



1150016016



FOP

T/UNICAMP B644d

JOÃO BATISTA BORGES

Farmacêutico-bioquímico

DETERMINAÇÕES DE ÍNDICES B-MA EM FÍGADO E
LÍNGUA DE RATOS (*Rattus, norvegicus albinus*, Wistar) NORMAIS,
SIALOADENECTOMIZADOS E SUBMETIDOS A CIRURGIA
SIMULADA

Tese apresentada à Faculdade de
Odontologia de Piracicaba da Uni-
versidade Estadual de Campinas,
para obtenção do grau de Mestre
em Biologia e Patologia Buco-
Dental, na área de Bioquímica.

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS

FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE PIRACICABA

BIBLIOTECA

T382

PIRACICABA

- 1981 -

DEDICATÓRIA

A meus pais, com muito carinho que souberam tanto nas horas fáceis como difíceis alcançar o potencial que possibilitou a realização desta tese.

e

A minha esposa, **ELIZABETH**, pelo carinho e compreensão durante todo o tempo necessário para a conclusão do curso de Pós-Graduação.

AGRADECIMENTO

AO PROFESSOR DOUTOR GERALDO CLARET DE MELLO
AYRES, TITULAR NA ÁREA DE BIOQUÍMICA DA
FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE PIRACICABA -
UNICAMP - , PELA EFICAZ ORIENTAÇÃO, PA-
CIÊNCIA NOS ATENDIMENTOS, SABEDORIA E CONS-
TÂNCIA NO ENSINAR POSSIBILITANDO A REALI-
ZAÇÃO DESTE TRABALHO.

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

- Ao Professor Dr. Antonio Carlos Neder, DD. Diretor da Faculdade de Odontologia de Piracicaba, da Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP);
- Ao Professor Dr. Vinio Barbosa Tamburini, DD. Diretor da Escola de Farmácia e Odontologia de Alfenas, pelo estímulo e colaboração no decorrer deste trabalho;
- Ao Professor Dr. Antonio Carlos Ferraz Corrêa, Coordenador do Curso de Pós-Graduação do Departamento de Biologia e Patologia Buco-Dental da Faculdade de Odontologia de Piracicaba, UNICAMP, pela atenção e compreensão;
- Ao Professor Dr. Alcides Guimarães, pela valiosa colaboração prestada durante a realização deste trabalho, meus maiores e sinceros agradecimentos;
- Ao Professor Dr. Jaime A. Cury, pelo apoio, colaboração e amizade;
- Ao Professor Dr. Afrânio Caiafa de Mesquita, Titular da disciplina de Bioquímica-Clínica, da Escola de Farmácia e Odontologia de Alfenas, pela amizade e incentivos dados ao meu ingresso na Carreira do Magistério, que se refletem em cada palavra desta tese, quero consignar minha profunda gratidão;
- Ao Professor Dr. Hélio de Souza, Chefe do Departamento de Prótese da Escola de Farmácia e Odontologia de Alfenas, pelo meu ingresso no curso de mestrado;

- A Sr.^a Ivany do Carmo G. Gerola, Bibliotecária da Faculdade de Odontologia de Piracicaba, pela colaboração prestada;
- Ao Sr. Mário Herling de Oliveira, pela valiosa colaboração nas análises estatísticas, revisão do texto e traçado dos gráficos;
- Ao Programa Institucional de Capacitação Docente (P.I.C.D.) pela bolsa concedida durante parte da realização deste trabalho;
- A Sr.^a Sueli Duarte de Oliveira Soliani, pela atenção, fineza e colaboração;
- A Sr.^a Marisa Duarte de Oliveira Soares, pela colaboração prestada;
- Ao Sr. Carlos Alberto Aparecido Feliciano, pela colaboração e amizade;
- Ao Sr. Waldomiro Vieira Filho, pela colaboração;
- Aos Caros Colegas do Curso de Pós-Graduação, pela solidariedade no transcorrer do curso.

1 - INTRODUÇÃO

O conhecimento bioquímico do comportamento de tecidos animais, "in vitro", é uma continuada e inesgotável fonte de pesquisas.

Em 1965, AYRES (1) apresentou em sua tese para obtenção do título de livre docente em Bioquímica, estudos e dados experimentais que levaram BACILA (*) a sugerir a possibilidade de serem encontrados índices - depois denominados de B-MA - que seriam específicos para os diferentes tecidos e de diferentes espécies animais.

Por outro lado, estudos realizados com parotina - secretado pelas glândulas salivares (parótidas) - por diversos autores, revelaram ser este hormônio de importante ação sobre diversos tecidos e em diferentes fases da vida animal.

Em vista destes fatos é que foi proposta a presente pesquisa, elaborada dentro de esquema experimental que permitisse interpretação estatística dos resultados obtidos, e viabilidade de condução dos métodos experimentais, com segurança.

