

Influência da parotidectomia e da administração de Parotin sobre o número de filhotes procriados, em ratos

Relationship between parotidectomy and Parotin injections and the number of rat littermates per dam

Gildo Matheus

Pós-doutor em Patologia - Unesp/Araçatuba e docente na FAI

Maria Tereza Girotto Matheus

Pós-doutor em Histologia e Embriologia - Unesp/Araçatuba e docente na FAI

Rubens Moreira Arcieri

Doutor em Patologia pela UNIP

Resumo

Foram utilizados 40 ratas e 20 ratos, previamente testados e comprovadamente férteis, divididos em 4 grupos: I. Controle; II. Parotidectomizados; III. Controle injetados com Parotin e IV. Parotidectomizados injetados com Parotin. Os animais dos quatro grupos foram acasalados na proporção de 2 fêmeas para cada macho, sendo que as ratas dos grupos III e IV receberam, intraperitonealmente, injeções semanais de Parotin desde a constatação do "plug" vaginal até o nascimento dos filhotes do terceiro cruzamento sucessivo. Os filhotes de cada ninhada foram contados e os dados obtidos demonstraram que, em relação aos animais controle, a parotidectomia ocasionou acentuada redução do número de filhotes; a administração de Parotin em ratas não parotidectomizadas ocasionou discreto aumento do número de filhotes; a administração de Parotin em ratas parotidectomizadas impediu nestas, o decréscimo acentuado número de filhotes. A análise de variância demonstrou diferenças, estatisticamente significantes, quanto ao número de filhotes, quando comparados os diversos grupos.

Abstract

Forty female and twenty male rats previously tested and positively about their fertility were and divided in 4 groups: I. Control; II. Parotidectomized; III. Control injected with Parotin; IV. Parotidectomized inject with parotin from the vaginal "plug" detection (day 0) until birth of the offspring for 3 successive gestational periods. The number of littermates in each brood was recorded for each group and the data showed the parotidectomy produced a strong decrease in the number of offspring; the administration of parotin to parotidectomized rats impeded in this case high decreases in the number of offspring. The analysis of variance showed the there is statistically significant differences in the number of offspring between the groups.

Palavras-chave

Procriação, parotidectomia, administração de Parotin.

Keywords

Procreation, parotidectomy, Parotin administration.

Introdução

A interrelação glândulas salivares-glândulas sexuais é um fato comprovado, sabendo-se que as glândulas salivares são profundamente influenciadas por hormônios sexuais (HIGASHIJO, 1940; LACASSAGNE e CHAMORRO, 1940; GINN e VOLKER, 1941; ISTRATI, 1955; RAYNAUD, 1960; LEONORA et al. 1987; 1993; PUROSHOTHAM et al., 1993; LIU et al., 1994; PINKSTAFF, 1998).

Assim, Bixler, *et al.* (1957) ao estudarem o aparelho reprodutor de ratas sialadectomizadas constataram atraso no desenvolvimento dos folículos ovarianos. Afonsky (1958), ao pesquisar o efeito da extirpação das glândulas salivares de ratas na reprodução, verificou marcada diminuição na capacidade de fertilização e, posteriormente, Suddick (1960) ressaltou que as glândulas salivares de ratos contêm uma substância que interfere no mecanismo normal de reprodução. Ainda Lourides *et al.* (1970) ao estudarem o efeito da extirpação das glândulas salivares sobre o útero e ovários mostraram atrofia e atraso de maturação em ambos os órgãos, enquanto que Arcieri e Martinelli (1977) procurando verificar o efeito da parotidectomia e salivariadenectomia, em ratas, constataram diminuição da capacidade de fertilização gradativa, que caminhou para esterilidade definitiva.

Por outro lado, autores japoneses consideram as glândulas salivares como órgãos efetores de hormônios, com destaque para a glândula parótida que seria a principal produtora de Parotin, considerado como um hormônio salivar.

O Parotin, uma substância protéica, biologicamente ativa, foi isolado e cristalizado a partir da parótida de bovinos (OGATA et al., 1944; ITO e MIZUTANI, 1952). Possui ação bastante ampla (IVASENKO et al., 1993; ISHISAKA e TSUJII, 1994; SAITOH e VALKABAYASHI, 2000; LIN et al., 2002), podendo após sua administração ser encontrada na corrente circulatória, nas glândulas supra-renais e hipófise, no baço, rins, fígado, timo, pâncreas e órgãos sexuais. (TANAKA e ITO, 1958).

