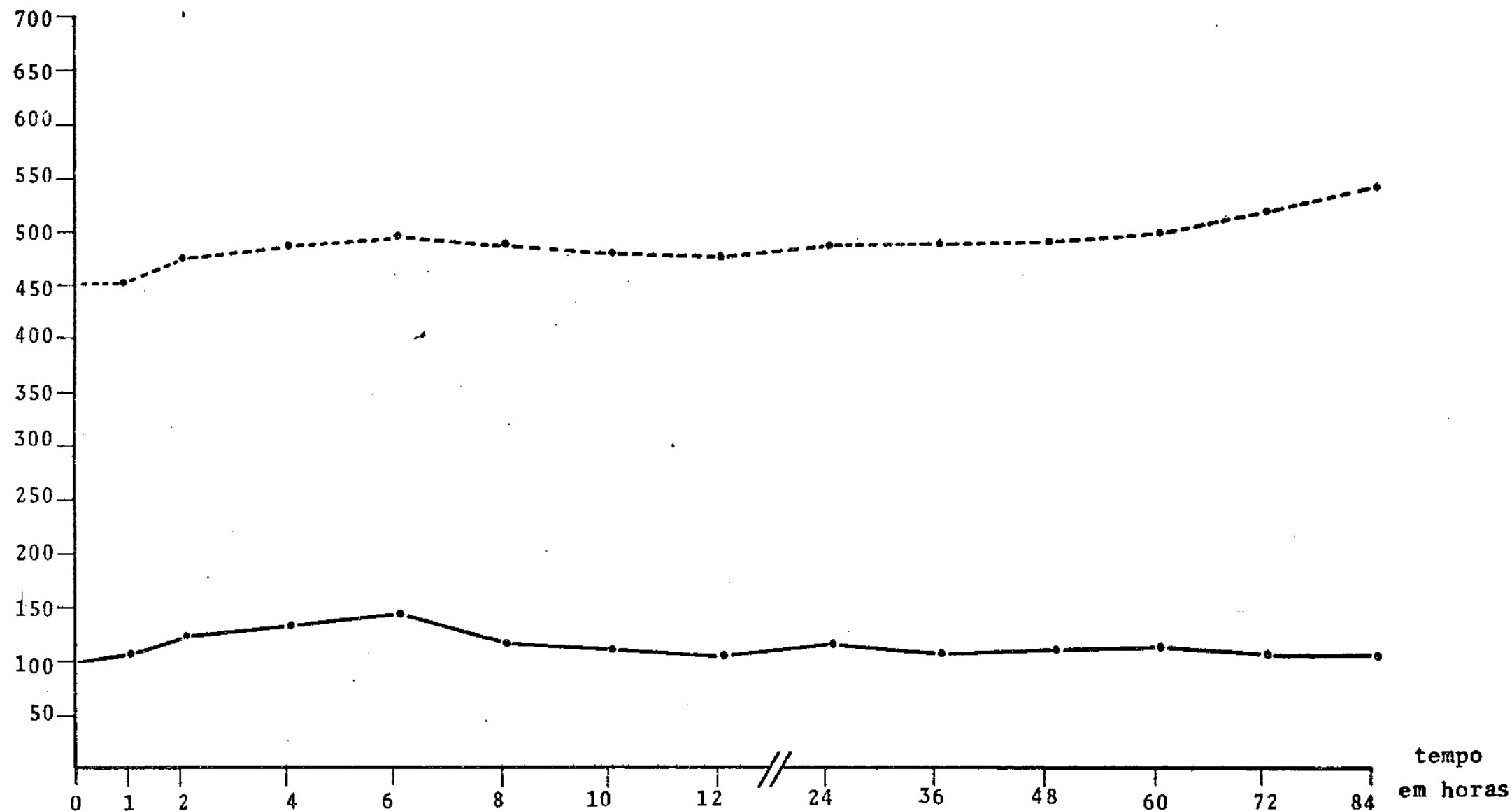


GRÁFICO 4:- Valores médios da glicemia (miligramas %) nos diferentes intervalos de tempo

TABELA III - Glicemia dos animais do Grupo II

Ratos Horas	1	2	3	4	5	6	Médias $\pm s_{\bar{x}}$
0	430	450	430	460	475	450	449,00 $\pm 19,5$
1	430	450	430	460	480	450	450,00 $\pm 21,2$
2	450	480	465	440	510	470	469,15 $\pm 27,5$
4	460	500	460	450	540	490	483,35 $\pm 37,7$
6	480	525	450	460	530	490	489,35 $\pm 36,8$
8	480	520	440	450	530	485	484,15 $\pm 40,4$
10	470	520	430	440	500	480	473,35 $\pm 38,3$
12	470	510	450	450	480	470	471,65 $\pm 24,9$
24	480	520	460	460	480	490	481,65 $\pm 24,5$
36	480	540	440	460	480	490	481,65 $\pm 37,4$
48	450	530	460	470	490	480	480,00 $\pm 31,6$
60	460	540	480	480	490	490	490,00 $\pm 30,0$
72	490	580	500	500	490	510	511,65 $\pm 38,3$
84	500	600	520	530	500	530	530,00 $\pm 41,2$

Valores glicêmicos (mg %) dos animais contrôles diabéticos, suas médias e respectivos desvios padrões ($s_{\bar{x}}$), nos diferentes intervalos de tempo.

TABELA IV - Glicemia dos animais do Grupo III (Subgrupo IIIa)

Horas	Ratos					Médias $\pm s_{\bar{x}}$
	1	2	3	4	5	
0	370	340	380	320	370	356,00 $\pm 25,1$
1	220	240	280	210	260	242,00 $\pm 28,6$
2	190	120	130	110	160	142,00 $\pm 32,7$
4	80	90	85	80	90	85,00 $\pm 5,0$
6	80	75	80	70	80	77,00 $\pm 4,5$
8	55	50	55	45	50	51,00 $\pm 4,2$

Valores glicêmicos (mg %) dos animais diabéticos, suas médias e respectivos desvios padrões ($s_{\bar{x}}$) antes (tempo 0) e após a administração de 0,10 mg/100 g de peso corporal de insulina.

TABELA V - Glicemia dos animais do Grupo III (Subgrupo IIIb)

Horas	Ratos					Médias
	1	2	3	4	5	$\pm s_{\bar{x}}$
0	480	430	385	390	450	427,00 $\pm 40,2$
1	200	190	180	200	210	196,00 $\pm 11,4$
2	120	110	100	140	130	120,00 $\pm 15,8$
4	80	70	65	90	95	80,00 $\pm 12,7$
6	55	50	45	55	60	53,00 $\pm 5,7$

Valores glicêmicos (mg %) dos animais diabéticos, suas médias e respectivos desvios padrões ($s_{\bar{x}}$) antes (tempo 0) e após a administração de 0,20 mg/100 g de peso corporal de insulina.

TABELA VI - Glicemia dos animais do Grupo III (Subgrupo IIIc)

Horas	Ratos					Médias
	1	2	3	4	5	$\pm s_{\bar{x}}$
0	565	480	320	300	300	393,00 $\pm 122,2$
1	225	190	120	140	160	167,00 $\pm 41,5$
2	80	90	70	75	85	80,00 $\pm 7,9$
4	40	55	45	50	50	48,00 $\pm 5,7$

Valores glicêmicos (mg %) dos animais diabéticos, suas médias e respectivos desvios padrões ($s_{\bar{x}}$) antes (tempo 0) e após a administração de 0,30 mg/100 g de peso corporal de insulina.

TABELA VII - Glicemia dos animais do Grupo III (Subgrupo IIId)

Horas	Ratos					Médias $\pm s_{\bar{x}}$
	1	2	3	4	5	
0	375	450	410	450	537	444,40 $\pm 60,4$
1	140	160	190	170	342	200,00 $\pm 81,3$
2	75	80	100	90	80	85,00 $\pm 10,0$
4	40	45	50	45	50	46,00 $\pm 4,1$

Valores glicêmicos (mg %) dos animais diabéticos, suas médias e respectivos desvios padrões ($s_{\bar{x}}$) antes (tempo 0) e após a administração de 0,40 mg/100 g de peso corporal de insulina.

TABELA VIII - Glicemia dos animais do Grupo III (Subgrupo IIIe)

Horas	Ratos						Médias $\pm s_{\bar{x}}$
	1	2	3	4	5	6	
0	510	415	500	350	375	360	418,30 $\pm 70,7$
1	360	75	135	150	170	175	177,50 $\pm 96,3$
2	75	40	40	65	75	75	61,70 $\pm 17,2$
4	50	40	40	45	50	50	45,80 $\pm 4,9$

Valores glicêmicos (mg %) dos animais diabéticos, suas médias e respectivos desvios padrões ($s_{\bar{x}}$) antes (tempo 0) e após a administração de 0,50 mg/100 g de peso corporal de insulina.

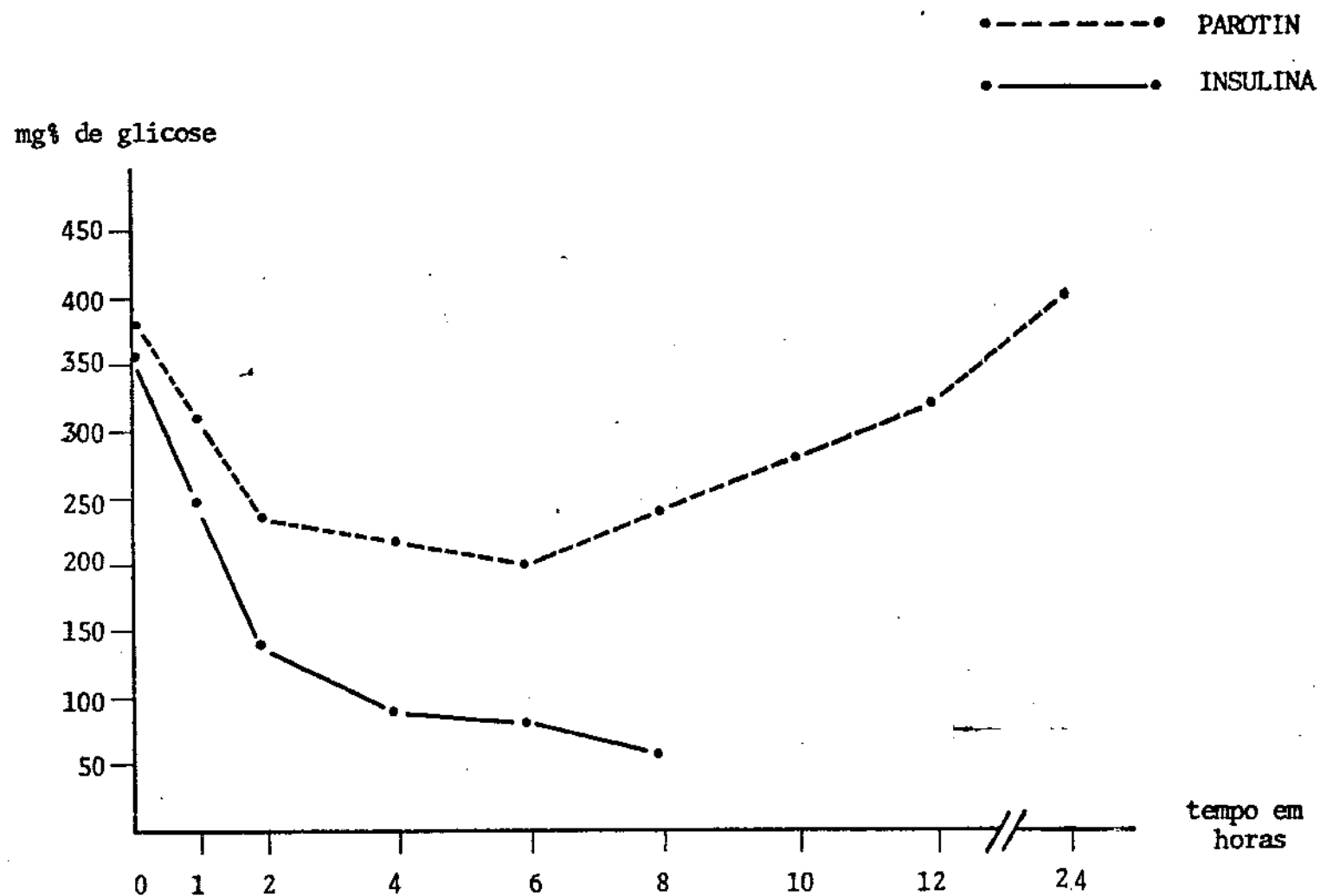


GRÁFICO 5:- Valores médios da glicemia (miligramas %) nos diferentes intervalos de tempo antes (representado pelo tempo zero) e após a administração de 0,10 mg de Insulina e Parotin/

• - - - - - • PAROTIN
 • ———— • INSULINA

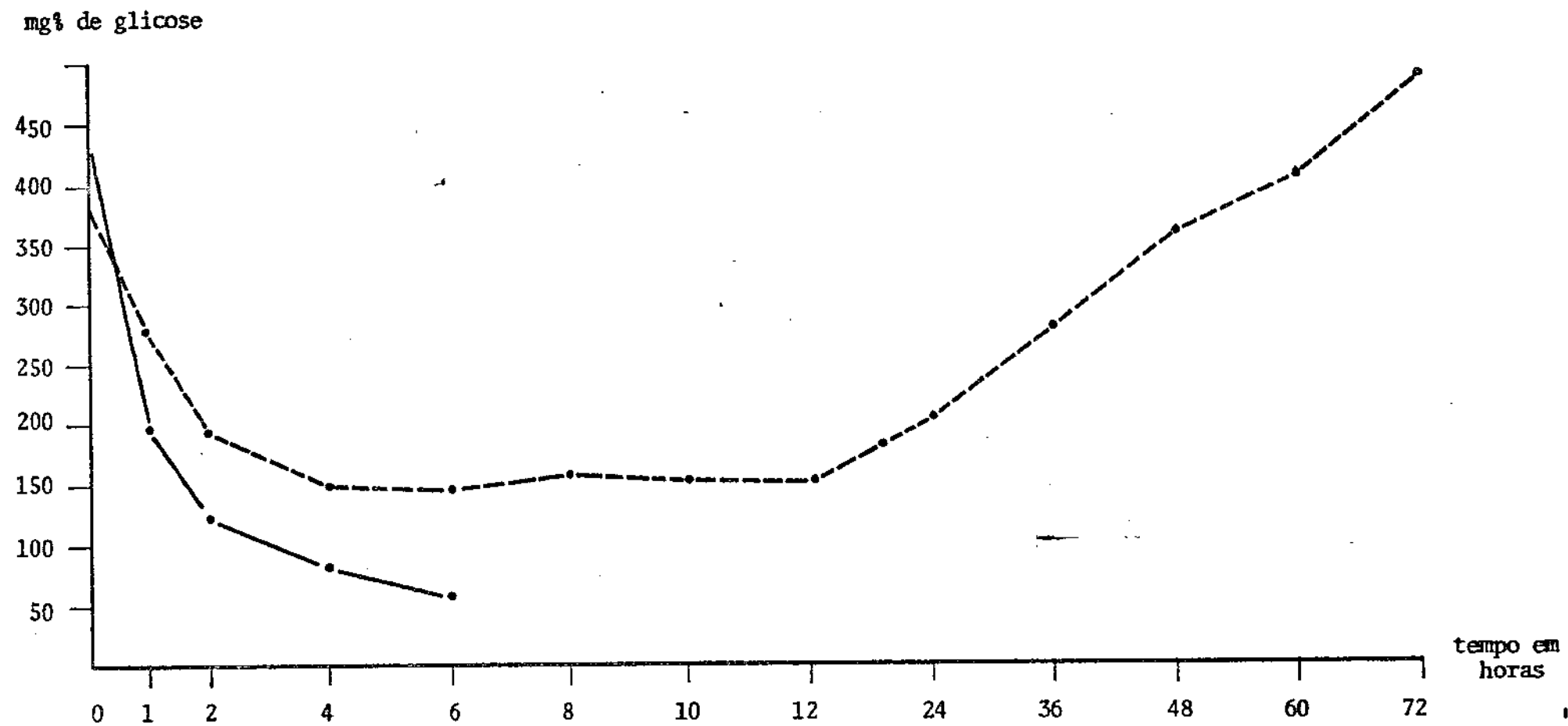


GRÁFICO 6:- Valores médios da glicemia (miligramas %) nos diferentes intervalos de

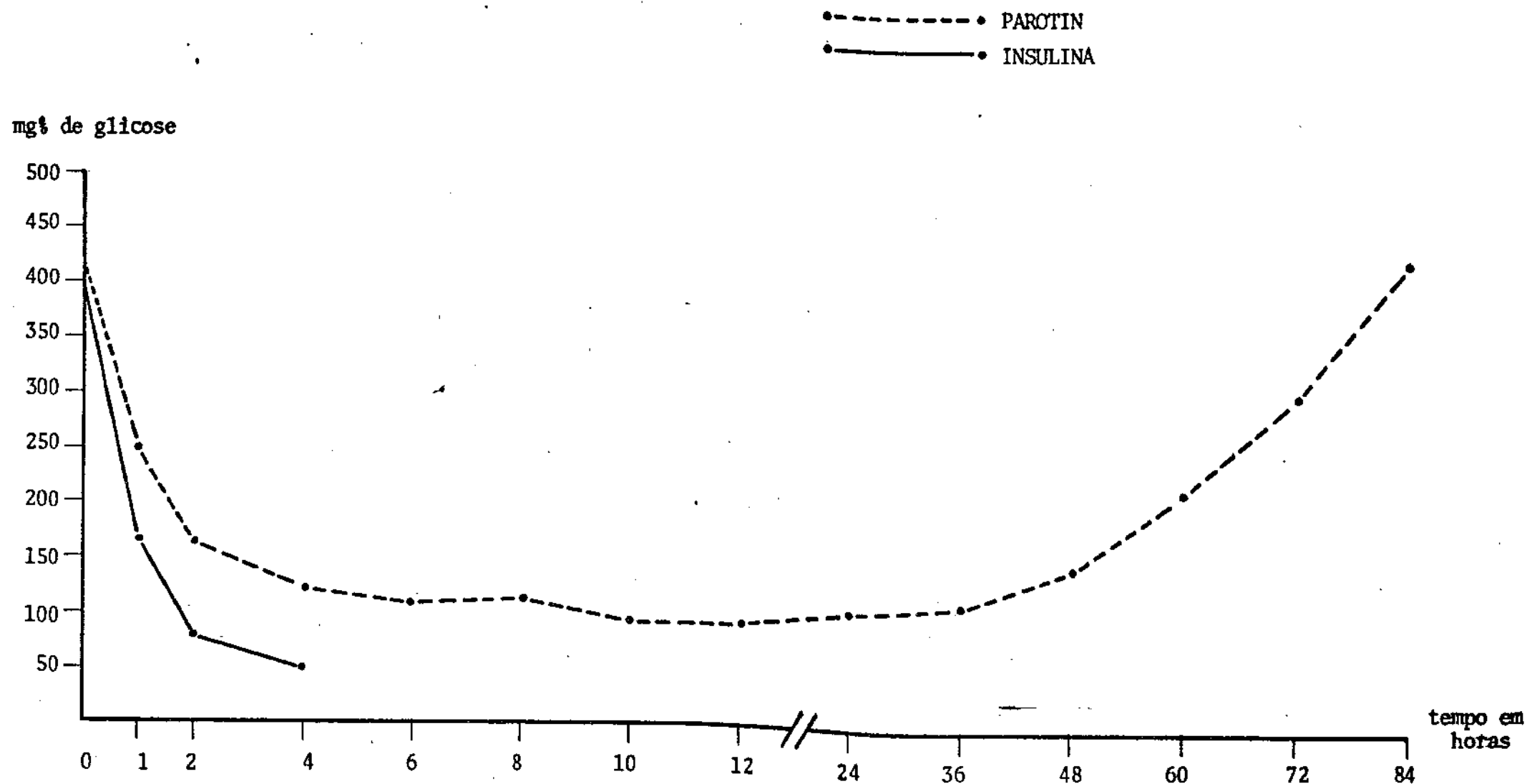


GRÁFICO 7:- Valores médios da glicemia (miligramas %) nos diferentes intervalos de tempo, antes (representado pelo tempo zero) e após a administração de 0,30 mg de Insulina e Parotín/100 g de peso corporal.