(*) Informação pessoal

Os objetivos principais foram:

- a - Determinação de Índices B-MA para fígado e língua de ratos (*Rattus, norvegicus albinus*, Wistar) mantidos sob diferentes tratamentos;
- b - Verificar se a sialoadenectomia total provocaria alterações metabólicas nos tecidos hepáticos e muscular de língua, a través de respirometria endógena em Warburg, (método dire to) e que se traduziria por alterações nos volumes dos índices B-MA.

A apreciação e discussão dos resultados obtidos foram feitos à luz da análise estatística, daí os tratamentos experimentais atenderem às condições: a) casualização ; b) con trole local e c) repetição.

2 - REVISÃO DA LITERATURA

Em 1965, BACILA (*) examinando os resultados a presentados por AYRES (1) em sua tese para obtenção do título de Livre-docente em Bioquímica, sugeriu a possibilidade de, ao relacionar os valores de $QO_2^{(N)}$ e QO_2 para os mesmos tecidos e para os mesmos momentos de respirometria, definirem-se índices que seriam específicos para os diferentes tecidos e para estes extraídos de diferentes espécies animais. A estes índices, que foram posteriormente comprovados serem válidos, foi dada a denominação de Índices B-MA (em atenção aos seus autores). Neste trabalho foram estudados "in vitro", sob diferentes condições ex perimentais, polpa dental, masseter e cérebro de suino (*Sus scrofa domesticus*, Gray).

Em 1970, AYRES e BAUMGARTNER (2) determinaram ín dices B-MA em cérebro, masséter, diafragma, fígado e músculo cardíaco de cobaio (*Cavia porcellus*, L.). O trabalho experi - mental foi "in vitro", e os índices determinados foram os seguintes: cérebro = 21,41 ; coração = 13,10 , fígado = 12,79 , masséter = 11,77 e diafragma = 11,30. Verificaram ainda os au tores, que os índices para masséter e cérebro de cobaio coinci di ram com aquele dos mesmos tecidos de suínos (*Sus scrofa domes* ticus, Gray).

(*) Informação pessoal

Em 1981 AYRES e NEDER (3) apresentaram trabalho sobre respiração endôgena de tecidos animais (cêrebro e polpa dental de suínos) sob diferentes condições de tensões parciais de oxigênio da atmosfera experimental.

Em 1954, ITO (10) publicou trabalho a respeito da atividade biológica do parotín. O autor e seus colaboradores pesquisaram o estágio em que se encontrava o isolamento desta proteína dinâmica, de glândula salivar de bovino e constataram que esta substância apresenta diversas atividades biológicas. Neste trabalho o autor ainda estudou o S - Parotín (substância semelhante ao hormônio extraído das parótidas), retirado, porém, das glândulas sub-mandibulares de bovinos.

Segundo o publicado pelo mesmo autor, o parotín tem efeitos sobre tecidos duros, substâncias inorgânicas do sangue, e ainda se relaciona com outras glândulas endócrinas, além de influir sobre metabolismo de proteína.

Em 1960, ITO (11) apresentou trabalho em que mostrou ser o princípio hormonal "parotín" marcado com iodo radioativo - I^{131} - encontrado nos seguintes líquidos e estruturas, após injeções intra-venosas desta droga, a saber: sangue, hipófise, adrenais, fígado, pâncreas, rins, timo, baço e tireóide, sendo as maiores concentrações detectadas, após 20 minutos das aplicações, em fígado, rins e tireóide; e as menores concentrações em timo, pâncreas e hipófise.

Em 1976 , TEIXEIRA *et alii* (13) apresentaram trabalho onde foram estudados os efeitos da sialoadenectomia e do parotín sobre o desenvolvimento do tecido de granulação de ratos jovens e adultos. Os resultados mostraram que a sialoadenectomia produziu um retardo sobre o desenvolvimento do tecido de granulação. Este efeito foi parcialmente inibido por uma única dose de parotín (0,15 mg/100 g de peso de rato) e totalmente inibido pela administração de 0,30 mg de parotín/100 g de peso de rato.

GUIMARÃES *et alii* (7), em 1979, publicaram trabalho onde foi feito estudo para verificação da influência das glândulas parótidas sobre o metabolismo de carboidratos em ratos.

Os resultados mostraram que os animais parotidectomizados aos 20 , 30 e 40 dias de idade apresentaram médias glicêmicas significantes e maior que a dos animais controles, e que o nível hepático dos animais parotidectomizados era significativo e menor que o dos animais controles.

Em 1980, GUIMARÃES *et alii* (8) apresentaram trabalho em que ratos jovens, diabéticos, após uma única dose de parotín (0,30 mg/100 g de peso corporal) tiveram seus níveis glicêmicos próximos ao normal.

O glicogênio hepático desses animais teve seus níveis aumentados.

Sugeriram-se duas hipóteses: a) parotin apresentaria um efeito sinérgico à insulina ; e b) parotin atuaria a nível de receptores de membrana, facilitando o transporte da glicose e promovendo a atividade das glicoquinases hepáticas.