Considerando-se que as glândulas salivares atuam não somente no crescimento e desenvolvimento do aparelho reprodutor feminino, mas que também interferem no processo de fecundação é que nos propomos a estudar o efeito da extirpação das glândulas parótidas e da administração de Parotin sobre a capacidade de procriação de ratas.

Material e métodos

Foram utilizados 40 ratas e 20 ratos com 90 dias de idade, que foram mantidos durante todo o período experimental com dieta sólida (ração granulada Produtor – Anderson Clayton S.A.) e água à vontade.

Para testar a fertilidade, tanto dos machos quanto das fêmeas, os animais foram acasalados na proporção de um macho para cada duas fêmeas. Após a comprovação da fertilidade, as ratas foram divididas em quatro grupos: I. Controle; II. Parotidectomizadas; III. Controle Injetadas com Parotin e IV. Parotidectomizadas injetadas com Parotin.

A parotidectomia nos animais dos grupos II e IV foi realizada segundo Matheus (1973), enquanto que os animais dos grupos I e III foram submetidos a procedimento cirúrgico semelhante ao utilizado na parotidectomia, tendo, porém suas glândulas parótidas apenas manipuladas com auxílio de uma pinça anatômica. Duas semanas após a parotidectomia foi iniciada uma série de três cruzamentos consecutivos envolvendo todos os animais dos experimentos.

Nos animais do grupo III e IV foram administradas, intraperitonealmente, 0,3 mg de Parotin diluído em

0,3 ml de soro fisiológico, semanalmente, desde a constatação do “plug” vaginal até o nascimento dos filhotes da terceira prenhez, enquanto que nos animais do grupo I e II injetou-se 0,3 ml de soro fisiológico semanalmente.

Os filhotes de todos os grupos experimentais foram contados e, posteriormente, procedeu-se ao estudo estatístico através da análise de variância (SNEDECOR, 1956), sendo que, para todos os casos da significância, foi fixado em 5%.

Resultados

Os resultados são apresentados em forma de tabelas e gráficos. A Tabela 1 mostra a quantidade de filhotes em três cruzamentos sucessivos dos animais dos grupos controle, parotidectomizado, controle injetado com Parotin e parotidectomizado injetado com Parotin. A Tabela 2 mostra um quadro comparativo da significância (S) ou não (NS) da diferença estatística do número de filhotes entre os grupos controle (I); parotidectomizado (II); controle Injetado com Parotin (III) e parotidectomizado injetado com Parotin (IV), após a análise de variância. O Gráfico 1 mostra, comparativamente, a quantidade de filhotes procriados nos três cruzamentos sucessivos de todos os grupos experimentais.

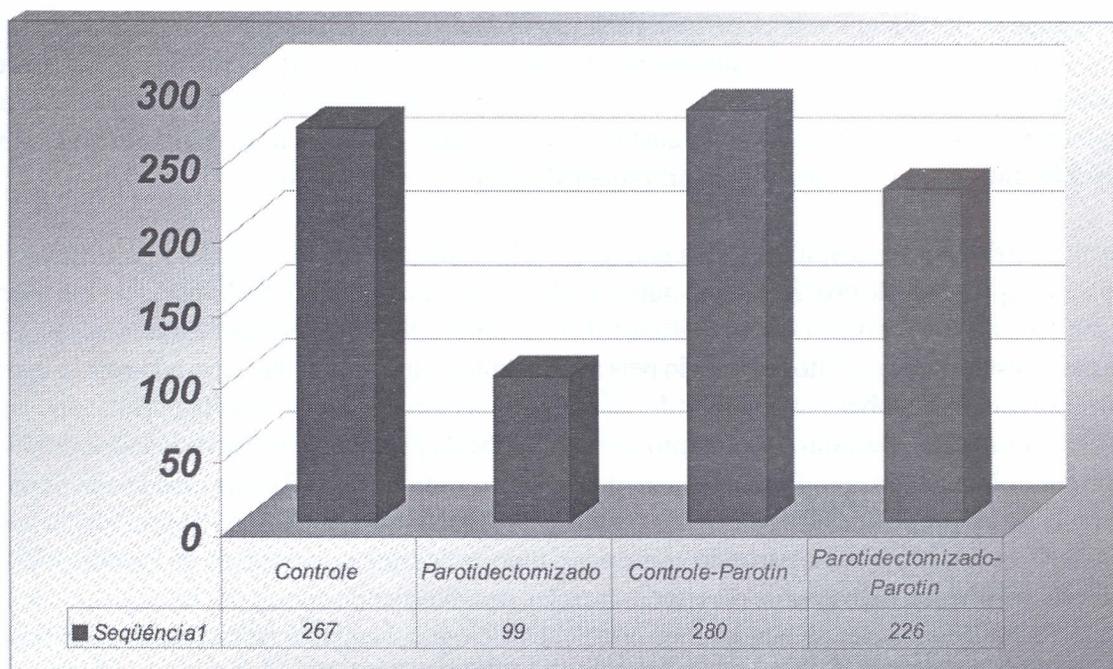
Tabela 1. Quantidade de filhotes procriados em três cruzamentos sucessivos dos Grupos Controle, Parotidectomizado, Controle injetado com Parotin e Parotidectomizado injetado com Parotin.