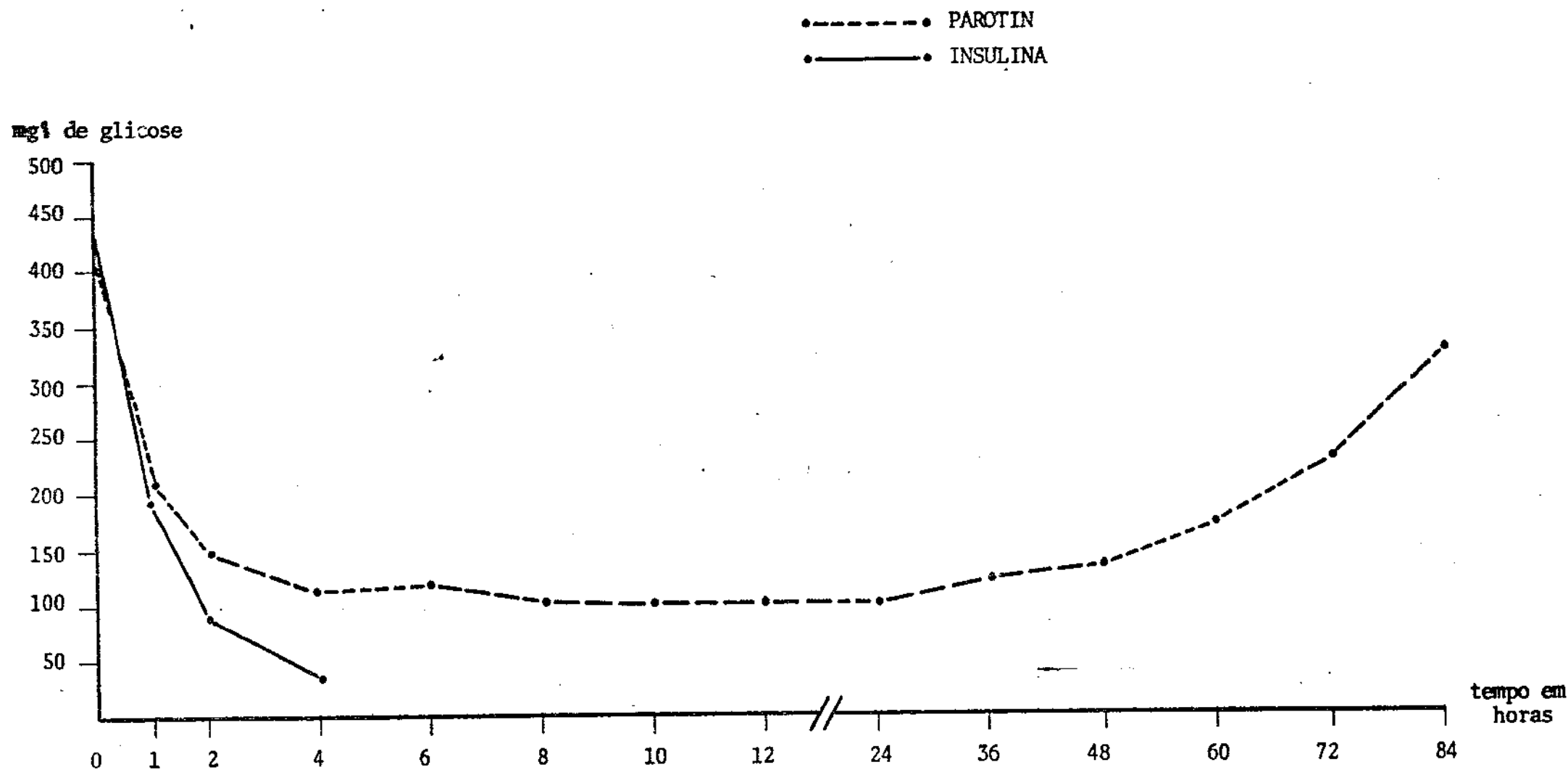


GRÁFICO 8:- Valores médios da glicemia (miligramas %) nos diferentes intervalos de tempo antes (representado pelo tempo zero) e após a administração de 0,40 mg de Insulina e Pa rotin/100 g de peso corporal.

• - - - - • PAROTIN
• - - - - • INSULINA

mg% de glicose

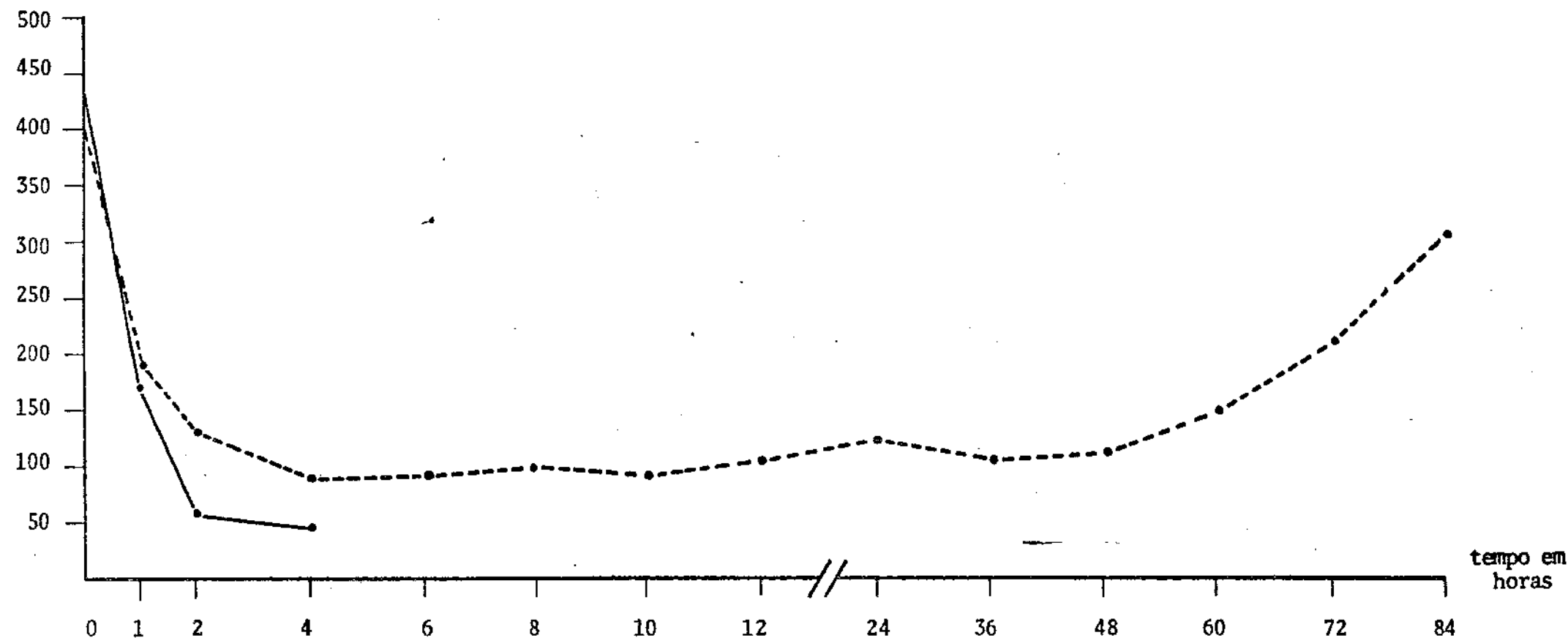


GRÁFICO 9:- Valores médios da glicemia (miligramas %) nos diferentes intervalos de tempo antes (representado pelo tempo zero) e após a administração de 0,50 mg de Insulina e Parotin/100 g de peso corporal.

A análise de variância para cada tempo, em que foram comparados os animais diabéticos (Grupo II) juntamente com os animais que receberam diferentes doses de Parotin mostra que os níveis glicêmicos médios dos animais do Grupo II diferem significativamente dos animais do Grupo IV em todas as dosagens analisadas (Tabela IX). Entre as diferentes dosagens dos animais do Grupo IV os resultados das comparações entre si podem ser vistas na Tabela X. Nessa tabela são comparadas as médias 2 a 2 através do teste de Tuckey ao nível de 5% de probabilidade.

Os animais componentes do subgrupo IVa, que apresentavam valores médios glicêmicos de $380,00 \pm 56,2$, após a administração de 0,10 mg de Parotin, revelaram, desde as primeiras dosagens, queda da glicemia, que foi mais acentuada ($199,15 \pm 34,4$) no intervalo de tempo de 6 horas. Nas taxas glicêmicas subsequentes, já se observou elevação dos níveis sanguíneos de glicose, atingindo na dosagem de 24 horas o valor médio de $345,00 \pm 97,7$ (Tabela X; Tabela XV do apêndice e Gráfico 5).

O subgrupo IVb, cujo valor médio glicêmico era de $383,00 \pm 28,2$, após a administração de 0,30 mg de Parotin, à semelhança do subgrupo anterior, mostrou também uma diminuição mais acentuada da glicemia ($141,65 \pm 24,6$) no intervalo de tempo de 6 horas. Nas dosagens seguintes, os valores médios glicêmicos apresentaram uma ligeira elevação, alcançando o nível considerado diabéticos, nas dosagens de 48 e 60 horas (Tabela X; Tabela XVII do apêndice e Gráfico 6).

A análise da Tabela X e Tabela XVII (apêndice),

TABELA IX - Valores de F e coeficiente de variação(C.V.) para a média dos níveis glicêmicos, nos diferentes intervalos de tempo, dos animais dos Grupos II e IV.

Intervalos de Tempo (horas)	F	C.V.
1	36,65**	13,43
2	83,00**	15,26
4	171,15**	14,10
6	212,15**	13,16
8	134,10**	15,86
10	90,55**	19,70
12	84,85**	20,10
24	77,25**	19,30
36	95,00**	16,60
48	466,25**	7,60
60	223,90**	8,86
72	85,70**	10,50
84	49,60**	9,10

** Significativo ao nível de 1% de probabilidade.

TABELA X - Glicemia média dos animais do Grupo II e IV

Tempo(Horas)	1	2	4	6	8	10	12	24	36	48	60	72	84
Tratamento													
Diabéticos	a 450,00	a 469,15	a 483,35	a 489,35	a 484,15	a 473,35	a 471,65	a 481,65	a 481,65	a 480,00	a 490,00	a 511,65	a 530,00
Parotin (0,10mg)	b 307,50	b 238,35	b 218,35	b 199,15	b 241,65	b 274,15	b 298,35	b 345,00					
Parotin (0,20mg)	bc 275,00	bc 191,65	c 145,85	c 141,65	c 151,65	c 147,50	c 145,00	c 199,15	b 274,15	b 354,17	b 400,00		
Parotin (0,30mg)	bc 250,00	cd 165,00	cd 123,35	cd 119,15	c 112,50	c 95,85	c 94,15	d 103,35	c 114,15	c 146,67	c 215,00	b 306,67	b 395,00
Parotin (0,40mg)	c 213,35	cd 147,50	cd 113,35	cd 110,85	c 106,66	c 100,85	c 98,35	d 100,85	c 120,85	cd 131,67	d 172,50	c 228,35	c 325,00
Parotin (0,50mg)	c 188,35	d 126,65	d 90,85	d 91,85	c 98,35	c 95,00	c 105,35	d 121,65	c 105,85	d 110,85	d 148,35	c 210,00	c 305,00
Erro da Média	15,40	13,90	11,25	10,30	12,90	15,90	16,60	17,75	17,15	7,60	10,10	14,70	14,45
Diferença Mínima de Determinada através do teste de Tuckey	66,20	59,75	48,47	44,35	55,45	68,43	71,37	76,38	73,79	31,60	42,05	61,24	57,22

Valores médios das dosagens glicêmicas (mg %) dos animais controles diabéticos e dos diabéticos que receberam diferentes doses de Parotin (0,10, 0,20, 0,30, 0,40 e 0,50 mg/100 g de peso corporal) e analisados em diferentes intervalos de tempo.

- Os tratamentos seguidos de mesma letra não diferem significativamente ao nível de 5% de probabilidade entre si.

que representam também os valores obtidos dos animais do subgrupo IVc, cuja média glicêmica era de $415,00 \pm 39,4$, após a administração de 0,30 mg de Parotin, ocorreu, do mesmo modo que nos subgrupos anteriores, queda dos valores médios glicêmicos, tornando-se, entretanto, mais pronunciada ($94,15 \pm 37,6$) na dosagem de 12 horas. Essa concentração apresentou um efeito de maior intensidade e mais duradouro que os anteriores voltando os níveis glicêmicos próximos ao valor inicial somente 84 horas após a administração (Gráfico 7).

Os subgrupos IVd e IVe, cujos valores médios glicêmicos iniciais eram de $421,60 \pm 52,7$ e $402,00 \pm 38,0$, após receberem, respectivamente, 0,40 mg e 0,50 mg de Parotin, trouxeram o nível glicêmico próximo à normalidade já nas primeiras 4 horas, mantendo-o por um intervalo de tempo de 36 horas, quando então iniciou-se ligeira elevação da glicemia, sem todavia, alcançar os níveis considerados diabéticos dentro do período estudado (Tabela X; Tabela XVIII e XIX do apêndice e Gráficos 8 e 9).

4.2 - Estudo "In Vitro"

4.2.1 - Incorporação da Glicose ($\mu\text{g}/\text{g}$ de pê $\text{so sêco de tecido/hora}$):-

Através da análise de variância observou-se, que existem diferenças significativas ao nível de 1% de probabilidade, quanto a incorporação da glicose, entre os diferentes ensaios biológicos, tanto para os animais normais quanto para os diabéticos (Tabela XI).

Para os animais dos Grupos I e II, o teste de Tuckey revelou que os efeitos da insulina, Parotin e insulina-Parotin, na incorporação da glicose foram significativamente diferentes, ao nível de 5% de probabilidade, quando comparados com aquele que continha somente glicose no sistema experimental, (Tabela XII; Tabela XXII do apêndice e Gráfico 10). Desse modo, notou-se que nos animais controles, a incorporação da glicose no ensaio que continha somente glicose foi $430,50 \pm 25,2$; no meio com glicose e insulina $824,15 \pm 49,2$; glicose mais Parotin $936,65 \pm 60,6$ e glicose mais insulina e mais Parotin $779,65 \pm 50,0$. A diferença mínima significativa para este teste foi de 77,68.

Nos animais diabéticos, a incorporação no meio que continha só glicose foi de $257,65 \pm 31,8$; no ensaio com glicose e insulina $773,00 \pm 47,3$; glicose mais Parotin $908,50 \pm 33,5$ e glicose mais insulina-Parotin $803,50 \pm 42,9$ com a diferença mínima significativa de 63,75 (Tabela XX do apêndice e Gráfico 10).

TABELA XI - Valores calculados para o teste F através da análise de variância e o coeficiente de variação (C.V.) dos dados obtidos da incorporação da glicose dos animais normais e diabéticos.

Ratos	F	C.V.
Normais	123,95**	6,47
Diabéticos	327,15**	5,75

** *Significativo ao nível de 1% de probabi*
lidade.

A mesma análise demonstrou ainda, que para ambos os grupos, não existem diferenças significativas entre os efeitos da insulina e insulina-Parotin na incorporação da glicose. Todavia, a comparação entre os efeitos da insulina e do Parotin mostrou que existem diferenças significativas comprovando que o Parotin foi mais efetivo, na incorporação da glicose, tanto para o grupo dos animais normais, quanto para os diabéticos.

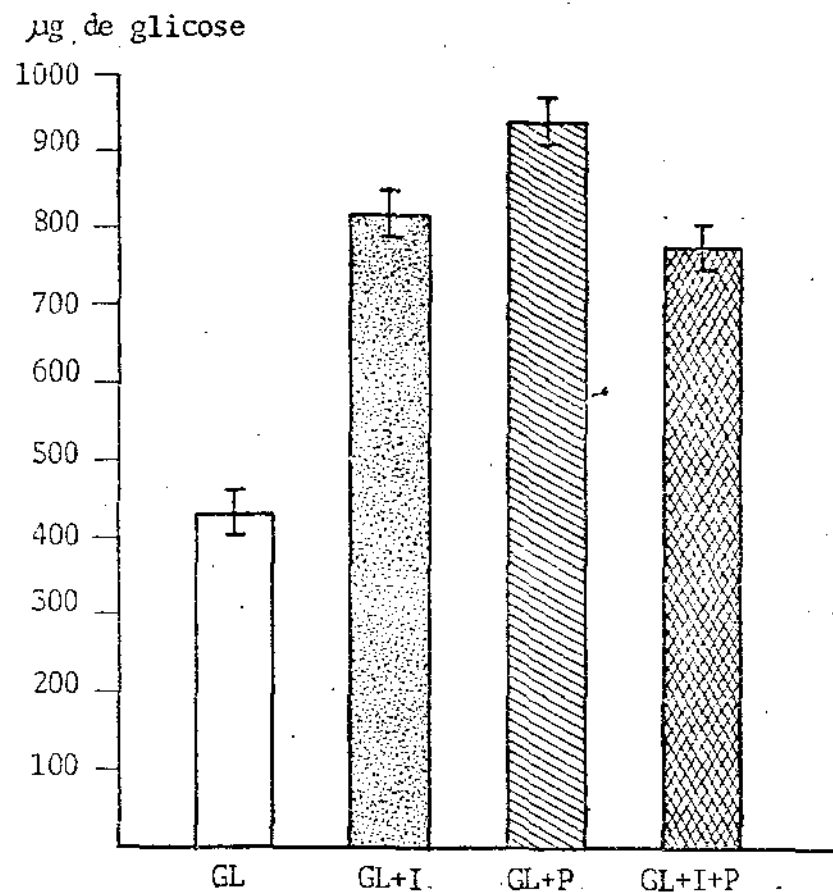
TABELA XII - Incorporação da Glicose

Ratos Ensaio Biológicos	Normais	Diabéticos
Glicose	a 430,50	a 257,65
Glicose Insulina	b 824,15	b 773,00
Glicose Parotín	c 936,65	c 908,50
Glicose Insulina Parotín	b 779,65	b 803,50
Erro da Média	19,61	16,09
Dif. Mínima Significativa (5%)	77,68	63,75

Valores médios, Erro da média e Diferença mínima significativa, da incorporação da glicose "In Vitro" (micrograma/ grama de peso seco de tecido/hora) dos animais normais e diabéticos nos diferentes tratamentos.