3 - MATERIAL E MÉTODOS

3.1 - MATERIAL

3.1.1 - Animais

Os animais utilizados na presente pesquisa foram ratos (*Rattus, norvegicus albinus*, Wistar) inicialmente normais com aproximadamente 90 dias de idade à época do primeiro dia da fase experimental, machos e fêmeas e com pesos que variavam entre os limites de 161 g a 310 g. Noventa ratos, nestas condições básicas permitiram o desenvolvimento de todo o plano experimental.

Escolhidos ao acaso, foram identificados por perfurações e cortes nas orelhas.

A população foi assim dividida:

- a - 30 ratos foram considerados testemunhas ao longo da fase experimental (70 dias), sendo que 15 receberam ração granulada (*) e água ; e 15 receberam ração granulada (*) , leite (**) e água.

(*) Ração balanceada marca Agrovita Ltda.

(**) Leite ninho integral, Nestlé, reidratado conforme especificações de fábrica.

- b - 30 ratos no dia inicial, sofreram "cirurgia simulada" e, também foram divididos em dois lotes de 15 animais cada, recebendo respectivamente os dois tipos de dieta;
- c - 30 ratos, no dia inicial, sofreram cirurgia real, quando então foram retiradas as glândulas salivares maiores (parótidas, sub-linguais e sub-mandibulares). Estes também foram divididos em dois lotes de 15 animais cada, e que receberam respectivamente os dois tipos de dieta.

Nas oportunidades das cirurgias citadas em (b) e (c) os animais foram anestesiados com éter etílico (etoxietano).

Em todo o transcorrer do período experimental, os animais ao receberem as dietas, delas se utilizaram "ad libitum". Não ocorreu nenhuma morte casual ou acidental: o esquema dos sacrifícios dos ratos segundo o cronograma experimental pode assim ser seguido sem prejuízos.

3.1.2 - Tecidos

Os tecidos utilizados para verificação de suas atividades respiratórias endógenas foram: a) fígado e b) língua.

Imediatamente antes da utilização dos tecidos, os ratos foram sacrificados por sangria, sem anestesia, por seccionamento das carótidas. Em seguida, as línguas e os fígados foram lavados com solução fisiológica gelada para eliminação de sangue.

A seguir, as peças foram colocadas em bêqueres mantidos em banho de gelo, e contendo solução fisiológica gelada, e imediatamente fracionadas, mediante utilização de tesouras cirúrgicas.

As "fatias" de tecido hepático e de língua não superaram em espessura o indicado por FISHER (5) de modo a evitar variações ponderáveis no que se refere à superfície total de contacto entre tecidos e meio de suspensão.

Estando todo o "sistema" de Warburg já preparado, os tecidos fragmentados foram recolhidos em conchas perfuradas, que, uma vez razadas, permitiram obter volumes de massas úmidas de 1,0 ml e de 0,5 ml, respectivamente de fígado e língua.

Estas massas foram transferidas para os frascos de Warburg, completando o sistema desejado.

As fatias de línguas e de fígados foram para todos os tratamentos aplicados, postas a respirar em Warburg, sempre em triplicata. Em razão disto, os valores apresentados nos Quadros de números II a XIII e Tabelas de 1 a 30, são médias de três animais dentro de cada tratamento.

3.1.3 - Meio de suspensão

O meio de suspensão utilizado para a lavagem, corte dos tecidos e respirometria foi o de Krebs-Ringer - fosfato, para pH = 7,40 (15).

3.2 - MÉTODO

3.2.1 - Animais

Os ratos foram numerados ao acaso e pesados no dia inicial da fase experimental. Foram aplicados os seguintes tratamentos:

- I - Dieta: ração balanceada e água ; condição: testemunha;
- II - Dieta: ração balanceada leite e água ; condição: testemunha.
- III - Dieta: ração balanceada e água ; condição: cirurgia simulada.
- IV - Dieta: ração balanceada leite e água ; condição: ciirurgia simulada.
- V - Dieta: ração balanceada e água ; condição: sialoadnectomia.
- VI - Dieta: ração balanceada leite e água ; condição: sialoadenectomia.

Nos dias programados para o sacrifício dos ratos e utilização das fatias de fígados e de línguas, em respirometria de Warburg, os animais foram pesados novamente.

Os pesos iniciais e finais assim como as condições de tratamento experimental e as diferenças de pesos estão no Quadro I.

Obs.: Os valores relativos aos pesos representam as médias de lotes com três animais.

3.2.2.- Sistemas utilizados em Warburg

O método respirométrico foi o "direto de Warburg"

3.2.2.1 - Material biológico: Fígado

Meio de suspensão (Krebs-Ringer - fosfato)	2,0 ml
KOH a 20% (embebido em papel)	0,20 ml
Volume de fatias de tecido	1,0 ml

Vf	3,20 ml
Temperatura do banho	37,0°C
Tempo de equilíbrio	10 minutos
PO ₂ : atmosfera ambiente.	
Agitação: circular alternativa, cem ciclos por minuto.	
Leituras: de 15 em 15 minutos até completar 2,0 horas.	