Controle	1º. Cruzamento	2º. Cruzamento	3º. Cruzamento	Total
Controle	88	89	90	267
Parotidectomizado	40	38	21	99
Controle + Parotin	96	100	84	280
Parotidectomizado + Parotin	88	70	68	226

Tabela 2. Quadro comparativo da significância (S) ou não (NS) da diferença estatística no número de filhotes, entre os grupos Controle (I); Parotidectomizado (II); Controle injetado com Parotin (III) e Parotidectomizado injetado com Parotin (IV), após análise de variância.

GRUPOS	NÚMERO DE FILHOTES	
	PROBABILIDADE	ERRO PADRÃO DA MÉDIA
I X II	S	1, 14
I X III	NS	—
I X IV	S	1, 14
II X III	S	1, 82
II X IV	S	1, 82
III X IV	S	1, 24

Gráfico 1. Quantidade de filhotes procriados em três cruzamentos sucessivos dos grupos controle, parotidectomizado, controle injetado com Parotin e parotidectomizado injetado com Parotin.



Discussão

A Tabela 1 mostra que, em relação ao grupo controle, a quantidade de filhotes procriados em três cruzamentos sucessivos sofre acentuado decréscimo no grupo parotidectomizado e ligeiro aumento da quantidade de filhotes procriados, no grupo parotidectomizado injetado com Parotin.

A Tabela II mostra que, pela análise de variância, a comparação entre grupos, ao nível de 5%, apenas não apresenta diferenças estatisticamente significantes, quando se comparam os grupo controle (I) e controle injetado com Parotin (III); nos demais, as diferenças foram significantes, com destaque especial para a comparação entre o grupo controle (I) e parotidectomizado (II).

O Gráfico 1, além de corroborar as diferenças existentes entre a quantidade de filhotes procriados em três cruzamentos sucessivos quando são comparados os grupos entre si, facilita a comparação dos resultados, destacando que as diferenças mais acentuadas ocorrem quando é comparado o grupo controle (I) ao parotidectomizado (II).

Tais resultados estão de acordo com Bixler *et al.* (1957) e com os de Lourides (1970) que observaram atrofia dos folículos ovarianos na sialadenectomia. Estão ainda de acordo com Afonsky (1958), segundo o qual a sialadenectomia leva à diminuição da capacidade de fertilização. São ainda coerentes com a afirmativa de Suddick (1960) de que as glândulas salivares contêm uma substância, que interfere na atividade normal dos órgão femininos, na reprodução.

Com relação à intensa diminuição da quantidade de filhotes nascidos de ratas parotidectomizadas, nossos achados são semelhantes aos descritos por Arcieri e Martinelli (1957) os quais relatam que além da diminuição do número de filhotes procriados, a parotidectomia ocasionou esterilidade progressiva em alguns animais.

A dificuldade de fertilização de ratas parotidectomizadas pode ser explicada histoquimicamente, com base na alteração da composição de membrana pelúcida que, nestas circunstâncias, apresenta-se espessada pelo aumento da quantidade de ácido hialurônico e ácido siálico. Como a penetração do espermatozóide no óvulo, depende do binômio ácido hialurônico-hialuronidase e ácido siálico-sialidase, presume-se que, o aumento de ácido hialurônico e siálico, aliado ao aumento do estado de polimerização

e/ou agregação das glicoproteínas, na zona pelúcida do óvulo de ratas parotidectomizadas seriam, em última instância, responsáveis pela diminuição da fertilidade, nestes animais. Desta forma, a proporção de hialuronidase e sialidase existentes normalmente nos espermatozóides, tornar-se-ia insuficiente para despolimerizar uma membrana pelúcida quantitativa e qualitativa alterada, dificultando ou impossibilitando a fertilização de ratas parotidectomizadas (MATHEUS et al., 1976).