- Os tratamentos seguidos das mesmas letras não diferem significativamente ao nível de 5% de probabilidade entre si.

NORMAIS



DIABÉTICOS

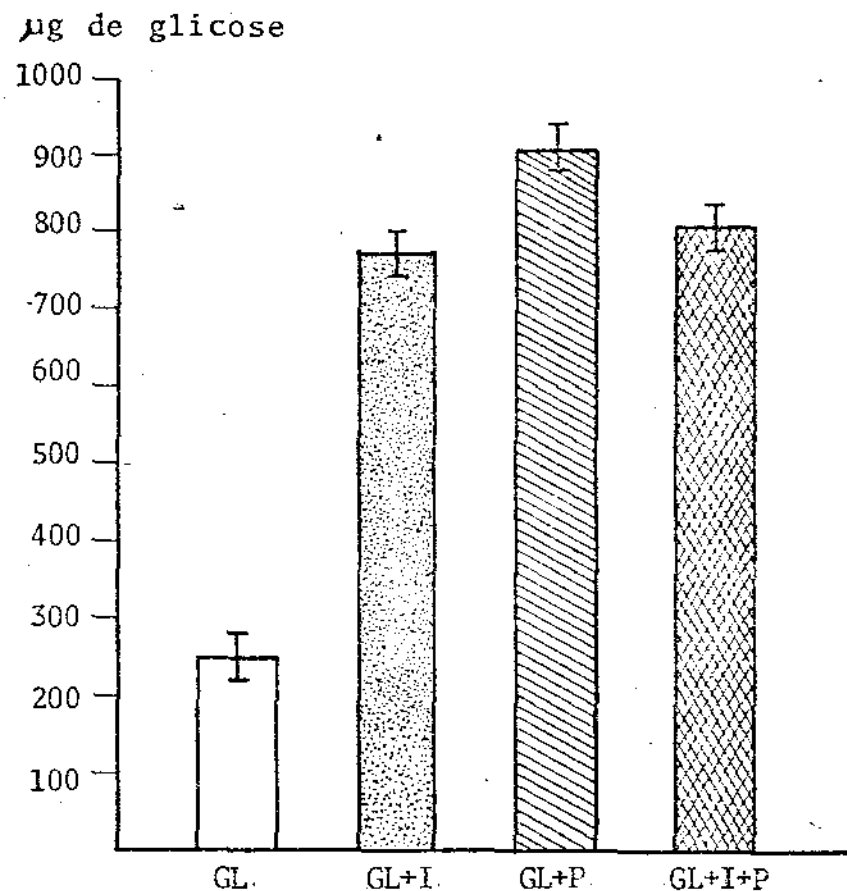


GRÁFICO 10:- Glicose incorporada (micrograma/ grama de peso seco de tecido/hora) dos sistemas experimentais contendo glicose (GL); glicose + insulina (GL+I); glicose + Parotin (GL+P) e glicose + insulina + Parotin (GL+I+P)- dos ratos normais e diabéticos, com seus respectivos desvios padrões.

4.2.2 - Consumo de Oxigênio ($\mu\text{l/h/g}$ de pêso
seco de tecido):-

A análise de variância, dos dados obtidos so
bre o consumo de oxigênio dos diferentes ensaios biológico
cos, revelou que existem diferenças significativas ao ní
vel de 1% de probabilidade, tanto para os animais do Grupo
I quanto para os do Grupo II (Tabela XIII).

As médias dos valores encontrados sobre o con
sumo de oxigênio por hora, dos diferentes sistemas experi
mentais empregados podem ser observados na Tabela XIV. O
teste de Tuckey, desses dados, revelou que existem diferen
ças significativas ao nível de 5% de probabilidade entre
todos os ensaios para ambos os Grupos.

Observou-se que o consumo de oxigênio pelo te
cido gorduroso do epidídimo de ratos normais do sistema ex
perimental que continha glicose; glicose e insulina; glico
se e Parotin e glicose mais insulina-Parotin foi, respec
tivamente de $29,62 \pm 2,4$; $101,65 \pm 4,5$; $73,78 \pm 3,8$ e
 $61,58 \pm 5,7$. A diferença mínima significativa encontrada
para este Grupo foi de 6,94 (Tabela XXI do apêndice).

Para os animais diabéticos, utilizando o siste
ma experimental semelhante ao grupo anterior, encontrou-se
os valores respectivos de $34,78 \pm 4,7$; $125,13 \pm 5,5$; $243,13$
 $\pm 8,5$ e $167,62 \pm 8,4$ com a diferença mínima significativa
de 2,86 (Tabela XXII do apêndice).

Os dados do consumo de oxigênio em função do
tempo de incubação, nos diferentes ensaios analisados po

dem ser encontrados nas Tabelas XXIII, XXIV, XXV, XXVI, XXVII, XXVIII, XXIX e XXX (apêndice) e Gráficos 11 e 12.

Ainda, através dessa análise, verificou-se que para os animais normais (Grupo I), o efeito da insulina sobre o consumo de oxigênio, quando comparado com o ensaio que continha somente glicose, foi mais efetivo que o do parotin e insulina-Parotin (Tabela XXI do apêndice).

Por outro lado, para os animais diabéticos (Grupo II), notou-se que o efeito mais acentuado sobre o consumo de oxigênio, foi do Parotin (Tabela XXII do apêndice).

A mesma análise demonstrou também que os animais diabéticos, em todos os sistemas utilizados, consumiram mais oxigênio que os normais (Tabela XIV).

Os dados do Grupo III são apresentados pelos Gráficos 2 e 3 do apêndice que mostram a quantidade de tecido que deveria ser usado. Verificou-se que, tanto para a incorporação quanto para o consumo de oxigênio, a melhor quantidade variou entre 250 a 400mg de tecido.

TABELA XIII - Valores de F e coeficiente de variação (C.V.) dos ensaios analisados sobre o consumo de oxigênio.

Ratos	F	C.V.
Normais	290,30**	6,44
Diabéticos	925,00**	4,91

** Significativo ao nível de 1% de probabilidade.

TABELA XIV - Consumo de oxigênio dos animais normais e diabéticos.

Ensaio Biológico	Ratos	Normais	Diabéticos
glicose	a	29,62	a 34,78
glicose + insulina	b	101,65	b 125,13
glicose + Parotin	c	73,78	c 243,13
glicose + Parotin + Insulina	d	61,58	d 167,62
Erro padrão da Média		1,75	2,86
Dif. Mínima Significativa (5%)		6,94	11,32

Valores médios, Erro padrão da média e diferença mínima significativa do consumo de O_2 "In Vitro" (microlitro/ grama de peso seco de tecido/hora) dos animais normais e diabéticos, cujo sistema experimental era constituído de glicose, glicose + insulina, glicose + Parotin, glicose + Parotin + insulina.

- Os tratamentos seguidos das mesmas letras não diferem significativamente ao nível de 5% de probabilidade entre si.

- —●— INSULINA
- —○— PAROTIN
- + —+— PAROTIN + INSULINA
- —□— GLICOSE

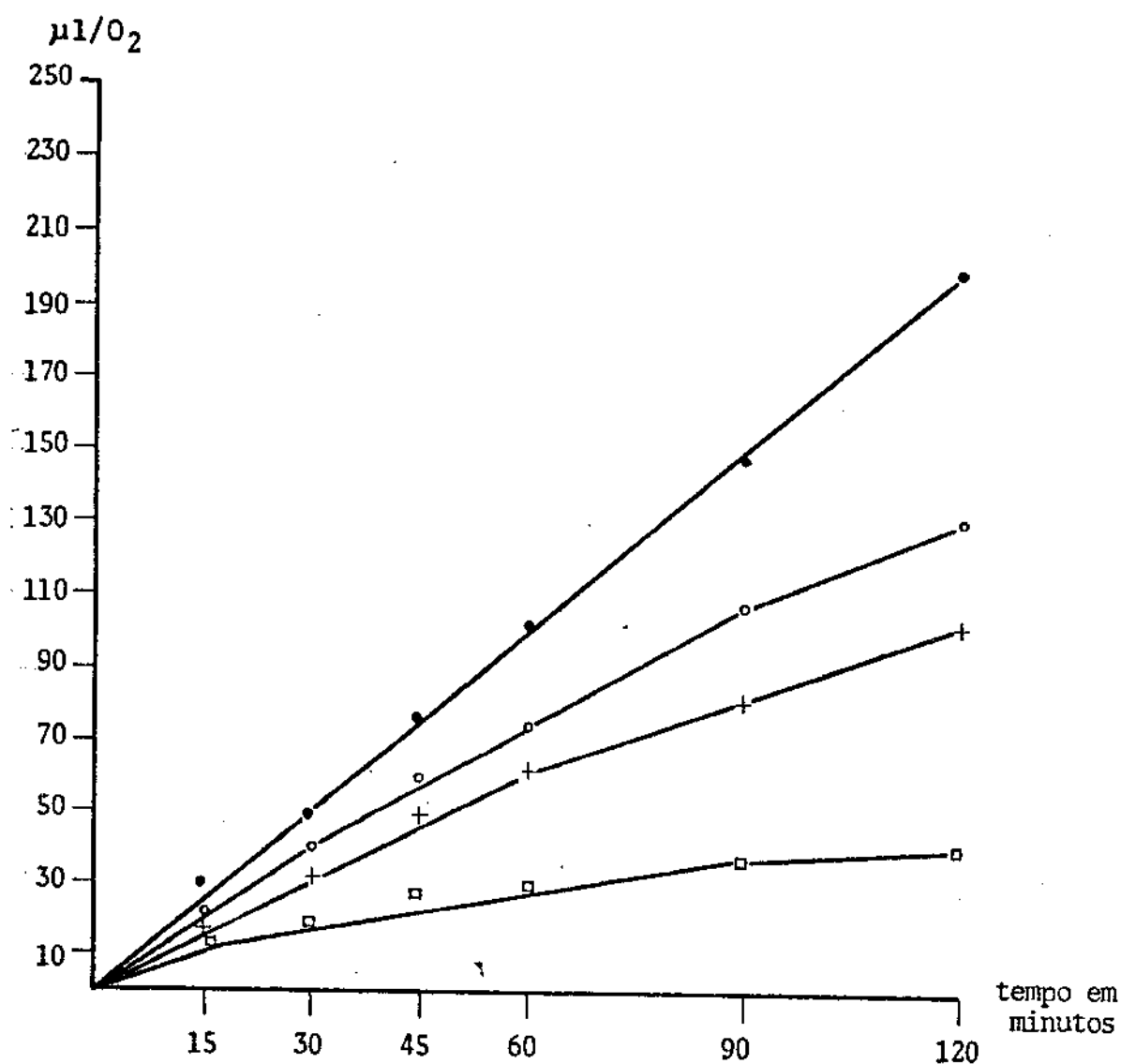


GRÁFICO 11:- Consumo de oxigênio (microlitro/ grama de peso seco de tecido) em função do tempo de incubação de ratos normais.

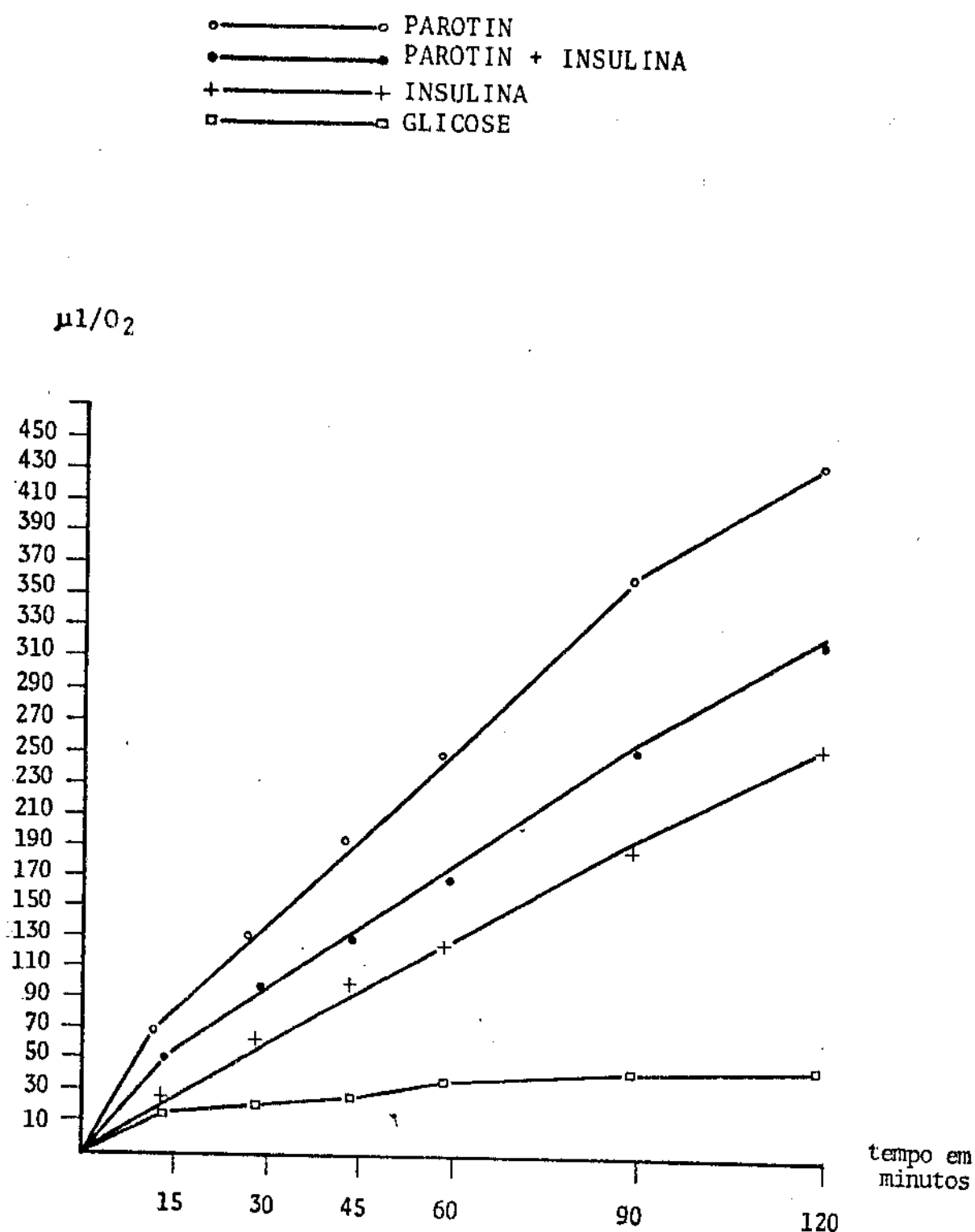


GRÁFICO 12:- Consumo de oxigênio (microlitro/ grama de peso seco de tecido), em função do tempo de inubação de ratos diabéticos.

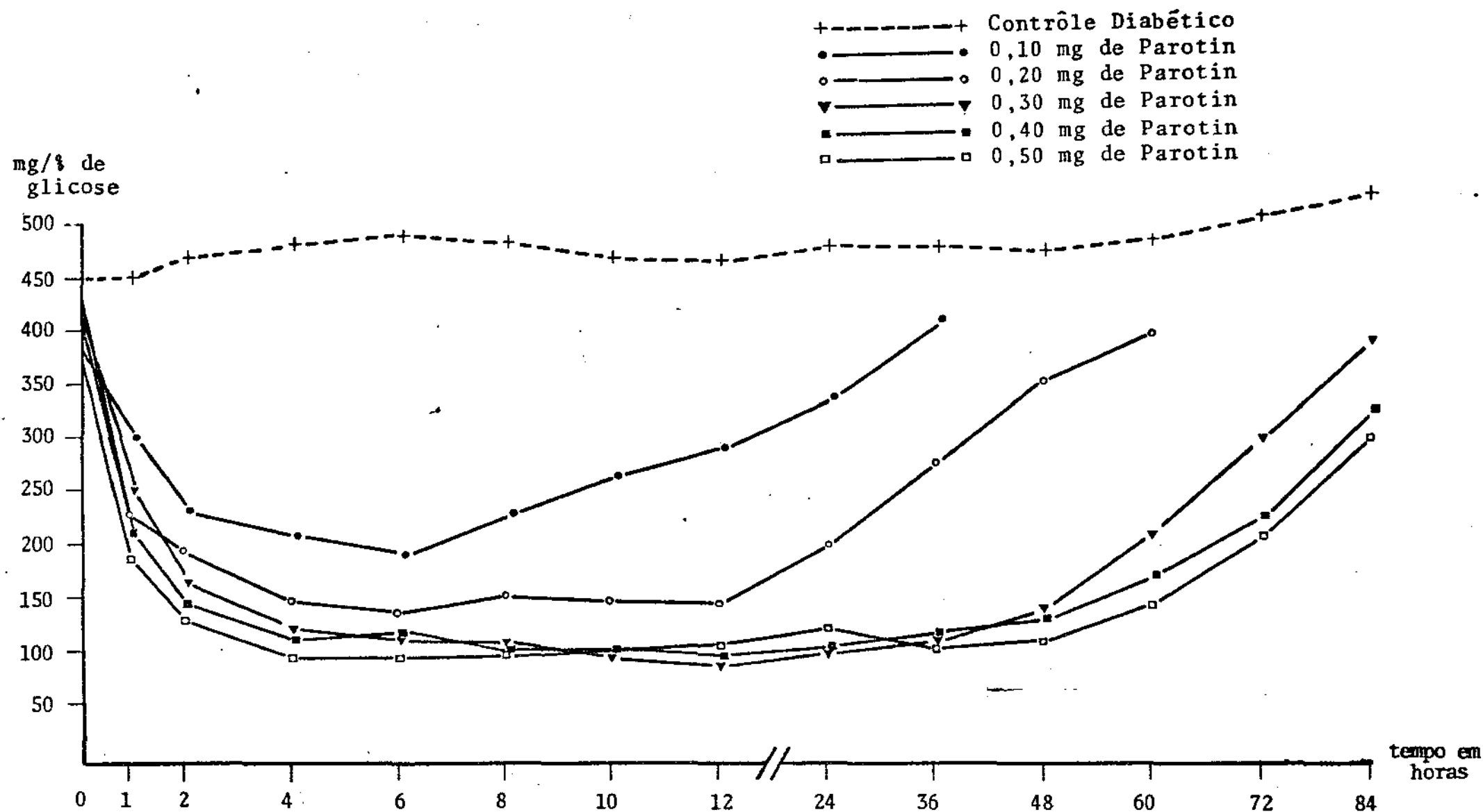


GRÁFICO 13:- Valores médios da glicemia (miligramas %) nos diferentes intervalos de tempo, antes (representado pelo tempo zero) e após a administração de 0,10; 0,20; 0,30; 0,40 e 0,50 miligramas/100 gramas de peso corporal de Parotin (Grupo IV) e dos animais controles diabéticos (Grupo II).