3.2.2.2 - Material biológico: Língua

Meio de suspensão (Krebs-Ringer - fosfato)	2,0 ml
KOH a 20%	0,20 ml
Volume de fatias de tecido	0,5 ml

Vf	2,70 ml
Temperatura do banho	37,0°C
Tempo de equilíbrio	10 minutos
PO ₂ : atmosfera ambiente.	
Agitação: circular alternativa, cem ciclos por minuto.	
Leituras: de 15 em 15 minutos até completar 2,0 horas.	

Ao final de cada experiência em Warburg, foram testados todos os frascos para verificação do pH do meio de suspensão, pelo uso de tiras finas de papel indicador universal.

Esta precaução foi tomada para verificação de possíveis acidentes experimentais, devido à projeção de solução de KOH a 20% do poço central do frasco de Warburg, para a câmara principal.

3.2.3 - Massas secas

Ao final de todos os experimentos respirométricos, as fatias de tecidos foram cuidadosa e quantitativamente transferidas para cadinhos de porcelana (previamente tarados). Antes porém, os tecidos foram lavados (em técnica de filtração), com volumes de água destilada correspondentes a dez vezes aquele da solução fisiológica, para remoção desta última.

A seguir, os cadinhos foram colocados em forno elétrico, à temperatura de 110°C durante 40 horas (tempo que revelou ser suficiente para obtenção de duas pesagens iguais ou sensivelmente semelhantes).

Os resultados das massas secas estão nos Quadros de números II a XIII.

3.2.4 - Determinação de nitrogênio total

As massas secas foram retiradas dos cadinhos de porcelana, quantitativamente, e transferidas após raspagem e homogeneização para frascos devidamente caracterizados.

Nestes materiais foram em seguida dosados teores de nitrogênio total, pelo método nº 218 - 72 A da Technicon (*). Os resultados estão inseridos nos Quadros de números II a XIII.

(*) Método modificado pela equipe de cientistas do CENA (Centro de Energia Nuclear na Agricultura) da Universidade de São Paulo.

4 - RESULTADOS OBTIDOS

Os resultados obtidos durante o período experimental estão apresentados nos Quadros de números I a XIII e complementados com as Tabelas de números 1 a 30 e Gráficos de números 1 a 6.

QUADRO I - Tratamentos aplicados aos ratos e seus pesos iniciais e finais (em gramas), e ainda as variações observadas

Números	Tratamentos	Períodos decorridos	Pesos ao início da fase experimental (em gramas)	Pesos (em gramas) nos dias do sacrifício	Diferença nos pesos
01 a 03	I	14	173	183	+ 10
16 a 18	II	14	244	266	+ 22
31 a 33	III	14	282	270	- 12
46 a 48	IV	14	190	196	+ 06
61 a 63	V	14	266	271	+ 05
76 a 78	VI	14	202	204	+ 02
04 a 06	I	28	161	177	+ 16
19 a 21	II	28	259	314	+ 55
34 a 36	III	28	285	296	+ 11
49 a 51	IV	28	200	224	+ 24
64 a 66	V	28	277	296	+ 19
79 a 81	VI	28	190	200	+ 10
07 a 09	I	42	172	196	+ 24
22 a 24	II	42	244	287	+ 43
37 a 39	III	42	272	284	+ 12
52 a 54	IV	42	185	209	+ 24
67 a 69	V	42	276	297	+ 21
82 a 84	VI	42	186	203	+ 17
10 a 12	I	56	161	202	+ 41
25 a 27	II	56	252	291	+ 39
40 a 42	III	56	235	216	- 19
55 a 57	IV	56	186	214	+ 28
70 a 72	V	56	278	287	+ 09
85 a 87	VI	56	190	209	+ 19

continua...

QUADRO - Continuação

Números	Tratamentos	Períodos decorridos	Pesos ao início da fase experimental (em gramas)	Pesos (em gramas) nos dias do sacrifício	Diferença nos pesos
13 a 15	I	70	162	204	+ 42
28 a 30	II	70	238	299	+ 61
43 a 45	III	70	258	278	+ 20
58 a 60	IV	70	186	209	+ 23
73 a 75	V	70	263	294	+ 31
88 a 90	VI	70	208	234	+ 26

QUADRO II - Resultados analíticos obtidos dos dados em respirometria, análises complementares e determinação dos Índices B-MA para os diferentes tratamentos aos 14 dias, em relação a fígado

	Tratamentos					
	I	II	III	IV	V	VI
$\mu\text{l de O}_2$ 60 min.	252	248	187	212	225	196
$\mu\text{l de O}_2$ 120 min.	450	471	328	392	369	361
Massa seca (mg)	117	136	146	135	136	160
Nitrogênio (mg)	11,32	11,21	12,30	12,01	12,22	11,97
QO_2 60 min.	2,15	1,82	1,28	1,57	1,65	1,23
QO_2 120 min.	3,85	3,46	2,25	2,90	2,71	2,26
$\text{QO}_2^{(N)}$ 60 min.	22,261	22,123	15,203	17,652	18,412	16,374
$\text{QO}_2^{(N)}$ 120 min.	39,752	42,010	26,667	32,639	30,196	30,159
Índice B-MA 60 min.	10,336	12,153	11,877	11,243	11,159	13,312
Índice B-MA 120 min.	10,325	12,141	11,852	11,254	11,142	13,345