Pela análise dos nossos resultados, fica também evidenciado que se, de um lado, a parotidectomia diminui a capacidade de procriação, de outro, a administração de 0,3 mg de Parotin semanalmente, restabelece, quase aos níveis normais, a capacidade de procriação de ratas parotidectomizadas. Também cabe destacar que o efeito produzido pela administração de Parotin, nas ratas controle, é ligeiramente superior ao observado quando essa mesma substância é administrada em ratas parotidectomizadas. Portanto, o aumento da capacidade de procriação observado nos animais do grupo controle injetado com Parotin sugere que a droga administrada (Parotin) associada à síntese desta substância produzida pelas parótidas preservadas, aumentou a capacidade de procriação nestes animais. Com relação às ratas parotidectomizadas, tudo indica que a quantidade de Parotin injetada, intraperitonealmente, foi capaz de reverter à situação, restabelecendo condições biológicas, capazes de favorecer a fecundação; restabelecendo condições biológicas, capazes de favorecer a fertilização de ratas cujas glândulas parótidas foram removidas. Tais resultados, somam-se aos descritos por Matheus (1982) que ao estudar o efeito do Parotin sobre o peso corporal e peso glandular de filhotes de ratas injetadas com Parotin, observou aumento da quantidade de números de filhotes procriados, por ninhada.

No caso do grupo controle injetado com Parotin, acreditamos que a elevação da proporção do aumento do número de filhotes ao final de três cruzamentos consecutivos, seja resultante da ação de uma substância contida nas próprias glândulas salivares, que segundo Suddick (1960) interfere favoravelmente na fecundação, somada à ação do Parotin já que nestes animais as glândulas parótidas foram mantidas.

Assim, no presente trabalho, além de relacionar a intensa diminuição da quantidade de filhotes procriados após a parotidectomia procurou-se, igualmente, verificar se a administração de Parotin, em ratas parotidectomizadas, poderia corrigir a deficiência de fecundação já constatada. Procurou-se ainda, verificar se o Parotin, administrado em ratas portadoras da glândula parótida, teria ação semelhante àquela observada em animais parotidectomizados ou teria sua ação biológica potencializada.

Conclusão

Nas condições experimentais do presente trabalho pode-se concluir que, em relação aos animais controle: a) a parotidectomia ocasionou acentuado decréscimo da quantidade de filhotes procriados; b) a administração de Parotin, em ratas não parotidectomizadas, ocasionou discreto aumento da quantidade de filhotes procriados; c) a administração de Parotin, em ratas parotidectomizadas, praticamente restabeleceu a quantidade de filhotes procriados, a níveis semelhantes aos dos animais controle.

Referências

AFONSKY, D. **Effects of desalivation in reproduction.** J. Dent. Res. v. 37, p. 956, 1958.

ARCIERI, R.M.; MARTINELLI, C. **Influence of salivary glands extirpation on procreation in rats.** Tohoku J. exp. Med., v. 121, p. 105-10, 1955.

BIXLER, D.; MUHLER, J.C.; SHAFER, W.G. **The effects of salivariadenectomy on the**

reproductive organs of the female rats. J. Dent. Res., v. 36, p. 559-65, 1957.

GINN, J.T.; VOLKER, J.F. **Rusting in desalivatted albino rats.** *Endocrinology*, v. 31, p. 282-3, 1941.

HIGASHIJO, T. *Soc. Path. Jap. Tr. V. 30*, p.252, 1944. Apud GINN, J.T.; VOLKER, J.F. **Rustings in desalivatted albino rats.** *Endocrinology*, v. 31, p. 282-3, 1941.

ISHISAKA, S; TSUJII, T. **Parotin subunit and its synthetic peptide possess interleukin 1-like activity and exert stimulating effects on liver cells and brain cells.** *Cytokine*, v. 6, p. 265-71, 1994

ISTRATE, 1955. apud NOCA CRUZ, J.L. **Influência da sialadenectomia sobre os testes de sensibilidade à insulina e de tolerância à glicose em cães.** *Rev. Fac. Odont. Pelotas*, v. 5 p. 43-70, 1954.

ITO, Y; MIZUTANI, A. **Studies on the salivary gland hormones.** *J. Pharm. Soc. Jap.*, v. 72, p. 239-44, 1952.