CAPÍTULO V

DISCUSSAO

5 - DISCUSSÃO

5.1- Estudo da Glicemia

Para que os efeitos do Parotin sobre a glicemia possam ser corretamente avaliados, impõe-se a comparação dos níveis glicêmicos dos animais intactos e diabéticos experimentais controles com aqueles que receberam diferentes doses de insulina e Parotin.

Ao observar-se os resultados apresentados no capítulo anterior, verifica-se que tanto os animais do Grupo I, quanto os do Grupo II, nas quatro primeiras dosagens apresentaram ligeiro aumento da glicemia (Tabelas II, III e Gráfico 4). Esse fato, provavelmente, seja devido ao "stress" provocado nos animais, através da manipulação dos mesmos na coleta de sangue, em intervalos de tempo mais curtos, com grandes descargas de catecolaminas pelo sistema neurovegetativo e adrenais, provocando a glicogenólise e a inibição da secreção de insulina, com consequente elevação da glicemia (BEST & TAYLOR'S 1976).

Essas observações podem ser confirmadas nos animais do Grupo I, através dos valores glicêmicos obtidos nos intervalos de tempo mais prolongados, onde as variações ocorridas estão dentro das taxas fisiológicas.

Por outro lado, o maior aumento da glicemia, notado nos intervalos de tempo de 60, 72 e 84 horas, dos animais do Grupo II, poderia ser explicado em decorrência da completa necrose das células beta das ilhotas de Langerhans,

provocada inicialmente pelas drogas diabetogênicas e posteriormente pelo alto nível de glicose sanguínea.

Os resultados referentes aos valores glicêmicos dos subgrupos IIIa, IIIb, IIIc, IIId e IIIe, mostram que todos os animais morreram em estado de hipoglicemia, num período máximo de 8 horas. Do exposto, pode-se verificar que, evidentemente, as concentrações de insulina foram excessivas, acarretando choque insulínico.

Entretanto, os animais dos subgrupos IVa, IVb, IVc, IVd e IVe, que receberam diferentes concentrações de Parotin, equivalentes às aquelas utilizadas para a insulina dos subgrupos anteriores, apresentaram queda da glicemia, sem, todavia, causar a morte dos animais (Gráficos 5, 6, 7, 8 e 9).

A análise de variância e o teste de Tuckey dos resultados obtidos entre os animais do Grupo II e Grupo IV revelam que existem diferenças significantes entre ambos os Grupos (Tabela IX e X). Essas observações indicam ainda, que a glicemia dos animais diabéticos que receberam Parotin foi significativamente menor que a dos animais diabéticos, para todas as concentrações e em todos os intervalos de tempo.

O tratamento estatístico desses Grupos, demonstra ainda que a medida que aumenta a concentração do Parotin, maior é a velocidade da queda da glicemia e que, quanto menor a concentração, mais rápido é o retorno ao estado diabético (Gráfico 13).

Desse modo, pode-se observar que os animais do subgrupo IVa, que receberam Parotin em doses de 0,10mg/100

g de peso corporal, não mostraram uma queda da glicemia próxima aos níveis normais e seus efeitos foram de menor intensidade, verificando-se elevação da glicemia já no período de oito horas, atingindo o nível considerado diabético às 24 horas (Gráfico 13).

Quanto aos animais do subgrupo IVb, que receberam 0,20 mg de Parotin, nota-se que o seu efeito foi mais pronunciado que o anterior, tanto com relação à queda da glicemia, quanto à sua duração, mantendo-se com a glicemia reduzida quando comparada com os seus valores iniciais, num período de 4 a 12 horas, sem entretanto atingir os valores fisiológicos, apresentando nos intervalos subsequentes uma elevação progressiva da glicemia, alcançando os valores diabotômicos nas dosagens de 48 e 60 horas (Gráfico 13).

Na comparação dos animais do subgrupo IVc, (0,30 mg) e dos anteriores, encontra-se que os efeitos desta concentração, nos níveis sanguíneos da glicose, foram mais intensos e duradouros. Observa-se ainda, que os valores glicêmicos de 6 a 36 horas mantiveram-se dentro dos limites fisiológicos, retornando aos seus valores iniciais somente na dosagem de 84 horas (Gráfico 13).

Ainda para confirmar o efeito da diminuição da glicemia pelo Parotin, utilizou-se as concentrações de 0,40 e 0,50 mg (subgrupos IVd e IVe). Ao analisar esses resultados, observa-se que, efetivamente, os efeitos dessas concentrações foram mais pronunciados e duradouros tanto na velocidade quanto na intensidade que os dos demais subgrupos, pois que os valores glicêmicos apresentados, já atingiram valores fisiológicos nas primeiras 4 horas, mantendo-os por

um intervalo de 36 horas. A seguir, iniciou-se uma discreta elevação da glicemia, sem porém, alcançar os níveis glicêmicos diabetogênicos durante todo o período estudado (Tabela X e Gráfico 13).

Do exposto é oportuno ressaltar que, pela análise dos dados obtidos, os melhores efeitos obtidos do Parotin sobre a diminuição da glicemia, ocorreram com as concentrações de 0,40 e 0,50 mg/100 g de pêso corporal.

Os nossos resultados demonstram que a atividade biológica do princípio ativo Parotin, além daquelas encontradas por TAKAOKA (1952) TASAKA (1953), MORI (1953), SAZAKI (1953), ITO & TSURUFUJI (1953), OKUDAIRA (1954), ITO (1954), TAKIZAWA (1954), YAMAGUCHI (1954), KONO (1955), NARITA (1955), AKITA (1956), ITO & ENDO (1956), IAMAGAWA - (1957), ARAI & YAGI (1958), FLEMING (1959 e 1960), ITO (1960), CHAUNCEY et alii (1963), OSORIO & KRAEMER (1964 e 1965), LAZARUS & SHEPHERD (1969), CHATELUT et alii (1970) e TEIXEIRA et alii (1976), também atua sobre o nível glicêmico e conseqüentemente participa do metabolismo de carboidratos o que vem confirmar a importância das glândulas salivares na interação das diversas atividades biológicas.

Os resultados obtidos por diversos pesquisadores, que procuraram mostrar a interação das glândulas salivares e o nível glicêmico, tanto em animais normais quanto em diabéticos são bastante divergentes.

MANSFELD (1928) considerou que as glândulas salivares se assemelham embriológica e morfológicamente com o pâncreas e que a ligação dos seus ductos, desse modo, poderia convertê-las em glândulas endócrinas. Verificou que

após a ligação dos ductos das parótidas o nível sanguíneo da glicose diminuía e com a posterior extirpação das glândulas a glicemia voltava aos seus valores normais, concluindo que as glândulas parótidas produzem uma substância que estimula a função do pâncreas.

UTIMURA (1927) SEELIG (1928) e De TAKÁTS(1930) além de confirmarem os dados de MANSFELD, descrevem vários casos, onde a ligação dos ductos das glândulas parótidas, melhorava os sintomas clínicos do diabetes.

ROSENFELD (1933) confirmou que a hipoglicemia subsequente à ligação dos ductos das parótidas ocorria, porém era mais devido à absorção da amilase ou ptialina do que de uma secreção interna de uma substância semelhante à insulina.

A nosso ver, os dados dos autores que verificaram uma diminuição da glicemia após a ligadura dos ductos poderiam também ser explicados pela participação endócrina das glândulas salivares. Segundo OGATA (1955) e PETERSEN (1972), as substâncias secretadas pelas células dos acinos, normalmente na passagem pelos ductos eferentes, permitem reabsorções entre estes e os túbulos estriados.

A importância fundamental dos túbulos estriados baseia-se no armazenamento e no transporte de diversas substâncias, em ambos os sentidos, e para o líquido intersticial linfático. Ora, com a ligadura dos ductos, haveria bloqueio na passagem do conteúdo salivar para a cavidade oral, com conseqüente aumento de pressão no sentido do ducto eferente para os túbulos estriados, facilitando o processo de difusão para os vasos que o circundam.

Como já foi demonstrada a existência de diversos princípios ativos produzidos pelas glândulas salivares (COHEN, 1960 e 1962; BAST & MILLS, 1963; ADLER & NARBAITZ, 1965; ATTARDI et alii 1967; HOSHINO & LIN, 1968; LAWRENCE et alii 1977 e ARRUDA VEIGA, 1979), e principalmente o Parotin, o qual apresenta a propriedade de diminuir a glicemia, como ficou demonstrado no presente trabalho, possivelmente, o efeito da ligadura estaria aumentando a liberação desse fator, que automaticamente seria reabsorvido pelo sangue, exercendo dessa maneira o seu efeito no metabolismo de carboidratos.

Desse modo, caberia uma eventual analogia com as funções dos núcleos paraventriculares e supra-óticos do hipotálamo cujos extratos apresentam funções semelhantes, porém as substâncias elaboradas pelos respectivos núcleos, que são encontradas nos pituicitos da neuro-hipófise apresentam, em doses farmacológicas, funções diferentes. Essas observações levam a crer, que no trajeto ou no armazenamento, essas substâncias sofreriam mudanças nas suas cadeias de amino-ácidos, caracterizando então os hormônios ocitocina e antidiurético (GUYTON, 1977).

No caso específico das glândulas salivares, as células dos ácinos seriam responsáveis pela elaboração das substâncias precursoras dos diversos princípios ativos encontrados nas células dos túbulos estriados e durante o seu armazenamento se transformariam nos diferentes hormônios. Outra hipótese que poderia ser aventada, é que as próprias células tubulares, que contêm granulos de secreção, estivessem elaborando os diferentes princípios ativos, à

semelhança também das células justaglomerulares dos rins, na elaboração da renina (BING & FARUP, 1965).

Essas observações podem ser reforçadas pelas pesquisas realizadas, recentemente, por FRAZIER, ANGELETTI & BRADSHAW (1972). Esses autores, baseando-se na similaridade de estrutural, função e origem do fator de crescimento nervoso (N.G.F.) das glândulas salivares e insulina ou pro-insulina sugerem uma relação funcional dessas moléculas. Embora, o papel endócrino das glândulas salivares não esteja bem esclarecido, a atividade do NGF encontrada no sangue e órgãos periféricos, é imunologicamente idêntica daquele NGF isolado das glândulas submandibulares. A composição estrutural do NGF e insulina indicado pela similaridade de suas estruturas primárias, pode ser responsável pela estimulação metabólica produzida pela insulina em neurônios sensíveis ao N.G.F. e, apesar da necessidade de melhores esclarecimentos quanto a relação dessas duas substâncias, pode-se aceitar que o NGF atua, primariamente, como um hormônio, presumivelmente, através do complexo fator-receptor.

Ainda, possivelmente, as células dos acinos poderiam apresentar diferentes receptores, tais como glicoreceptores, osmoreceptores, nervosos e outros, que funcionariam nos mecanismos de retro-alimentação procurando manter, como órgão assessor, a homeostase do organismo, já que diferentes estímulos podem causar diferenças qualitativas e quantitativas da saliva (SCHNEYER & HALL, 1965, 1966; DAWES 1966; MASON, HARDEN & ALEXANDER, 1966; e ERICSON 1969).

HOSHINO et alii (1976) analisando os níveis glicêmicos de camundongos diabéticos experimentais, após a li-

gadura bilateral dos ductos salivares, verificou que a queda da glicemia foi mais acentuada e significativa, somente, quando ambos os ductos, parótida e submandibular, eram simultaneamente ligados, concluindo que nesse processo, deixaria de atuar alguma substância antagonista da insulina.

Pelos resultados encontrados por estes autores pode-se depreender que, possivelmente, quando realizaram a ligadura de uma só glândula, a quantidade de Parotin absorvida pelo sangue tenha sido insuficiente para promover grandes quedas da glicemia; entretanto, quando eram ligados os ductos excretores das glândulas parótidas e submandibulares, ambas que produzem Parotin (TAKIZAWA, 1954; OGATA 1955 e ITO 1954 e 1960), obtiveram maior concentração - desse princípio ativo no sangue o que acarretou quedas glicêmicas mais pronunciadas e significativas.

Esta hipótese pode ser reforçada pelos dados encontrados por GUIMARÃES et alii (1979) que, propondo-se a verificar os efeitos da parotidectomia sobre a glicemia e a taxa de glicogênio hepático, demonstraram que a ausência dessas glândulas promove um significativo aumento da glicemia com diminuição do teor de glicogênio hepático.

Por outro lado, os resultados de HIKI et alii (1930, 1933 e 1934) e de OGATA (1955) revelaram que a sia loadenectomia induzia acentuada hipoglicemia com aumento da tolerância à glicose.

BIRNKRANT (1941) e BIRNKRANT & SHAPIRO (1942) concluíram que a ausência das parótidas, definitivamente, diminui os níveis de glicose sanguínea e que a ligadura parcial de seus ductos e a administração dos extratos das

glândulas parótidas, promovem uma marcada elevação da glicemia.

Essas observações foram confirmadas por HILL (1955) e PARHOM et alii (1957) que obtiveram dos extratos das parótidas, um fator hiperglicemiante denominado de anti-insulínico, e que injetado em pacientes portadores de hiperinsulinismo provocava um aumento estável do nível glicêmico.

Quanto aos resultados dos autores que encontraram hiperglicemia após a parotidectomia, ao nosso ver, a ausência dessas glândulas salivares, além de remover a função do Parotin, induziria à hiperfunção compensadora das demais glândulas, submandibulares e sublinguais, com consequente aumento da secreção do fator inibidor da insulina descrito por GODLOWSKI & CALANDRA (1960), GODLOWSKI (1962 e 1968), GODLOWSKI et alii (1971) e HOSHINO et alii (1976) bem como o aumento da elaboração e secreção do "glucagon-like" encontrado recentemente por LAWRENCE et alii (1977).

Entretanto quanto às observações de que a ligadura dos ductos das parótidas e a administração de seus extratos levam a uma hiperglicemia, caberiam aqui, três hipóteses:- 1. verificar o estado funcional dessas glândulas, pois segundo RABINOVITCH, ROTCHILD & JUNQUEIRA (1952) e LIN (1971), a ligadura dos ductos induz a uma atrofia com degeneração dos acinos, perdendo portanto suas atividades e conseqüentemente, deixando de secretar o Parotin; 2. a existência também nas glândulas parótidas do "glucagon-like" descrito por LAWRENCE et alii (1977) para as submandibulares, e, desse modo os autores ao invés de injetarem o Parotin es

tariam administrando o glucagon cuja resposta seria elevação da glicemia, ou ainda a existência na glândula parótida de um fator inibidor de insulina (HOSHINO et alii 1976); 3. os resultados tanto da ligadura, quanto do efeito de seus extratos, dependeriam de estímulos de diferentes receptores das glândulas salivares para a manutenção de homeostase, como nos resultados obtidos por PARHOM et alii (1957).

A interação das glândulas salivares com o metabolismo de carboidratos encontra forte apoio nas observações clínicas de FLAUM (1932), FERRETI (1936), DOBREFF (1936), GALPERIN (1947), HALMOS & SOMOGIY (1962), DAVIDSON et alii (1969), GARCIA et alii (1971) que concluíram ser a hipertrofia das glândulas parótidas, encontrada nos diabéticos, um mecanismo compensador da hiperglicemia, preconizando ainda que o teste de tolerância à glicose deveria ser feito, rotineiramente, em todos os pacientes com aumento assintomático das glândulas parótidas, o que possibilitaria diagnosticar diferentes tipos de diabéticos.

Os nossos resultados, quanto ao efeito do Parotin na diminuição da glicemia de ratos diabéticos são concordantes com aqueles encontrados por FLEMING (1962) em camundongos normais. Todavia, as afirmativas desse autor, nas quais o Parotin promovia hiperplasia e hipertrofia das ilhotas de Langerhans, não foram concordantes visto que GUIMARÃES (1976) observou, através de cortes histológicos, que o pâncreas de animais diabéticos experimentais que receberam Parotin, não apresentou regeneração celular, além disso, os nossos resultados revelam que não obstante a ação do Pa

rotin em diminuir a glicemia, o seu efeito apesar de prolongado, é temporário. Essas observações são ainda fortalecidas por CHAUNCEY et alii (1963) onde afirmaram que o Parotin não apresentou efeitos em animais normais.

Deve-se acrescentar ainda, os trabalhos de DUNN et alii (1943), DUNN & McLEITCHIE (1943), GOMORI & GOLDNER (1943), GOLDNER & GOMORI (1943), BAILEY (1943), LAZAROW & PALAY (1946), CAVALLERO (1947), RUANGSIRI (1949) e SOLOMON et alii (1974) relacionados com a produção do diabetes experimental em ratos, através da aloxana, demonstraram que, e fetivamente, essa substância produz necrose irreversível - das células beta das ilhotas de Langerhans do pâncreas, que se completa nas 48 horas após a sua administração, persistindo por um período de 176 dias.

A mesma ação diabetogênica da aloxana foi caracterizada pelo Streptozotocin, que apresenta também seletiva e irreversível necrose das células beta. (RAKIETEN & NADKARNI, 1963; RERUP & TARDING, 1968; JUNOD et alii 1969; BROSKY & LOGOTHETOPOULOS, 1969; PITKIN & REYNOLDS, 1970; STAUFFACHER et alii, 1970; SCHEIN et alii, 1971 e HOFTIEZER & CARPENTER, 1973) que concluíram também não existir diferenças significativas entre as duas substâncias. Desse modo, seria praticamente impossível a regeneração das células beta, sob o efeito do Parotin, bem como estimular a ação da insulina.