QUADRO III - Resultados analíticos obtidos dos dados em respirometria, análises complementares e determinação dos índices B-MA para os diferentes tratamentos aos 14 dias, em relação à língua

	Tratamentos					
	I	II	III	IV	V	VI
μl de O_2 60 min.	96	139	127	120	116	105
μl de O_2 120 min.	178	296	261	252	188	232
Massa seca (mg)	78	72	84	67	77	73
Nitrogênio (mg)	12,24	11,99	13,87	13,40	12,76	13,03
QO_2 60 min.	1,23	1,93	1,51	1,79	1,51	1,44
QO_2 120 min.	2,28	4,11	3,11	3,76	2,44	3,18
$\text{QO}_2^{(N)}$ 60 min.	7,843	11,593	9,156	8,955	9,091	8,058
$\text{QO}_2^{(N)}$ 120 min.	14,542	24,687	18,818	18,806	14,734	17,805
Índice B-MA 60 min.	6,376	6,007	6,064	5,003	6,021	5,596
Índice B-MA 120 min.	6,378	6,006	6,051	5,002	6,039	5,599

QUADRO IV - Resultados analíticos obtidos dos dados em respirometria, análises complementares e determinação dos índices B-MA para os diferentes tratamentos aos 28 dias, em relação a fígado

	Tratamentos					
	I	II	III	IV	V	VI
$\mu\text{l de O}_2$ 60 min.	202	269	266	248	169	247
$\mu\text{l de O}_2$ 120 min.	371	495	442	433	314	447
Massa seca (mg)	141	176	126	145	109	145
Nitrogênio (mg)	11,71	11,92	11,68	11,34	11,31	12,21
QO_2 60 min.	1,43	1,53	2,11	1,71	1,55	1,77
QO_2 120 min.	2,63	2,81	3,51	2,99	2,88	3,08
$\text{QO}_2^{(N)}$ 60 min.	17,250	22,567	22,774	21,869	14,943	20,229
$\text{QO}_2^{(N)}$ 120 min.	31,682	41,527	37,842	38,183	27,763	36,609
Índice B-MA 60 min.	12,063	14,750	10,793	12,789	9,641	11,899
Índice B-MA 120 min.	12,046	14,778	10,781	12,770	9,640	11,886

QUADRO V - Resultados analíticos obtidos dos dados em respirometria, análises complementares e determinação dos índices B-MA para os diferentes tratamentos aos 28 dias, em relação à língua

	Tratamentos					
	I	II	III	IV	V	VI
$\mu\text{l de O}_2$ 60 min.	87	131	137	138	112	134
$\mu\text{l de O}_2$ 120 min.	202	279	303	280	260	283
Massa seca (mg)	59	75	94	74	77	84
Nitrogênio (mg)	13,29	13,02	12,60	12,03	12,14	12,94
QO_2 60 min.	1,47	1,75	1,46	1,86	1,45	1,60
QO_2 120 min.	3,42	3,72	3,22	3,78	3,38	3,37
$\text{QO}_2^{(N)}$ 60 min.	6,546	10,061	10,873	11,471	9,226	10,355
$\text{QO}_2^{(N)}$ 120 min.	15,199	21,429	24,048	23,275	21,417	21,870
Índice B-MA 60 min.	4,453	5,749	7,447	6,167	6,363	6,472
Índice B-MA 120 min.	4,444	5,760	7,468	6,157	6,336	6,490

QUADRO VI - Resultados analíticos obtidos dos dados em respirometria, análises complementares e determinação dos índices B-MA para os diferentes tratamentos aos 42 dias, em relação à fígado

	Tratamentos					
	I	II	III	IV	V	VI
μl de O_2 60 min.	221	294	256	281	258	266
μl de O_2 120 min.	402	520	452	473	449	485
Massa seca (mg)	141	179	168	171	135	158
Nitrogênio (mg)	11,23	11,08	11,23	11,01	11,61	11,06
QO_2 60 min.	1,57	1,64	1,52	1,64	1,91	1,68
QO_2 120 min.	2,85	2,91	2,69	2,77	3,33	3,07
$\text{QO}_2^{(N)}$ 60 min.	19,679	26,534	22,796	25,522	22,222	24,051
$\text{QO}_2^{(N)}$ 120 min.	35,797	46,931	40,249	42,961	38,674	43,852
Índice B-MA 60 min.	12,534	16,179	14,997	15,580	11,635	14,316
Índice B-MA 120 min.	12,560	16,127	14,962	15,509	11,613	14,284

QUADRO VII - Resultados analíticos obtidos dos dados em respirometria, análises complementares e determinação dos Índices B-MA para os diferentes tratamentos aos 42 dias em relação à língua