IVASENKO, P.L.; LOBASTOV, A.; POTASHOV, D.A.; DISTERGOVA, O.V.; SHADEVSKI, V.M.; KRIVIUNSKI, A.K. **Sposob lecheniia khonicheskogo parenkhimatoznogo parotita.** A treatment method for chronic parenchymatous parotitis. *Stomatologija*, v. 72, p. 32-4, 1993.

LACASSAGNE, A.; CHAMORRO, A. **Réaction a la testosterone de la glande sousmaxillare, atrophiee consecutivent a l'hypohysectomie chez la souris.** *C.R. Seanc. Soc. Biol. Fil.*, v. 134, p. 223-4, 1940.

LEONORA, J.; TIECHE, J.J.; CELESTIN, J. **Physiological factors affecting secretion of parotid hormone.** *Am J Physiol. Endocrinol. Metab.*, v. 252, p. 477-84, 1987.

LEONORA, J.; TIECHE, J.J.; STEINMAN, R.R. **Further evidence for a hypothalamus-parotid gland endocrine axis in the rat.** *Arch Oral Biol.*, v. 38, p. 911-6, 1993.

LIN, C.C.; SUN, S.S.; KAO, A.; LEE, C.C. **Impaired salivary function in patients with noninsulin-dependent diabetes mellitus with xerostomia.** *J. Diabetes Complications*, v. 16, p. 176-9, 2002.

LIU, A.; FLORES, C. ; KINKEAD, T.; CARBONI, A.A.; MENON, M.; SEETHALAKSHMI, L. **Effects of sialoadenectomy and epidermal growth factor on testicular function of sexually mature male mice.** *J. Urol.*, v. 152, p. 554-61, 1994.

LOURIDES, O.; THEODOSSIOU, A., BAZOPOULOU, E., DEMETRIOU, N. **Total sialoadenectomy effect on the uterus and ovaries of the albino rat.** *Odontiatrike*, v.5, p. 258-60, 1970.

MATHEUS, G. **Processo de reparo de fratura óssea em ratos parotidectomizados.** Estudo morfológico e histoquímico. Araçatuba. Faculdade de Odontologia - UNESP. 1973. Tese de Doutorado.

MATHEUS, G. **Estudo morfológico e morfométrico das glândulas parótida e submandibular de animais nascidos de ratas injetadas com Parotin.** Araçatuba. Faculdade de Odontologia - UNESP. 1982. Tese de Livre-Docência.

MATHEUS, G.; MARTINELLI, C.; MELHADO, R. M. **Estudo morfológico e histoquímico de la membrana pelúcida del óvulo de ratas parotidectomizadas.** *Rev. Cub. Med.*, v. 15, p. 25-46, 1976.

OGATA, A.; ITO, Y.; NOZAKI, I.; OKABE, S.; OGATA, T.; ISHII, Z. **Chemical and pathological studies in isolation of salivary hormone.** *Igaku-to-Subutsugaku*, v. 5, p. 253-7, 1944.

PINKSTAFF, C.A. **Salivary gland sexual dimorphism: a brief review.** *Eur. J. Morphol*, v. 37, p. 31-4, 1998.

PURUSHOTHAM, K.R.; WANG, P.L.; DOLCE, C.; ZELLES, T.; BLAZSEK, J.; HUMPHREYS-BEHER, M.G. **Effects of surgical ovariectomy on rat salivary gland function.** *Arch Oral Biol*, v. 38, p. 779-84, 1993.

RAYNAUD, J. **Controle hormonal de la glande sous-maxillaire de la souris.** *Bull. Biol. Fr. Belg.*, v. 94, p. 399-523, 1960.

SAITOH, K.; VALKABAYASHI, K. **Effects of hard tissue-related hormones on the intracellular calcium ion of the rat odontoblasts.** *Endocrine Journal*, v. 47, p. 675-82, 2000.

SNEDECOR, G.W. **Statiscal methods.** 5a. ed. Ames, Iowa State College Press., 1956.

SUDDICK, P. R. **Effects of salivariadenectomy and administration of gland homogenates upon thee reproductive organs of the female rats.** *J. Dent. Res.*, v. 30, p. 554-71, 1960.

TANAKA, S.; ITO, Y. **Studies on the salivary gland hormones.** XXIX. Studies on the salivary gland hormones labeled with I131. 1. Localization of radioactivity after administration of I131 labeled parotin to rats. *Endocr. Jap.*, v.5, p. 55-64, 1958.