A obtenção do diabetes por pancreatectomia total, não foi utilizada, pois segundo LUKENS (1948), difícilmente, os animais sobrevivem, devido aos problemas colaterais da falta de enzimas digestivas produzidas pelo pâncreas exócrino.

5.2 - Estudos "In Vitro"

Analisando o mecanismo de ação do Parotin, com a finalidade de verificar se o mesmo teria ação própria em nível celular, realizou-se estudos "In Vitro", com o objetivo de analisar a incorporação da glicose e consumo de oxigênio em tecido adiposo de epidídimo de ratos, tanto em animais normais, quanto em diabéticos.

Para observar o efeito do Parotin sobre a incorporação da glicose e o consumo de oxigênio, tornou-se necessário estabelecer um sistema experimental que permitisse comparações. Desse modo, utilizou-se para os animais do Grupo I (normais) e Grupo II (diabéticos) diferentes ensaaios biológicos cujos sistemas experimentais eram:- a) endógeno; b) glicose; c) glicose + insulina; d) glicose + Parotin; e) glicose + Parotin + insulina.

A análise de variância dos resultados referentes à incorporação da glicose (micrograma/mg de pêso de tecido/hora) indica que existem diferenças significativas ao nível de 1% em ambos os Grupos (Tabela XI). A comparação através do teste de Tuckey entre as diferenças dos valores médios da incorporação da glicose nos diferentes tratamentos é idêntica para os dois Grupos conforme Tabela XII.

Este teste revela que os efeitos da insulina, Parotin e insulina + Parotin sobre a incorporação da glicose, foram significativamente maiores, ao nível de 5% de probabilidade, que aquele que continha somente glicose, tanto para o Grupo I, quanto para o Grupo II.

Ao observar-se os dados dos Grupos I e II dos ensaios que continham somente glicose, nota-se que a incorporação da glicose foi maior nos animais normais (Gráfico 10). Este fato pode ser devido a maior taxa de insulina intersticial encontrada nos animais normais que nos diabéticos.

Por outro lado, a mesma análise revela que em ambos os Grupos, ao comparar-se os efeitos da insulina e do Parotin, que este mostrou-se mais efetivo sobre a incorporação da glicose. Entretanto, nota-se que não existem diferenças significativas entre os efeitos da insulina e insulina + Parotin (Gráfico 10).

Essas observações sugerem que tanto a insulina quanto o Parotin, separadamente, agem facilitando o processo de difusão da glicose, atuando ao nível de receptores celulares. Todavia a associação de ambos não apresenta uma adição de efeitos.

Poder-se-ia propor, portanto, que a insulina ocuparia o seu "sitio" próprio de receptores com mais facilidade que o Parotin, o que estabeleceria uma espécie de competição entre as duas substâncias, já que existe uma semelhança estrutural entre as duas proteínas.

No que concerne ao consumo de oxigênio a análise de variância revela que existem diferenças significativas ao nível de 1% entre os Grupos estudados, o que permite avaliar, através do teste de Tuckey, as diferenças existentes entre os diferentes ensaios biológicos.

Desse modo, nota-se (Tabela XIV) que nos animais do Grupo I, embora, somente em presença da glicose já

apresentasse uma pequena atividade respiratória, o maior consumo de oxigênio foi em presença da insulina, seguido dos efeitos do Parotin e da associação insulina + Parotin (Gráfico 11).

Quanto aos animais do Grupo II, as observações mostram que o maior efeito sobre o consumo de oxigênio é em presença do Parotin, seguido da associação insulina + Parotin e por fim o da insulina.

Pela análise desses dados pode-se depreender que nos animais normais os efeitos da insulina foram maiores que aqueles encontrados pelo Parotin; no entanto, no Grupo dos animais diabéticos, embora a insulina tenha aumentado o consumo de oxigênio em relação aos animais normais, o seu efeito foi nitidamente menor que aquele encontrado para o Parotin e pela associação insulina + Parotin.

Desse modo, ao nosso ver, o Parotin, além de agir ativamente na incorporação, possivelmente estaria atuando em vias diferentes, nos processos oxidativos, daquela encontrada pela insulina.

Esta hipótese pode ser suportada pelas observações de STETTEN et alii (1951) que injetando previamente glicose marcada em ratos diabéticos, verificaram que a incorporação de glicose circulante era menor e a fração transformada em CO_2 era reduzida quando comparada com os resultados de animais normais.

Além disso, WINEGRAD & RENOLD (1958) comprovaram que a presença da insulina "In Vitro", tem mostrado uma marcante ação em estimular a incorporação da glicose e a conversão da mesma em lipídios, pelo epidídimo de rato ,

sem um aumento significativo da oxidação.

Por outro lado, BALMAIN et alii (1950) e HAU GAARD & MARSH (1952), estudando o efeito da adição da insulina "In Vitro" pelo método manométrico em presença de glicose, demonstraram um aumento do consumo de oxigênio e ainda, que a insulina combina com o tecido adiposo de maneira similar com aquele encontrado no diafragma de rato.

OLEFSKY (1976), estudando o efeito da insulina no tecido adiposo e sobre células isoladas maiores, de animais velhos e obesos comparativamente com células isoladas menores, de animais jovens e normais, concluiu que o efeito máximo da insulina não deve ser relacionado basicamente com o processo de oxidação mas sim, na diminuição dos receptores nas células maiores ou devido a algum efeito no metabolismo da glicose, nos animais obesos e idosos.

A ação da insulina "In Vitro", encontrada nos nossos resultados são concordantes com aqueles encontrados por BALMAIN et alii (1950), KRAHL (1951), MILSTEIN & HANS BERGER (1956), RODBELL (1964), CROFFORD & RENOLD (1965) e JEANJEAN et alii (1977).

Os nossos resultados com relação ao efeito do Parotin sobre a incorporação da glicose e consumo de oxigênio são concordantes com aqueles de YUASA et alii (1955) e YUASA (1957) que observaram um aumento do consumo de oxigênio em homogenado de fígado. Além disso, esses autores concluíram que o Parotin, primeiramente acelera o processo de oxidação do ciclo do ácido Tricarboxílico e posteriormente a fosforilação oxidativa.

A confirmação das nossas observações pode ainda ser baseada nos resultados de AONUMA & YOSHIMURA (1954) e GUIMARÃES et alii (1979) onde os primeiros encontraram uma diminuição do piruvato sanguíneo, o que sugere um aumento do processo oxidativo e, os outros, um aumento da taxa de glicogênio hepático após administração do Parotin.

Quanto aos animais do Grupo III, os nossos resultados estão de acordo com SALANS & DOUGHERTY (1971) onde verificaram que a atividade da insulina no metabolismo da glicose é inversamente proporcional à quantidade ou peso de tecido e ao tamanho das células utilizadas.

Recentemente, ROBERTS & READE (1975) verificaram que a isoprenalina estimulante da secreção exócrina da submandibular, não produziu depleção do fator de crescimento epidermal. Isto suporta a proposição que as glândulas salivares, podem ter funções exócrinas bem como endócrinas.

Pelo que se pode auferir dos resultados deste trabalho, o mecanismo de ação do Parotin sobre o metabolismo de carboidratos, "In Vitro" não ficou completamente esclarecido, sugerindo pesquisas complementares, principalmente relacionadas com atividades enzimáticas dos processos oxidativos.

Essas observações são fortalecidas pelas de GLASMAN (1964) que através de uma extensa revisão da literatura sobre a atividade endócrina das glândulas salivares, concluiu que todas investigações inerentes, permitem, com certo grau de cautela, abrigar a esperança de uma me

lhor compreensão das relações endócrino-salivares.

Desse modo, muito daquilo que foi discutido de verã ser esclarecido com a realização de estudos mais pro fundos e completos; porém, sem dúvida alguma é um campo de pesquisa que deve ser explorado, no sentido de se obter no vos conhecimentos, para sua subsequente aplicação médica-biológica.

C A P Í T U L O VI
C O N C L U S Õ E S

6 - CONCLUSÕES

A análise e a discussão dos resultados obtidos dos estudos "In Vivo" e "In Vitro", subsidiam as seguintes conclusões:-

1- O princípio ativo Parotin promove, efetivamente, a redução da hiperglicemia de animais diabéticos experimentais;

2- A intensidade e a duração de efeito do Parotin sobre o nível glicêmico, dentre as doses utilizadas, mostrou ser diretamente proporcional à sua concentração;

3- O Parotin não apresenta efeito letal nas concentrações entre 0,10 e 0,50 mg/100 g de peso corporal;

4- A melhor atividade do Parotin em diminuir a glicemia de animais diabéticos, situa-se entre 0,40 e 0,50 mg/100 g de peso corporal;

5- As concentrações de insulina entre 0,10 e 0,50 mg/100 g de peso corporal, diminuem marcadamente a glicemia, porém causam a morte dos animais diabéticos;

6- Na produção do diabetes experimental, não existem diferenças significantes entre a aloxana e o Streptozotocin;

7- O efeito do Parotin sobre a incorporação da glicose é mais efetivo do que a insulina, tanto em animais

normais quanto em diabéticos experimentais;

8- A associação da insulina e Parotin não apresenta adição de efeitos sobre a incorporação da glicose no tecido gorduroso;

9- No consumo de oxigênio de tecido adiposo de animais normais, a insulina foi, respectivamente, mais efetiva que o Parotin e que a associação insulina-Parotin;

10- No consumo de oxigênio de tecido adiposo de animais diabéticos o Parotin foi, respectivamente, mais efetivo que a associação insulina-Parotin e que a insulina;

11- A associação de insulina-Parotin, no consumo de oxigênio de tecido adiposo de animais normais e de diabéticos não revelou adição de efeitos.

C A P Í T U L O V I I

R E F E R Ê N C I A S B I B L I O G R Á F I C A S

7 - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1 - ADLER, R. & NARBAITZ, R. Action of rat submaxillary - gland extracts on neural tube growth in orgão culture. J. Embryol. exp. Morph., 14:281-6, 1965.
- 2 - AKITA, K. J. Jap. stomat. Soc., 6, 1956. Apud BRACCINI, C. & SIERVO, R., op. cit. ref. 19.
- 3 - ANGELETTI, P.U.; LEVI-MONTALCINI, R.; CALISSANO, P. The nerve growth factor (NGF): Chemical proprieties and metabolic effects. Adv. Enzymol., 31:51,75, 1968.
- 4 - AONUMA, S. & YOSHIMURA, K. The studies on the salivary gland hormones. XXXI. Effect of Parotin on serum phosphate and bloode pyruvate. Jap. J. Pharm.Chem., 26:743-58, 1954.
- 5 - ARAI, Y. & YAGI, T. Protein and cholesterol metabolism. Clin. Endocr., 6:108-16, 1958.
- 6 - ARISON, R.N.; CIACCIO, E.I.; GLITZER, M.S.: CASSARO, J. A.; PRUSS, M.P. Light and electron microscopy of lesion in rats rendered diabetic with streptozotocin. Diabetes, 16:51-6, 1967.
- 7 - ARRUDA VEIGA, M.C.F. Purificação e caracterização de

- um peptídeo de glândulas submandibulares de camundongos machos com atividade tóxica renal. Campinas, 1979. (Tese (Mestrado) - Inst.Biologia - U.E.C.)
- 8 - ATTARDI, D.C.; SCHLESINGER, M.J.; SCHLESINGER, S. Submaxillary gland of mouse: Properties of a purified protein affecting muscle tissue in vitro. Science, 156:1253-5, 1967.
- 9 - AUNAP, E. Ueber die Beziehungen Zwischen Kernm Ergasto-Plasma und Mitrochondriender Parotiszellen der Ratte. Z. mikrosk. - anat. Forsch., 24:412-6, 1931.
- 10 - BAILEY, C.C. & BAILEY, O.T. Production of diabetes mellitus (from necrosis of islets of Langerhans) in rabbits with alloxan. J. Am. med. Ass., 122: 1165-6, 1943.
- 11 - BALMAIN, J.H.; FRENCH, T.H.; FOLLEY, S.J. 1950. Apud HAUGAARD, N. & MARSH, J.B. op. cit. ref. 67.
- 12 - BARKA, T. Partial purification of a mitotic supressor from the salivary gland. Expl. Molec. Path., 18: 225-33, 1973.
- 13 - BAST, E.M. & MILLS, K.S. Mouse submaxillary gland extract as a growth stimulator and orientor of chick cardiac cells in vitro. Growth, 27:295-301, 1963.
- 14 - BEACH, E.F.; BRADSHAW, P.J.; CULLIMORE, O.S. Effect os strain diferences on alloxan diabetes in albino rats. Diabetes, 5:105-11, 1956.

- 15 - BEST, C.H. & TAYLOR, N.B. As bases fisiológicas da prática médica, ed. por John R. Brobeck. 9.ed. Rio de Janeiro, Guanabara Koogan, 1976.
- 16 - BING, J. & FARUP, P. Location of renain (or a renin-like substance) in the submaxillary glands of albino mice. Acta path. microbiol. scand., 64(2):203-12, 1965.
- 17 - BIRNKRANT, W.B. The influence of the parotid gland on blood sugar. J. Lab. clin. Med., 26:1009-11, - 1941.
- 18 - _____ & SHAPIRO, R. The influence of a parotid extract on the blood sugar and structure of the pancreas of the rat. J. Lab. clin. Med., 27:510-8, - 1942.
- 19 - BRACCINI, C. & SIERVO, D.R. La parotina ormone delle ghiandole salivari. IV. Sua influenza sul processo de guarigione delle ferite sperimentali del ratto. Riv. ital. Stomat., 17:556-80, 1962.
- 20 - BROSKY, G. & LOGOTHETOPOULOS, J. Streptozotocin diabetes in the mouse and guinea pig. Diabetes, 18:606-11, 1969.
- 21 - BRUCKMANN, C. A method for the determination of alloxan. J. biol. Chem., 165:103-13, 1946.
- 22 - BUNNAG, S.C.; WARNER, N.E.; BUNNAG, S. Effect of alloxan on the mouse pancreas during and after recovery from diabetes. Diabetes, 16:83-9, 1967.

- 23 - CAVALLERO, C. Applications de la méthode colchicinique à l'étude du diabète alloxanique, chez le rat. Revue belge Path., 18:323-32, 1947.
- 24 - CHATELUT, D.B.J.; DARNAULT, J.; DUBSC, Q.J.; DAVID, J. F. Effects de l'ablation des glandes sous-maxillaires et de l'administration de "Parotine" sur la croissance du jeune rat. Endocrinologie, 164:1680-4, 1970.
- 25 - CHAUNCEY, H.H.; KRONMAN, J.H.; SPINALE, J.J.; SHKLAR, C. Effect of partial desalivation and parotin administration on Hamster epiphyseal plate. J. dent. Res., 42:894, 1963.
- 26 - COHEN, S. Purification of a nerve growth promoting - protein from the mouse salivary gland and its neurocytotoxic antiserum. Proc. natn. Acad. Sci. U.S.A., 46:306-11, 1960.
- 27 - _____. Isolation of a mouse submaxillary gland protein accelerating incisor eruption and eyelid opening in newborn animal. J. biol. chem., 237(5): - 1555-62, 1962.
- 28 - CROFFORD, O.B. & RENOLD, A.E. Glucose uptake by incubated rat epididymal adipose tissue. Rate-limiting-steps and site of insulin action. J. biol. Chem., 240(1):14-21, 1965.
- 29 - DAVIDSON, D.; LEIBEL, B.S.; BERRIS, B. A symptomatic-parotid gland enlargement in diabetes mallitus. - Ann. intern. Med., 70:31-8, 1969.

- 30 - DAWES, C. The composition of humana saliva secreted -
in response to a gustatory stimulus and to pilocar-
pine. J. Physiol., Lond., 183:360-8, 1966.
- 31 - DEMETRIOU, N.; THEODOSSIDU, A.; BAZOUPOULOU-KARKANIDOU
E.; SOTIRIOU, B. Some histological observations on
the pancreas, liver and spleen of salivariadenecto-
mized albino rats. Odontoiatrike, 70:261-2, 1970.
- 32 - DE TAKÁTS, G. Ligation of tail of pancreas in juveni-
le diabetes. Endocrinology, 14:255-62, 1930.
- 33 - DOBREFF, M. Compensatory hypertrophy of the parotid
gland in presence of hypofunction of pancreatic is-
lands. Dt. med. Wschr., 62:67-70, 1936.
- 34 - DULIN, W.E.; LUND, G.H.; GERRITSEN, G.C. Streptozoto-
cin-induced diabetes in the rat. Diabetes, 16:512-
3, 1967.
- 35 - DUNN, J.S. & McLEITCHIE, N.G.B. Experimental alloxan
diabetes in the rat. Lancet 2(6265):384-7, 1943.
- 36 - _____; SHEEHAN, H.L.; McLEITCHIE, N.G.B. Necrosis
of islets of Langerhans produced experimentally. -
Lancet 1(242):484-7, 1943.
- 37 - _____; KIRKPATRICK, J.; McLEITCHIE, N.G.B.; TELFER,
S.V. Necrosis of islets of Langerhans produced ex-
perimentally. J. Path. Bact., 55:245-57, 1943.
- 38 - ERICSON, S. An investigation of human parotid saliva
secretion rate in response to different types of

- stimulation. Archs oral Biol., 14:591-6, 1969.
- 39 - EVANS, J.S.; GERRITSEN, G.C.; MANN, K.M.; OWEN, S.P. - Antitumor and hyperglycemic activity of streptozotocin (NSC-37917) and its cofactor, U-15, 774. Cancer Chemother. Rep., 48:1-6, 1965.
- 40 - FARRONI, B. Funzione endocrina delle glandole salivari ed eliminazione degli zuccheri. Riv. crit. clin. med., 12:577-93, 1911.
- 41 - FERRANNINI, A. Glycosialorehée de sécrétion interne - des glands salivaires. Revue méd., Paris, 31: 269-73, 1911.
- 42 - FERRETI, G. Su due casi di ipertrofia, dele parotidi in diabetici. G. Clin. med., 17:1149, 1936.
- 43 - FLAUM, E. Parotishypertrophie, ein symptom des Diabetes Mellitus. Klin. Wschr., 11:1704, 1932.
- 44 - FLEMING, H.S. Parotin and growth centers of femurs and incisors in mice. J. dent. Res., 38:374-85, 1959.
- 45 - _____. The effects of parotin in mice. Ann. N. Y. Acad. Sci., 85:313-23, 1960.
- 46 - _____. Pancrease and parotin. Endocr. jap., 9:41-56, 1962.
- 47 - FRAZIER, W.A.; ANGELETTI, R.H.; BRADSHAW, R.A. Nerve growth factor and insulin. Strutural similarities - indicate an evolutionary relationship reflected by

- physiological action. Science, 176:482-8, 1972.
- 48 - FUKUSHIMA, M. The effect of salivary hormone upon the development of dental tissue. Trans. Jap. path. Soc., 30:245-59, 1940; 32:293-5, 1942.
- 49 - GALPERIN, S.I. 1947. Apud GLASMAN, F., op. cit. ref. 53.
- 50 - GARCIA, A.R.; BLACKARD, W.G.; TRAIL, M.L. Submaxillary gland removal: Effects on glucose and insulin homeostasis. Archs Otolar., 93:597-8, 1971.
- 51 - GAULT, S.D. The effect of parotidectomy on blood sugar levels in the rat and mouse. J. Lab. clin. Med. 43:119-22, 1954.
- 52 - GIROLAMO, M. & MENDLINGER, S. Glucose metabolism and responsiveness to bovine insulin by adipose tissue from three mammalian species. Diabetes, 21(12): 1151-61, 1972.
- 53 - GLASMAN, F. Actividad endocrina de las glandulas salivares. Semana med., 10:1287-90, 1964.
- 54 - GODLOWSKY, Z.Z. Endocrine function of submaxillary gland. Archs Otolar., 75:346-63, 1962.
- 55 - _____. The role of submaxillary glands in homeostasis of insulin. Diabetes, 17:325-6, 1968.
- 56 - _____. & CALANDRA, J.C. Salivary glands as endocrine organs, J. appl. Physiol., 15:100-5, 1960.