	Tratamentos					
	I	II	III	IV	V	VI
μl de O_2 60 min.	107	149	137	132	147	140
μl de O_2 120 min	237	295	260	273	295	297
Massa seca (mg)	78	94	72	69	84	71
Nitrogênio (mg)	12,55	13,05	12,15	11,59	13,19	12,21
QO_2 60 min.	1,37	1,59	1,90	1,91	1,75	1,97
QO_2 120 min.	3,04	3,14	3,61	3,96	3,51	4,18
$\text{QO}_2^{(N)}$ 60 min.	8,525	11,418	11,276	11,389	11,144	11,466
$\text{QO}_2^{(N)}$ 120 min.	18,884	22,605	21,399	23,554	22,365	24,324
Índice B-MA 60 min.	6,223	7,181	5,935	5,963	6,368	5,820
Índice B-Ma 120 min.	6,212	7,199	5,928	5,948	6,372	5,819

QUADRO VIII - Resultados analíticos obtidos dos dados em respirometria, análises complementares e determinação dos Índices B-MA para os diferentes tratamentos aos 56 dias em relação a fígado

	Tratamentos					
	I	II	III	IV	V	VI
$\mu\text{l de O}_2$ 60 min.	222	275	261	259	253	215
$\mu\text{l de O}_2$ 120 min.	373	467	461	426	433	377
Massa seca (mg)	113	158	126	154	128	113
Nitrogênio (mg)	10,65	11,30	11,01	11,63	12,19	10,57
QO_2 60 min.	1,96	1,74	2,07	1,68	1,98	1,90
QO_2 120 min.	3,30	2,96	3,66	2,77	3,38	3,34
$\text{QO}_2^{(N)}$ 60 min.	20,845	24,336	23,706	22,270	20,755	20,341
$\text{QO}_2^{(N)}$ 120 min.	35,023	41,327	41,871	36,629	35,521	35,667
Índice B-MA 60 min.	10,635	13,986	11,453	13,256	10,482	10,706
Índice B-MA 120 min.	10,613	13,962	11,440	13,223	10,509	10,678

QUADRO IX - Resultados analíticos obtidos dos dados em respirometria, análises complementares e determinação dos índices B-MA para os diferentes tratamentos aos 56 dias em relação à língua

	Tratamentos					
	I	II	III	IV	V	VI
μl de O_2 60 min.	144	155	131	148	128	146
μl de O_2 120 min.	278	284	138	290	270	293
Massa seca (mg)	67	84	84	75	63	68
Nitrogênio (mg)	12,48	13,28	12,74	10,94	13,03	12,61
QO_2 60 min.	2,15	1,85	1,56	1,97	2,03	2,15
QO_2 120 min.	4,15	3,38	1,64	3,87	4,29	4,31
$\text{QO}_2^{(N)}$ 60 min.	11,538	11,672	10,283	13,528	9,823	11,578
$\text{QO}_2^{(N)}$ 120 min.	22,276	21,386	10,832	26,508	20,721	23,236
Índice B-MA 60 min.	5,367	6,309	6,592	6,867	4,839	5,385
Índice B-MA 120 min.	5,368	6,327	6,605	6,850	4,830	5,391

QUADRO X - Resultados analíticos obtidos dos dados em respirometria, análises complementares e determinação dos índices B-MA para os diferentes tratamentos aos 70 dias em relação a fígado

	Tratamentos					
	I	II	III	IV	V	VI
$\mu\text{l de O}_2$ 60 min.	278	253	297	255	285	205
$\mu\text{l de O}_2$ 120 min.	475	434	508	450	485	345
Massa seca (mg)	149	155	180	141	168	108
Nitrogênio (mg)	11,05	12,43	11,20	11,79	11,92	10,45
QO_2 60 min.	1,87	1,63	1,65	1,81	1,70	1,90
QO_2 120 min.	3,19	2,80	2,82	3,19	2,89	3,19
$\text{QO}_2^{(N)}$ 60 min.	25,158	20,354	26,518	21,628	23,909	19,617
$\text{QO}_2^{(N)}$ 120 min.	42,986	34,916	45,357	38,168	40,688	33,014
Índice B-MA 60 min.	13,453	12,487	16,072	11,949	14,064	10,325
Índice B-M 120 min.	13,475	12,470	16,084	11,965	14,07	10,349

QUADRO XI - Resultados analíticos obtidos dos dados em respirometria, análises complementares e determinação dos índices B-MA para os diferentes tratamentos aos 70 dias em relação à língua