- 57 - _____; GAZDA, M.; WITHERS, B.T. Ablation of salivary glands as initial step in the management of selected forms of Diabetes Mellitus. Laryngoscope, 81(8):1337-58, 1971.
- 58 - GOLDNER, M.G. & GOMORI, G. Alloxan diabetes in the dog. Endocrinology, 33:297-308, 1943.
- 59 - GOLJANITZKI, J.A. Zur frage des eratzes der endokrinen druesen. Arch. Klin. Chir., 130:763, 1924.
- 60 - GOMORI, G. & GOLDNER, M.G. Production of diabetes mellitus in rats with alloxan. Proc. Soc. exp. Biol. Med., 54:287-90, 1943.
- 61 - GUIMARÃES, A. Influência da parotidectomia e do Parotín sobre o metabolismo de carboidratos de ratos jovens. Piracicaba, 1976. (Tese (Doutoramento)- Fac. Odontologia - U.E.C.)
- 62 - _____; TEIXEIRA, D.; VIZIOLI, M.R.; VIEIRA, S. Efeitos da parotidectomia sobre o nível glicêmico e o teor de glicogenio hepático. Revta bras. Pêsq. - méd. Biol., 12(1):53-61, 1979.
- 63 - GUYTON, A.C. Tratado de fisiologia médica. 5. ed. - Rio de Janeiro, Interamericana, 1977.
- 64 - HALMOS, T. & SOMOGYI, B. Investigations on the correlation between human saliva and carbohydrate metabolism. Nagy Belor. Arch., 15:220-5, 1962.
- 65 - HARD, W.L. & CARR, C.J. Experimental diabetes produced

- by alloxan. Proc. Soc. exp. Biol. Med., 55:214-6, 1944.
- 66 - HARDIN, A. Connection between the parotid glands and the generative organs. Lancet 1:374, 1886.
- 67 - HAUGAARD, N. & MARSH, J.B. Effect of insulin on the metabolism of adipose tissue from normal rats. J. biol. Chem., 194:33-40, 1952.
- 68 - HAUSBERGER, F.X.; MILSTEIN, S.W.; RUTMAN, R.J. The influence of glucose utilization in adipose and hepatic tissue in vitro. J. biol. Chem., 208:431-8, - 1954.
- 69 - HIKI, Y.; AKAZAKI, K.; BAN, T.; MIYAZAKI, J.; TAKIZAWA N. Experimental study of salivary glands. Trans. Jap. path. Soc., 22:273-80, 1932.
- 70 - _____; _____; _____; _____; _____; YOSHIDA, T. Experimental studies on diabetes mellitus Trans. Jap. path. Soc., 19:49-56, 1929.
- 71 - _____; _____; MIYASAKI, Y.; TAKIZAWA, N.; BAN, T.; YOSHIDA, T.; NISHIMURA, S. On the internal secretion of the salivary gland. Tokio Igakukai zasshi, 47:773-814, 1161-83, 1199-248, 1485-546, 1814-71, 2283-436, 1933, ibid 48:856-78, 1934.
- 72 - _____; BAN, T.; AKAZAKI, K.; TAKIZAWA, N.; MIYAZAKI Y. Experimental studies on the salivary gland. - Trans. Jap. path. Soc., 20:130-3, 1930.

- 73 - HILL, T.J. 1955. Apud GLASMAN, F., op. cit. ref. 53.
- 74 - HOFTIEZER, V. & CARPENTER, A.M. Comparison of streptozotocin and alloxan-induced diabetes in the rat, including volumetric quantitation of the pancreatic islet. Diabetologia, 9:178-84, 1973.
- 75 - _____; _____; HEGGESTAD, C.B. Comparison of streptozotocin and alloxan-induced diabetes in the rat. Anat. Rec., 169:341, 1971.
- 76 - HOSHINO, K. & LIN, C.D. Transplantability of salivary glands of mice and its lethal effects on the hosts. Anat. Rec., 160:474-5, 1968.
- 77 - _____; _____. Lethal factor released from submandibular grafts in mice. Can J. Physiol. Pharmac., 46:329-34, 1969.
- 78 - _____; DECKER, R.F.; MOLNAR, F.; KIM, Y.T. Hypoglycaemic effects of salivary duct ligation upon diabetes mellitus in mice. Archs oral Biol., 21:105-11, 1976.
- 79 - HOUSSAY, B.A.; BRIGNONE, F.; MAZOCCO, P. Diabetes metaaloxanica en el perro. Revta Soc. argent. Biol., 22:195-231, 1946.
- 80 - IMAGAWA, Y. The clinical effects of salivary gland hormone (Parotin and saliva-Parotin) for the treatment of alveolar pyorrhea. Bull. Tokyo med. Univ., 5:135-43, 1957.

- 81 - ISHII, Z. Changes in the dental and peridental tissues in albino rats injected with parotid and submaxillary salivas of dog. Trans. Jap. path. Soc., 33: 303-5, 1943.
- 82 - ITO, Y. Biochemical studies on salivary gland hormone. Endocr. Jap., 1:1-50, 1954.
- 83 - _____. Parotin: a salivary gland hormone. Ann. N. Y. Acad. Sci., 85:228-310, 1960.
- 84 - _____ & ENDO, H. Studies on the salivary gland hormones in tissue culture. I- The effects of Parotin on the longitudinal growth and calcium deposition of chick embryo femora in vivo. Endocr. jap., 3: 106-15, 1956.
- 85 - _____ & MYZUTANI, A., Studies on the salivary gland hormones. J. Pharm. Soc. Japan, 72:239-44, 1952.
- 86 - _____ & OKABE, S. Studies on the physiological chemistry of the salivary glands. XI. Physico - chemical and biological properties of saliva-parotin-A. Endocr. jap., 6:171-9, 1959.
- 87 - _____; MORIWAKI, C.; MORIYA, H. Studies on the oral administration of saliva-parotin-A. II. Effects on the epiphyseal growth of tibia in rats. Endocr. jap., 12(4):305-11, 1965.
- 88 - ITO, Y.; TSURUFUJI, S. Studies on the salivary gland hormone. XXIII. Effect of parotin on serum protein level. J. Pharm. Soc. Japan, 73:151-5, 1953.

- 89 - _____; TSURUFUKI, S. & KUBOTA, Y. Studies on the salivary gland hormone. XXV. Effect of parotin on the distribution of radioactive ^{32}P in vivo. J. Pharm. Soc. Japan, 74:350-7, 1954.
- 90 - ITZHAKI, S. & WERTHEIMER, E. Metabolism of adipose tissue in vitro: nutritional factors and effect of insulin. J. Physiol., 61:72-8, 1957.
- 91 - JACOBS, H.R. Hypoglycemic action of alloxan. Proc. Soc. exp. Biol. Med., 37:407-11, 1937.
- 92 - JEANJEAN, M.; DEHEZ-DELHAYE, M.; GOMMERS, A. Effet de l'age sur la réponse à l'insuline in vitro chez le rat. II. métabolisme glucidique du tissu adipeux épipididymaire. Gerontology, 23:127-33, 1977.
- 93 - JUNOD, A.; LAMBERT, A.E.; STAUFFACHER, W.; RENOLD, A. E. Diabetogenic action of streptozotocin: relationship of dose to metabolic responses. J. clin. Invest., 48:2129-39, 1969.
- 94 - _____; _____; ORCI, L.; PICTET, R.; GONET, A.E.; RENOLD, A.E. Studies of the diabetogenic action of streptozotocin. Proc. Soc. exp. Biol. Med., 126:201-5, 1967.
- 95 - KASS, E.H. & WAISBREN, B.P. A method for consistent induction of chronic hyperglycemia with alloxan. Proc. Soc. exp. Biol. Med., 60:303-6, 1945.
- 96 - KONO, Y. Clinic all-round. 1955. Apud BRACCINI, C. & SIERVO, D.R., op. cit. ref. 19.

- 97 - KRAHL, M.E. The effect of insulina and pituitary hormones on glucose, uptake in muscle. Ann. N.Y. Acad. Sci., 54:649-70, 1951.
- 98 - LACKEY, R.W.; BUNDE, C.A.; GILL, A.J.; HARRIS, L.C. Glycogen in alloxan-treated rats. Proc. Soc.exp. Biol. Med., 57:191-4, 1944.
- 99 - LAWRENCE, A.M.; TAN, S.; HOJVAT, S.; KIRSTEINS, L. Salivary gland hiperglicemic factor: An extrapancreatic source of glucagon-like material. Science, 195:70-2, 1977.
- 100 - LAZAROW, A. & PALAY, S.L. The production and course of alloxan diabetes in the rat. J. Lab. clin. Med., 31:1004-15, 1946.
- 101 - LAZARUS, J.H. & SHEPHERD, J.B. The influence of parotin on serum calcium in rabbits. Archs oral Biol., 14:87-90, 1969.
- 102 - LIN, C.D. The lethal factor in mouse submandibular glands. Ontario, Canadá, 1971 (Thesis (PhD)Univ. Western Ontario) Apud HOSHINO et alii, op. cit. ref. 78.
- 103 - _____ & HOSHINO, K. Hemorrhagic phenomena caused in the host mice by submandibular gland isografts from males. Proc. Can. Fed. Biol. Soc., 12:8-21, 1969.
- 104 - LUKENS, F.D.W. Alloxan diabetes. Physiol. Rev., 28: 303-30, 1948.

- 105 - MANSFELD, G. & SZIRTES, L. Ueber die beziehungen zwischen aeusserer und innerer sekretion der druesen. Arch. exp. path. Pharmac., 130:1-28, 1928.
- 106 - MANSFORD, K.L. & OPIE, L. Comparison of metabolic abnormalities in diabets mellitus induced by streptozotocin or by alloxan. Lancet, 1(7544):670-1, 1968.
- 107 - MARTINEZ, C. Accion del aloxano Y dieta. Revta Soc. argent. Biol., 21:332-7, 1945.
- 108 - MASON, D.K.; HARDEN, R. McG.; ALEXANDER, W.D. Problems of interpretation in studies of salivary constituents. J. oral Med., 21:66-72, 1966.
- 109 - MILSTEIN, S. W. & HAUSBERGER, F.X. Effects of glucose concentration and insulin in rat liver and adipose tissue. Diabetes, 5(2):89-92, 1956.
- 110 - MORI, T. The influence of the salivary gland (parotin) on the chick embryo. II. The influence on the general development and on bone of the chick embryo. Showa Igakukai zasshi., 13:15-23, 1953.
- 111 - NARITA, R. 1955. Apud BRACCINI, C. & SIERVO, D.R., op. cit. ref. 19.
- 112 - OGATA, A.; ITO, Y.; NOZAKI, Y.; OKABE, S. Studies on the salivary gland hormones. Reports I-XII. J. pharm. Soc. Japan, 64:79-88, 114-26, 325-40, 1944; ibid, 65:9-13, 1945. Apud OGATA, T.; op. cit.ref. 114.

- 113 - _____; _____; _____; _____; OGATA, T.; ISHII, Z. Chemical and pathological studies on the isolation of salivary hormone. Igakuto - Seibutsu gaku, 5:253-7, 1944.
- 114 - OGATA, T. Ueber die innere sekretion der mundspeicheldrüsen. Trans. 9 th Congr. Far. East. Ass. - trop. Med., 2:709-13, 1934. Apud OGATA, T., op. cit. ref. 114.
- 115 - _____. The internal secretion of salivary gland. Endocr. Jap., 2:247-61, 1955.
- 116 - OKUDAIRA, S. Experimental studies on the effect of the salivary gland hormone (parotin) upon the ossification of nasal septum of rat. Japon J. Otol. - Tokio, 58:216-30, 1954.
- 117 - OLEFSKY, J.M. The effects of spontaneous obesity on insulin binding, glucose transport and glucose oxidation of isolated rat adipocytes. J. clin. Invest., 57: 842-51, 1976.
- 118 - OSORIO, J.A. & KRAEMER, A. Effect of parotin on mice body weight. Revta bras. Biol., 24:451-3, 1964.
- 119 - _____ & _____. Stimulative effect of parotin on the body weight of sialoadenectomized rats. Revta bras. Biol., 25(3):233-6, 1965.
- 120 - PARHOM, C.I.; BABES, A.E.; PETREA, I. Endocrinologie des glandes salivaires. 1957. Apud GLASMAN, F., op. cit. ref. 53.

- 121 - PETERSEN, O.H. Electrolyte transports involved in the formation of saliva. In: EMMELIN, N. & ZOHERMAN, Y., eds. Oral physiology. Oxford, Pergamon, 1972. p. 21-31.
- 122 - PITKIN, R.M. & REYNOLDS, W.A. Diabetogenic effects - of streptozotocin in Rhesus monkeys. Diabetes, 19: 85-90, 1970.
- 123 - RABINOVITCH, M.; ROTCHILD, H.A.; JUNQUEIRA, L.C.U. Nucleic acid phosphorus in submaxillary gland of mice after duct ligation. J. biol. Chem., 194: 835, 1952.
- 124 - RAKIETEN, N.; RAKIETEN, M.L.; NADKARNI, M.V. Studies on the diabetogenic action of streptozotocin (NSC-37917). Cancer Chemother. Rep., 29:91-8, 1963.
- 125 - RERUP, C.C. & TARDING, F. Comparison of the experimental diabetes induced by alloxan and Streptozotocin in mice. Diabetologia, 4:313, 1968.
- 126 - _____ & _____. Streptozotocin and alloxan- diabetes in mice. Eur. J. Pharmacol., 7:89-96, 1969.
- 127 - ROBERTS, M.L. & READE, P.C. The relationship between the secretion of amylase and epidermal growth factor in the mouse submandibular salivary gland. Archs oral Biol., 20:693-4, 1975.
- 128 - RODBELL, M. Metabolism of isolated fat cells. I- Effects of hormones on glucose metabolism and lipolysis. J. biol. Chem., 239(2):375-80, 1964.

- 129 - ROSENFELD, G. Speicheldrüsen kohlehydratstoffwechsel. Klin. Wschr., 12:711, 1933. Apud BIRNKRANT, W.B., op. cit. ref. 17.
- 130 - RUANGSIRI, C. Changes in islets of Langerhans in living mice after alloxan administration. Anat.Rec., 105:399-427, 1949.
- 131 - SAIFER, A. & GERSTENFELDS, S. The photometric micro determination of blood glucose with glucose oxidase. J. Lab. clin. Med., 51:448-60, 1958.
- 132 - SALANS, L.B. & DOUGHERTY, J.W. The effect of insulin by adipose cells of different size. Influence of cell lipid and protein content, age and nutritional state. J. clin. Invest., 50:1399-410, 1971.
- 133 - SASAKI, T. Chondrodystrophia foetalis. Acta paediat. jap., 57:584, 1953. Apud ITO, Y., op. cit.ref.83.
- 134 - SASE, T. Antagonistic effect of salivary and thyroid hormone on oxidative phosphorylation. J. Japon. - Biochem., 30:173-8, 1958.
- 135 - SATO, T. Effects of parotid gland extract upon calcification of dentine of rabbit. Gunma. J. med.Sci. 2:183-8, 1953.
- 136 - SCHEIN, P.S. & BATES, R.W. Plasma glucose levels in normal and adrenalectomized mice treated with Streptozotocin and nicotinamide. Diabetes, 17:760 5, 1968.

- 137 - _____; ALBERT, L.G.M.M.; WILLIAMSON, D.H. Effects of Streptozotocin on carbohydrate and lipid metabolism in the rat. Endocrinology, 89:827-34, 1971.
- 138 - SCHNEYER, C.A. & HALL, H.D. Comparison of rat salivary evoked by auriculo-temporal and pilocarpine stimulation. Am. J. Physiol., 209:484-8, 1965.
- 139 - _____ & _____. Automatic pathways involved in a sympathetic-like action of pilocarpine on salivary composition. Proc. Soc. exp. Biol., 121:96-100 1966.
- 140 - SEELIG, S. Ueber beziehungen zwischen parotis, pankreas, blutzucker und diabetes mellitus. Klin. Wschr., 7:1228-32, 1928.
- 141 - SOLOMON, J.; BULKLEY, R.J.; MAYER, J. Effect of a low dose of alloxan on blood glucose, islet beta cell granulation, body weight, and insulin resistance of ob/ob mice. Diabetologia, 10:709-15, 1974.
- 142 - STAUFFACHER, W.; BURR, I.; GUTZEIT, A.; DEAVEN, D.; Veleminsky, J.; RENOLD, A.E. Streptozotocin diabetes: Time course of irreversible B-cell damage further observations on prevention by nicotinamide. - Proc. Soc. exp. Biol. Med., 133:194-200, 1970.
- 143 - STEINBERG, T. & GWINUP, G. Effect of submaxillary gland extirpation on glucose and insulin tolerance in dogs. Diabetes, 21(6):722-32, 1972.
- 144 - STETTEN JR., D.; WELT, I.D.; INGLE, D.J. Glucose pro

duction and oxidation in normal and diabetic rats.
Fedn Proc., 10:253-9, 1951.