	Tratamentos					
	I	II	III	IV	V	VI
$\mu\text{l de O}_2$ 60 min.	144	163	177	144	140	144
$\mu\text{l de O}_2$ 120 min.	281	324	354	307	263	288
Massa seca (mg)	62	88	93	72	76	67
Nitrogênio (mg)	13,56	13,04	12,95	13,25	13,05	12,38
QO_2 60 min.	2,32	1,85	1,90	2,00	1,84	2,15
QO_2 120 min.	4,53	3,68	3,81	4,26	3,46	4,30
$\text{QO}_2^{(N)}$ 60 min.	10,619	12,500	13,668	10,868	10,728	11,632
$\text{QO}_2^{(N)}$ 120 min.	20,722	24,847	27,336	23,170	20,153	23,263
Índice B-MA 60 min.	4,577	6,757	7,194	5,434	5,830	5,410
Índice B-M 120 min.	4,574	6,752	7,175	5,439	5,825	5,410

QUADRO XII - Médias dos índices B-MA ao longo dos trabalhos experimentais, em relação aos tratamentos aplicados e para os dois momentos considerados em Warburg. Tecido: Fígado

Tratamentos	Respirometria			
	60 minutos	Médias parciais [□]	120 minutos	Médias parciais [□]
I	11,804	12,858	11,804	12,850
II	13,911		13,896	
III	13,038	13,001	13,024	12,984
IV	12,963		12,944	
V	11,396	11,754	11,397	11,742
VI	12,112		12,108	
Média Geral		12,537		12,529

□ As médias parciais, relativas ao índice B-MA, apresentadas nos Quadros XII e XIII, se referem à média das médias, dentro de um mesmo tratamento. (I e II → Testemunha ; III e IV → Cirurgicamente simulados e V e VI → Sialoadenectomizados).

QUADRO XIII - Médias dos índices B-MA ao longo dos trabalhos experimentais, em relação aos tratamentos aplicados e para os dois momentos considerados em Warburg. Tecido: Língua

Tratamentos	Respirometria			
	60 minutos	Médias \square parciais	120 minutos	Médias \square parciais
I	5,399	5,900	5,395	5,902
II	6,401		6,409	
III	6,646	6,267	6,645	6,262
IV	5,887		5,879	
V	5,884	5,810	5,880	5,811
VI	5,737		5,742	
Média Geral		5,992		5,992

TABELA 1 - Médias, variâncias, desvio padrão e coeficientes de variação, dos índices B-MA, medidos através de respirometria, utilizando como tecido, fígados de ratos, para o momento considerado em Warburg, aos 60 minutos

Grupos	\bar{x}	s^2	s	C. V.
I	11,804	1,710	1,308	11,079
II	13,911	2,743	1,656	11,905
III	13,038	5,486	2,342	17,965
IV	12,963	2,738	1,655	12,764
V	11,396	2,787	1,669	14,648
VI	12,112	2,878	1,696	14,008

TABELA 2 - Médias, variâncias, desvio padrão e coeficientes de variação, dos índices B-MA, medidos através de respirometria, utilizando como tecido, fígados de ratos, para o momento considerado em Warburg, aos 120 minutos

Grupos	\bar{x}	s^2	s	C.V.
I	11,804	1,757	1,325	11,230
II	13,896	2,718	1,649	11,865
III	13,024	5,508	2,347	18,021
IV	12,944	2,625	1,620	12,518
V	11,397	2,795	1,672	14,670
VI	12,108	2,863	1,692	13,975

TABELA 3 - Médias, variâncias, desvio padrão e coeficientes de variação, dos índices B-MA, medidos através de respirometria, utilizando como tecido, línguas de ratos, para o momento considerado em Warburg, aos 60 minutos

Grupo	\bar{x}	s^2	s	C.V.
I	5,399	0,801	0,895	16,579
II	6,401	0,331	0,575	8,988
III	6,646	0,447	0,669	10,062
IV	5,887	0,508	0,713	12,105
V	5,884	0,394	0,628	10,672
VI	5,737	0,199	0,447	7,785

TABELA 4 - Médias, variâncias, desvio padrão e coeficientes de variação, dos índices B-MA, medidos através de respirometria, utilizando como tecido, línguas de ratos, para o momento considerado em Warburg, aos 120 minutos

Grupo	\bar{x}	s^2	s	C.V.
I	5,395	0,803	0,896	16,612
II	6,409	0,333	0,577	9,004
III	6,645	0,457	0,676	10,169
IV	5,879	0,497	0,705	11,990
V	5,880	0,395	0,629	10,691
VI	5,742	0,205	0,452	7,882

TABELA 5 - Teste t para verificar se a alimentação influenciou nas médias dos índices B-MA determinadas para fígados, aos 60 minutos

Grupo	(I x II)	(III x IV)	(V x VI)
t	2,233	0,058	0,673

TABELA 6 - Teste t para verificar se a alimentação influenciou nas médias dos índices B-MA determinadas para fígados aos 120 minutos

Grupo	(I x II)	(III x IV)	(V x VI)
t	2,211	0,063	0,668

TABELA 7 - Teste t para verificar se o tempo influenciou nas médias dos índices B-MA determinadas aos 60 e 120 minutos, referentes a fígado e relativas a todos os tratamentos

Grupo	I	II	III	IV	V	VI
t	0,000	0,014	0,009	0,018	0,001	0,004

TABELA 8 - Teste t para verificar se entre todos os tratamentos o tempo influenciou nas médias dos Índices B-MA encontradas nos fígados