- 145 - TADOKORO, S.; SUZUKI, S.; NAKAMURA, K.; UCHIYAMA, S.; SHIBATA, K. Salivary glands and carbohydrate metabolism. Naibunpi., 21(6):129-34, 1955.
- 146 - TAKAOKA, Y. Relation of the parotid gland to serum protein and malnutrition. Tohoku J. exp. Med., 57: 11-6, 1952.
- 147 - TAKEDA, T.; YAMASAKI, Y.; YAMABE, H.; SUZUKI, Y.; 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.
- 148 - TAKIZAWA, N. A pathological research on the internal secretion of salivary glands. Acta path. jap., 4: 129-66, 1954.
- 149 - TANAKA, S. & ITO, Y. Studies on the salivary gland hormones XXIX. Studies on the salivary gland hormones labeled with I^{131} (1)- Localization of radioactivity after administration of I^{131} labeled parotin to rats. Endocr. jap., 5:55-64, 1958.
- 150 - TASAKA, S. Studies on the clinical uses of Parotin. Nipponrinsho., 11:22-9, 1953. Apud ITO, Y. op. cit. ref. 83.
- 151 - TEIXEIRA, D.; VIZIOLI, M.R.; GUIMARÃES, A. Effects of sialoadenectomy and parotin hormone on the de

velopment of rat sponge-induced granulation tissue. Acta anat., 94:22-9, 1976.

- 152 - UTIMURA, S. 1927. Apud GLASMAN, F., op. cit. ref. 53.
- 153 - VELEMINSKY, J.; BURR, I.M.; STAUFFACHER, W. Comparative study of early metabolic events resulting from the administration of the two diabetogenic agents alloxan and streptozotocin. Eur. J. clin. Invest., 1:104-8, 1970.
- 154 - WAISBREN, B.A. Alloxan Diabetes in mice. Proc. Soc. exp. Biol. Med., 67:154-6, 1948.
- 155 - WARBURG, O. In: UMBREIT, W.W.; BURRIS, R.M.; STAUFFER, J.F. Manometric and biochemical techniques. Minneapolis, Burgess Publ., 1972.
- 156 - WERTHEIMER, E. & SHAPIRO, B. The physiology of adipose tissue. Physiol. Rev., 28:451-63, 1948.
- 157 - WINEGRAD, A.I. & RENOLD, A.E. Studies on rat adipose tissue in vitro. J. biol. Chem., 233(2):267-76, 1958.
- 158 - YAMAGUCHI, T. On the relation of the endocrine functions and the protein metabolism. Clin. Endocr., 2:1022-6, 1954.
- 159 - YUASA, H. Experimental studies on the absorptive function of the striated tubules of the salivary gland. Trans. Jap. path. Soc., 30:244-56, 1940;

ibid 31:728-30, 1941.

- 160 - YUASA, K. Experimental studies on the influence of parotin on metabolism. Folia Endocr. Jap. 33:315-21, 1957.
- 161 - _____; USHIKAWA, T.; YAMADA, N.; NINOMIYA, H.; TAKAKA, Y. Effect of parotin on TCA-cycle. Naibun pi. 2:10, 1955. Apud ITO, Y., op. cit. ref. 83.
- 162 - ZIMMERMAN, L.M. Effect of ligation of the parotid ducts on the carbohydrate tolerance of normal dogs. Archs intern. Med., 49:409-20, 1932.

De Acordo com:-

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS, Rio de Janeiro. Normas ABNT sobre documentação. Rio de Janeiro, 1978. p. 13-29.

WORLD LIST OF SCIENTIFIC PERIODICALS. 4. ed. London, Butterworths, 1963. 3v.

C A P Í T U L O VIII

R E S U M O

8 - RESUMO

O presente trabalho foi realizado com o objetivo de estudar os possíveis efeitos do princípio ativo das glândulas salivares (Parotin) sobre a hiperglicemia de ratos diabéticos experimentais, incorporação da glicose e consumo de oxigênio pelo tecido gorduroso da cabeça do epídimo de ratos normais e de diabéticos experimentais.

Foram utilizados 145 ratos machos (Rattus norvegicus, albinus, Wistar), com 2 a 4 meses de idade, pesando entre 120 e 250 gramas. Basicamente a parte experimental foi desenvolvida em dois modelos:

- 1- Estudo "In Vivo" - Determinação da taxa glicêmica;
- 2- Estudo "In Vitro" - Incorporação da glicose e consumo de oxigênio.

Para o estudo "In Vivo" foram utilizados 67 ratos e distribuídos em 4 grupos seguintes:

- I - Controle (normais);
- II - Controle (diabéticos experimentais);
- III - Diabéticos experimentais + insulina, redistribuídos em 5 subgrupos. Em cada subgrupo foi administrado, via endovenosa, insulina protamina-zíncica, respectivamente, nas seguintes concentrações: 0,10; 0,20; 0,30 ; 0,40 e 0,50 mg/100 g de peso corporal;
- IV - Diabéticos experimentais + Parotin, também redistribuídos em 5 subgrupos. Cada subgrupo recebeu,

pela mesma via, doses de Parotin, respectivamente, nas concentrações de 0,10; 0,20; 0,30; 0,40 e 0,50 mg/100 g de peso corporal.

Os animais pertencentes aos 4 Grupos, após um jejum de 24 horas, foram submetidos às dosagens glicêmicas nos intervalos de tempo de 0, 1, 2, 4, 6, 8, 10, 12, 24, 36, 48, 60, 72 e 84 horas.

Para o estudo "In Vitro" foram utilizados 78 ratos e distribuídos nos 3 Grupos experimentais seguintes:

I - Controle (normais), dos quais retirou-se o tecido adiposo da cabeça do epidídimo e incubou-se em frascos de Warburg, a fim de se proceder à determinação do consumo de oxigênio e da incorporação da glicose;

II - Diabéticos - os quais sofreram o mesmo procedimento do Grupo anterior;

III - Normais - os quais foram utilizados para determinar eventuais variações na incorporação da glicose e consumo de oxigênio em relação a massa de tecido gorduroso.

Segundo a técnica convencional de Warburg, analisou-se a capacidade oxidativa do tecido adiposo do epidídimo, frente a glicose, insulina, Parotin e a associação insulina-Parotin, bem como a participação dessas drogas sobre a incorporação da glicose.

Nas condições experimentais utilizadas e com a metodologia empregada, concluiu-se que o princípio ativo Parotin, apresenta ação em diminuir a hiperglicemia de animais diabéticos por aloxana ou estreptozotocina e que a in

tensidade e a duração de seu efeito é diretamente propor
cional à sua concentração.

Dentre as concentrações utilizadas, o Parotin não apresenta efeito letal e a sua melhor atividade, situa-se entre 0,40 e 0,50 mg/100 g de pêsso corporal.

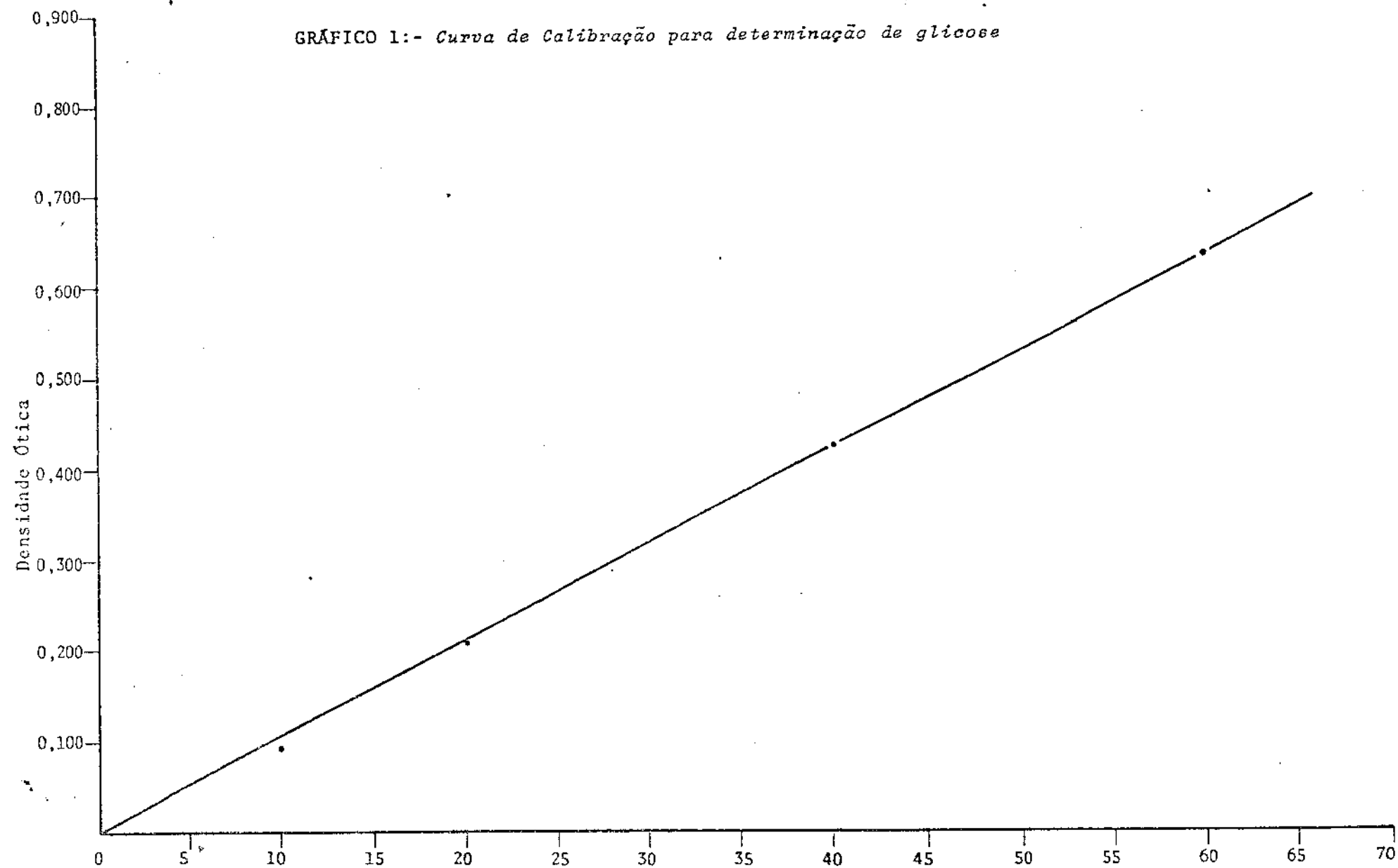
As concentrações de insulina utilizadas, prom
vem hipoglicemia causando a morte de animais.

O efeito do Parotin sobre a incorporação da glicose é mais efetivo do que a insulina, tanto em anima
is normais quanto em diabéticos experimentais, porém a as
sociação de insulina-Parotin, não apresenta adição de efei-
tos.

No consumo de oxigênio de animais normais, a insulina foi, respectivamente mais efetiva que o Parotin e que a associação insulina-Parotin; porém nos diabéticos o Parotin foi mais efetivo que a associação insulina-Parotin e que a insulina; não houve adição de efeitos com a asso
ciação insulina-Parotin, tanto em animais normais quanto diabéticos.

A P Ê N D I C E

GRÁFICO 1:- Curva de Calibração para determinação de glicose



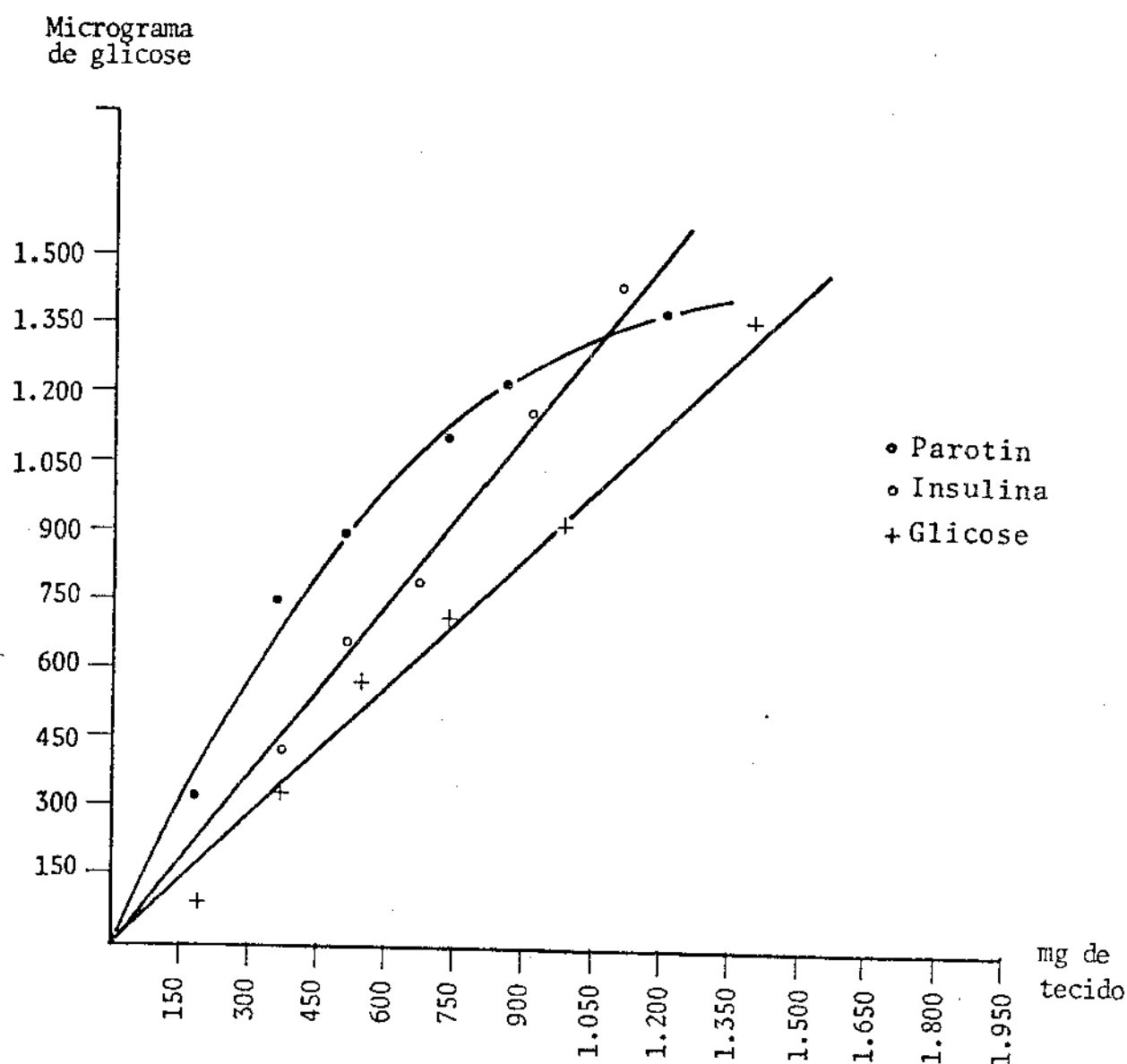


GRÁFICO 2:- Efeitos da glicose, glicose + Parotin e glicose + insulina sobre a incorporação da glicose (micrograma) em relação a massa de tecido gorduroso de epidídimo (miligramas).

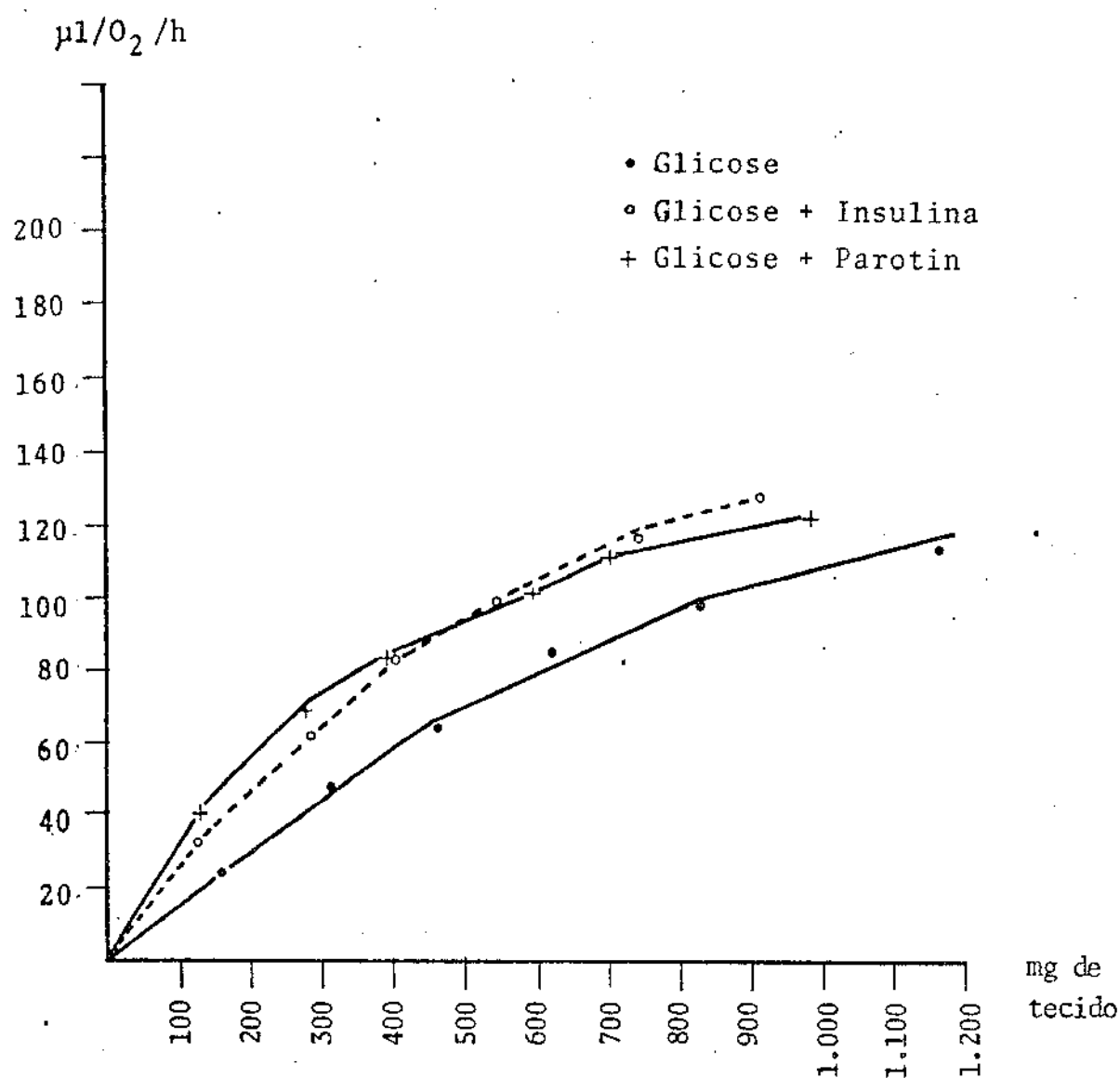


GRÁFICO 3:- Efeitos da glicose, glicose + insulina e glicose + Parotin, sobre o consumo de oxigênio (microlitro) em relação à massa de tecido gorduroso de epidídimo (miligrama).

TABELA XV - Glicemia dos animais do Grupo IV (Subgrupo IVa)

Horas	Horas	1	2	3	4	5	6	Médias $\pm s_{\bar{x}}$
0		370	400	480	340	320	370	380,00 $\pm 56,2$
1		340	340	350	300	240	275	307,50 $\pm 43,8$
2		245	290	270	260	160	210	238,35 $\pm 47,2$
4		200	260	230	240	180	200	218,35 $\pm 30,0$
6		145	230	240	200	200	180	199,15 $\pm 34,4$
8		130	280	300	270	230	240	241,65 $\pm 60,5$
10		115	350	340	300	260	280	274,15 $\pm 85,2$
12		130	400	370	320	270	300	298,35 $\pm 95,0$
24		150	415	400	370	360	375	345,00 $\pm 97,7$
36		250	475	470	450	400	490	422,50 $\pm 90,0$

Valores glicêmicos (mg %) dos animais diabéticos antes (tempo zero) e após a administração de 0,10 mg/100 g de peso corporal de Parotin, suas médias e desvios padrões ($s_{\bar{x}}$), nos diferentes intervalos de tempo.

TABELA XVI - Glicemia dos animais do Grupo IV (Subgrupo IVb)

Ratos Horas	1	2	3	4	5	6	Médias $\pm s_{\bar{x}}$
0	415	410	370	350	370	380	383,00 $\pm 28,2$
1	320	290	230	280	255	275	275,00 $\pm 34,2$
2	250	210	190	160	150	190	191,65 $\pm 40,2$
4	185	175	125	115	130	145	145,85 $\pm 31,7$
6	170	160	110	125	145	140	141,65 $\pm 24,6$
8	160	150	150	140	165	145	151,65 $\pm 9,7$
10	140	160	140	135	160	150	147,50 $\pm 12,0$
12	150	170	135	130	140	145	145,00 $\pm 15,8$
24	220	250	170	165	190	200	199,15 $\pm 35,9$
36	300	315	240	250	275	275	274,15 $\pm 31,8$
48	370	360	330	360	350	355	354,17 $\pm 16,43$
60	410	420	380	400	390	400	400,00 $\pm 15,8$

Valores glicêmicos (mg %) dos animais diabéticos antes (tempo zero) e após a administração de 0,20 mg/100 g de peso corporal de Parotin, suas médias e desvios padrões ($s_{\bar{x}}$), nos diferentes intervalos de tempo.

TABELA XVII - Glicemia dos animais do Grupo IV (Subgrupo IVc)

Horas	Ratos						Médias $\pm s_{\bar{x}}$
	1	2	3	4	5	6	
0	450	400	460	350	410	420	415,00 $\pm 39,4$
1	300	290	270	170	210	260	250,00 $\pm 50,1$
2	200	190	160	120	150	170	165,00 $\pm 28,8$
4	150	140	120	100	110	120	123,35 $\pm 18,6$
6	120	115	100	100	110	120	119,15 $\pm 9,17$
8	130	140	100	90	100	115	112,50 $\pm 19,4$
10	115	95	90	90	85	100	95,85 $\pm 10,7$
12	95	90	95	100	90	95	94,15 $\pm 37,6$
24	110	115	105	100	95	95	103,35 $\pm 8,2$
36	115	120	140	110	100	100	114,15 $\pm 15,0$
48	150	140	150	170	155	115	146,67 $\pm 18,3$
60	215	210	240	250	220	115	215,00 $\pm 33,2$
72	370	300	330	300	310	230	306,67 $\pm 45,9$
84	430	400	450	370	390	330	395,00 $\pm 42,8$

Valores glicêmicos (mg %) dos animais diabéticos antes (tempo zero) e após a administração de 0,30 mg/100 g de peso corporal de Parotin, suas médias e desvios padrões ($s_{\bar{x}}$), nos diferentes intervalos de tempo.

TABELA XVIII - Glicemia dos animais do Grupo IV (Subgrupo IVd)

Ratos Horas							Médias $\pm s_{\bar{x}}$
	1	2	3	4	5	6	
0	415	380	390	400	525	420	421,60 $\pm 52,7$
1	190	200	170	210	280	230	213,35 $\pm 38,3$
2	150	140	120	145	170	160	147,50 $\pm 17,2$
4	100	110	100	115	135	120	113,35 $\pm 13,3$
6	100	115	110	120	140	130	110,85 $\pm 14,2$
8	95	85	115	120	115	110	106,66 $\pm 13,6$
10	95	90	100	110	115	95	100,85 $\pm 9,7$
12	90	85	100	110	105	100	98,35 $\pm 9,3$
24	90	90	100	115	100	110	100,85 $\pm 10,2$
36	130	140	110	120	110	115	120,85 $\pm 12,0$
48	140	150	140	110	120	130	131,67 $\pm 14,7$
60	170	210	160	180	170	145	172,50 $\pm 21,8$
72	200	300	230	220	240	180	228,35 $\pm 41,2$
84	280	370	320	310	350	320	325,00 $\pm 31,4$

Valores glicêmicos (mg %) dos animais diabéticos antes (tempo zero) e após a administração de 0,40 mg/100 g de peso corporal de Parotin, suas médias e desvios padrões ($s_{\bar{x}}$), nos diferentes intervalos de tempo.

TABELA XIX - Glicemia dos animais do Grupo IV (Subgrupo IVe)

Ratos Horas	1	2	3	4	5	6	Médias + - s _x
0	375	450	450	390	370	375	402,00 ±38,0
1	165	210	250	185	150	170	188,35 ±36,4
2	100	160	190	90	90	130	126,65 ±41,3
4	90	110	150	75	60	60	90,85 ±34,7
6	90	105	140	80	75	60	91,85 ±28,0
8	100	110	130	90	80	80	98,35 ±19,4
10	110	100	120	90	75	75	95,00 ±18,4
12	100	110	120	110	90	105	105,35 ±10,2
24	110	115	120	140	130	115	121,65 ±11,2
36	90	100	120	105	100	120	105,85 ±12,0
48	95	105	110	100	125	130	110,85 ±13,9
60	120	140	135	140	175	80	148,35 ±23,8
72	180	210	180	190	240	260	210,00 ±33,4
84	280	300	290	280	330	350	305,00 ±28,8

Valores glicêmicos (mg %) dos animais diabéticos antes (tempo zero) e após a administração de 0,50 mg/100 g de peso corporal de Parotin, suas médias e desvios padrões (s_x), nos diferentes intervalos de tempo.

TABELA XX - Incorporação da Glicose em animais normais e diabéticos.

	Tratamento Ratos	Glicose	Glicose + Insulina	Glicose + Parotin	Glicose + Insulina + Parotin
N O R M A L I S	1	397	886	1009	730
	2	440	782	944	788
	3	438	842	1007	844
	4	408	824	880	820
	5	468	858	907	781
	6	432	753	873	715
	Médias ± sD	430,50 ±25,2	824,15 ±49,2	936,65 ±60,6	779,65 ±50,0
D I A B É T I C O S	1	279	727	916	768
	2	229	745	856	776
	3	291	721	921	854
	4	280	819	904	790
	5	211	801	896	771
	6	256	825	958	862
	Médias ± sD	257,65 ±31,8	773,00 ±47,3	908,50 ±33,5	803,50 ±42,9

Valores obtidos da incorporação da glicose "In Vitro" (micrograma/miligramma/pêso seco de tecido/hora) em presença de glicose, glicose + insulina, glicose + Parotin, glicose + insulina + Parotin, suas médias e respectivos desvios padrões.

TABELA XXI - Consumo de oxigênio de ratos normais

Ratos Tratamento	1	2	3	4	5	6	Médias $\pm s_{\bar{x}}$
Glicose	31,1	32,4	31,2	29,0	25,7	28,3	29,62 $\pm 2,4$
Glicose + Insulina	102,8	104,3	108,8	98,7	97,3	98,0	101,65 $\pm 4,5$
Glicose + Parotin	75,1	76,4	78,7	71,8	73,0	67,7	73,78 $\pm 3,8$
Glicose + Insulina + Parotin	67,0	52,9	64,9	63,5	56,0	65,2	61,58 $\pm 5,7$

Valores obtidos sobre o consumo de oxigênio (microlitro/grama de peso seco de tecido/hora) cujo ensaio experimental era constituído de: glicose, glicose + insulina, glicose + Parotin, glicose + insulina + Parotin, suas médias e respectivos desvios padrões ($s_{\bar{x}}$).

TABELA XXII - Consumo de oxigênio de ratos diabéticos

Tratamento \ Ratos	Ratos						Médias $\pm s_{\bar{x}}$
	1	2	3	4	5	6	
Glicose	42,2	38,3	34,7	32,8	30,5	30,2	34,78 $\pm 4,7$
Glicose + Insulina	132,9	128,6	122,9	125,3	124,5	116,6	125,13 $\pm 5,5$
Glicose + Parotin	235,9	237,9	245,9	241,0	238,9	259,2	243,13 $\pm 8,5$
Glicose + Insulina + Parotin	178,7	157,1	163,2	164,1	165,9	176,7	167,62 $\pm 8,4$

Valores obtidos sobre o consumo de oxigênio (microlitro/grama de peso seco de tecido/hora) cujo ensaio experimental era constituído de: glicose, glicose + insulina, glicose + Parotin, glicose + insulina + Parotin, suas médias e respectivos desvios padrões ($s_{\bar{x}}$).

TABELA XXIII - Consumo de oxigênio em função do tempo de incubação em presença da glicose, em ratos normais.

Tratamento		Normais - Glicose						
Ratos		1	2	3	4	5	6	Médias + - s _{x̄}
Tempo em minutos								
15		15,4	13,8	12,3	14,4	14,5	14,1	14,10 ±1,0
30		19,9	19,5	19,4	16,8	15,3	19,2	18,40 ±1,8
45		27,6	31,0	24,7	25,3	26,1	24,5	26,53 ±2,4
60		31,1	32,4	31,2	29,0	25,7	28,3	29,62 ±2,4
90		34,2	36,4	38,7	35,2	34,0	39,2	36,30 ±2,2
120		39,2	33,4	48,8	51,4	35,2	37,3	40,90 ±7,4

Valores do consumo de oxigênio (microlitro/ grama de peso seco de tecido), suas médias e respectivos desvios padrões ($s_{\bar{x}}$), obtidos nos intervalos de tempo de 15, 30, 45, 60, 90 e 120 minutos.

TABELA XXIV - Efeito da Insulina sobre o consumo de oxigênio em função do tempo de incubação em ratos normais.

Tratamento		Normais - Glicose + Insulina					
Ratos	1	2	3	4	5	6	Médias
Tempo em minuto							$\pm s_{\bar{x}}$
15	33,3	29,5	27,8	29,8	27,7	23,6	28,62 $\pm 3,1$
30	49,7	51,2	50,2	46,8	45,0	47,8	48,45 $\pm 2,3$
45	82,1	81,0	86,2	69,7	63,3	70,2	75,42 $\pm 8,9$
60	102,8	104,3	108,8	98,7	97,3	98,0	101,65 $\pm 4,4$
90	153,7	149,5	153,9	146,5	137,5	144,5	147,60 $\pm 6,2$
120	203,0	199,1	202,8	197,7	188,8	194,6	197,70 $\pm 5,3$

Valores do consumo de oxigênio (microlitro/ grama de peso seco de tecido), suas médias e respectivos desvios padrões ($s_{\bar{x}}$), obtidos nos intervalos de tempo de 15, 30, 45, 60, 90 e 120 minutos.

TABELA XXV - Efeito do Parotin sôbre o consumo de oxigênio em função do tempo de incubação em ratos normais.

Tratamento		Normais - Glicose + Parotin						
Ratos		1	2	3	4	5	6	Médias $\pm s_{\bar{x}}$
Tempo em minutos								
15		19,6	23,4	24,9	20,2	22,1	18,0	21,40 $\pm 2,5$
30		39,2	42,2	41,2	39,9	39,7	35,8	39,67 $\pm 2,2$
45		58,0	69,4	67,7	56,0	53,9	51,4	59,40 $\pm 7,4$
60		75,1	76,4	78,7	71,8	73,0	67,7	73,78 $\pm 3,8$
90		104,3	110,3	114,4	105,6	108,8	100,3	107,30 $\pm 4,9$
120		120,9	142,0	141,8	129,8	129,6	124,2	131,40 $\pm 8,8$

Valores do consumo de oxigênio (microlitro/ grama de pêsco seco de tecido), suas médias e respectivos desvios padrões ($s_{\bar{x}}$), obtidos nos intervalos de tempo de 15, 30, 45, 60, 90 e 120 minutos.

TABELA XXVI - Efeito da insulina + Parotin sobre o consumo de oxigênio em função do tempo de incubação, em ratos normais.

Tratamento Normais - Glicose+Insulina+Parotin							
Ratos Tempo em minutos	1	2	3	4	5	6	Médias + - $s_{\bar{x}}$
15	24,0	19,0	18,6	19,5	17,4	20,1	19,80 ±2,2
30	35,6	29,7	30,9	32,8	27,7	33,6	31,70 ±2,8
45	53,2	45,8	51,6	50,9	44,9	50,4	49,50 ±3,3
60	67,0	52,9	64,9	63,5	56,0	65,2	61,58 ±5,7
90	85,8	77,9	80,5	81,0	75,1	84,1	80,74 ±3,9
120	114,5	102,7	100,5	100,7	90,8	102,0	101,90 ±7,5

Valores do consumo de oxigênio (microlitro/ grama de pêssêco de tecido), suas médias e respectivos desvios padrões ($s_{\bar{x}}$), obtidos nos intervalos de tempo de 15, 30, 45, 60, 90 e 120 minutos.

TABELA XXVII - Consumo de oxigênio em função do tempo de incubação em presença da glicose em ratos diabéticos.

Tratamento		Diabéticos + Glicose						
Ratos		1	2	3	4	5	6	Médias $\pm s_{\bar{x}}$
Tempo em minutos								
15		16,2	14,6	10,1	9,0	13,2	14,9	13,00 $\pm 2,8$
30		21,3	20,9	15,4	16,6	15,7	19,8	18,30 $\pm 2,6$
45		28,1	28,1	25,0	29,8	26,0	28,0	27,50 $\pm 1,7$
60		42,2	38,3	34,7	32,8	30,5	30,2	34,78 $\pm 4,7$
90		46,9	45,3	43,0	40,0	42,7	48,0	44,32 $\pm 2,9$
120		51,9	53,1	44,6	46,1	44,4	46,5	47,78 $\pm 3,7$

Valores do consumo de oxigênio (microlitro/ grama de peso seco de tecido), suas médias e respectivos desvios padrões ($s_{\bar{x}}$), obtidos nos intervalos de tempo de 15, 30, 45, 60, 90 e 120 minutos.

TABELA XXVIII - Efeito da insulina sobre o consumo de O_2 em função do tempo de incubação em ratos diabéticos.

Tratamento Diabéticos - Glicose + Insulina							
Ratos Tempo minutos	1	2	3	4	5	6	Médias $\pm s_{\bar{x}}$
15	27,7	26,1	29,0	27,5	26,2	27,0	27,35 $\pm 1,1$
30	67,3	59,6	60,1	61,2	61,4	55,5	60,85 $\pm 3,8$
45	103,5	104,7	98,1	99,3	93,1	91,8	98,42 $\pm 5,2$
60	132,9	128,6	122,9	125,3	124,5	116,6	125,13 $\pm 5,4$
90	193,9	190,1	186,4	180,6	185,4	182,8	186,53 $\pm 4,8$
120	264,9	264,1	254,7	254,6	246,9	251,3	256,10 $\pm 7,1$

Valores do consumo de oxigênio (microlitro/ grama de peso seco de tecido), suas médias e respectivos desvios padrões ($s_{\bar{x}}$), obtidos nos intervalos de tempo de 15, 30, 45, 60, 90 e 120 minutos.

TABELA XXIX - Efeitos do Parotin sobre o consumo de O_2 em função do tempo de incubação em ratos diabéticos.

Tratamento		Diabéticos - Glicose+Parotin						
Ratos		1	2	3	4	5	6	Médias $\pm s_{\bar{x}}$
Tempo em minutos								
15		57,0	62,8	57,3	58,8	60,7	58,9	59,25 $\pm 2,2$
30		115,2	125,5	127,1	122,1	126,7	130,4	124,58 $\pm 5,3$
45		179,7	186,7	189,9	188,0	187,8	200,9	188,83 $\pm 6,9$
60		235,9	237,9	245,9	241,0	238,9	259,2	243,13 $\pm 8,6$
90		349,4	362,3	362,0	354,4	354,2	369,9	358,70 $\pm 7,4$
120		415,4	438,7	445,2	416,6	436,7	459,9	435,42 $\pm 17,1$

Valores do consumo de oxigênio (microlitro/ grama de peso seco de tecido), suas médias e respectivos desvios padrões ($s_{\bar{x}}$), obtidos nos intervalos de tempo de 15, 30, 45, 60, 90 e 120 minutos.

TABELA XXX - Efeito da Insulina + Parotin sobre o consumo de O_2 em função do tempo de incubação em ratos diabéticos.

Tratamento Diabéticos - Glicose+Insulina+Parotin							
Ratos							Médias
Tempo em minutos	1	2	3	4	5	6	$\pm s_{\bar{x}}$
15	54,0	44,7	48,9	50,5	51,4	53,1	50,43 $\pm 3,3$
30	101,4	85,4	90,7	93,4	94,7	97,7	93,88 $\pm 5,5$
45	135,3	110,7	117,1	130,8	131,5	133,6	126,50 $\pm 10,0$
60	178,7	157,1	163,2	164,1	165,9	176,7	167,62 $\pm 8,4$
90	263,2	241,3	251,6	246,4	254,6	256,0	252,20 $\pm 7,6$
120	331,5	311,3	315,7	314,4	325,7	326,2	320,83 $\pm 8,1$

Valores do consumo de oxigênio (microlitro/ grama de pês
seco de tecido), suas médias e respectivos desvios padrões
($s_{\bar{x}}$), obtidos nos intervalos de tempo de 15, 30, 45, 60, 90
120 minutos.