Tempo	\bar{x}	s^2	s	C.V.	t
60 minutos	12,537	3,278	1,811	14,442	0,017
120 minutos	12,529	3,256	1,804	14,402	

TABELA 9 - Teste t para verificar se entre os grupos testemunhas (I e II) e cirurgia simulada (III e IV), houve estatisticamente diferenças nas médias dos Índices B-MA referentes a fígado, aos 60 minutos

Grupo	\bar{x}	s^2	s	C.V.	t
I e II	12,858	3,212	1,792	13,939	0,172
III e IV	13,001	3,657	1,912	14,709	

TABELA 10 - Teste t para verificar se entre os grupos testemunhas (I e II) e sialoadectomizados (V e VI), houve estatisticamente diferenças nas medidas dos índices B-MA referentes a fígado, aos 60 minutos

Grupo	\bar{x}	s^2	s	C.V.	t
I e II	12,858	3,212	1,792	13,939	1,441
V e VI	11,754	2,660	1,631	13,876	

TABELA 11 - Teste t para verificar se entre os cirurgicamente simulados (III e IV) e sialoadenectomizados (V e VI), houve estatisticamente diferenças nas médias dos índices B-MA referente a fígados, aos 60 minutos

Grupo	\bar{x}	s^2	s	C.V.	t
III e IV	13,001	3,657	1,912	14,709	1,569
V e VI	11,754	2,660	1,631	13,876	

TABELA 12 - Teste t para verificar se entre as testemunhas (I e II) e cirurgicamente simulados (III e IV) houve estatisticamente diferenças nas médias dos índices B-MA referentes a fígado aos 120 minutos

Grupo	\bar{x}	s^2	s	C.V.	t
I e II	12,850	3,204	1,790	13,931	0,162
III e IV	12,984	3,617	1,902	14,647	

TABELA 13 - Teste t para verificar se entre os grupos testemunhas (I e II) e sialoadenectomizados (V e IV), houve estatisticamente diferenças nas médias dos índices B-MA referentes a fígado aos 120 minutos

Grupo	\bar{x}	s^2	s	C.V.	t
I e II	12,850	3,204	1,790	13,931	1,434
V e VI	11,752	2,656	1,630	13,866	

TABELA 14 - Teste t para verificar se entre os grupos cirurgicamente simulados (III e IV) e sialoadenectomizados (V e VI) houve estatisticamente diferenças nos Índices B-MA, referentes a fígado, aos 120 minutos

Grupo	\bar{x}	s^2	s	C.V.	t
III e IV	12,984	3,617	1,902	14,647	1,555
V e VI	11,752	2,656	1,630	13,866	

TABELA 15 - Teste t para verificar se a alimentação influenciou nas médias dos índices B-MA determinadas para línguas aos 60 minutos

Grupo	(I x II)	(III x IV)	(V x VI)
t	2,106	1,737	0,427

TABELA 16 - Teste t para verificar se a alimentação influenciou nas médias dos índices B-MA, determinadas para línguas aos 120 minutos

Grupo	(I x II)	(III x IV)	(V x VI)
t	2,127	1,754	0,398

TABELA 17 - Teste t para verificar se o tempo influenciou nas médias dos índices B-MA determinados aos 60 e 120 minutos, referentes a língua e relativas a todos os tratamentos

Grupo	I	II	III	IV	V	VI
t	0,007	0,022	0,002	0,018	0,010	0,017

TABELA 18 - Teste t para verificar se entre todos os tratamentos, o tempo influiu, nas médias dos índices B-MA determinadas nas línguas, aos 60 e 120 minutos

Tempo	\bar{x}	s^2	s	C.V.	t
60 minutos	5,992	0,548	0,740	12,356	0,000
120 minutos	5,992	0,551	0,742	12,390	

TABELA 19 - Teste t para verificar se entre as testemunhas (I e II) e cirurgicamente simulados (III e IV) houve diferenças estatisticamente comprovadas, nas médias dos índices B-MA encontradas em línguas, aos 60 minutos

Grupo	\bar{x}	s^2	s	C.V.	t
I e II	5,900	0,782	0,884	14,986	0,993
III e IV	6,267	0,585	0,765	12,203	

TABELA 20 - Teste t para verificar se entre as testemunhas (I e II) e sialoadenectomizados (V e VI), houve diferenças estatisticamente comprovadas nas médias dos índices B-MA para línguas aos 60 minutos

Grupo	\bar{x}	s^2	s	C.V.	t
I e II	5,900	0,782	0,884	14,986	0,277
V e VI	5,810	0,270	0,519	8,942	

TABELA 21 - Teste t para verificar se entre os tratamentos cirurgicamente simulados (III e IV) e sialoadenectomizados (V e VI), houve diferenças estatisticamente comprovadas, para as médias dos índices B-MA, referentes a línguas e aos 60 minutos

Grupo	\bar{x}	s^2	s	C.V.	t
III e IV	6,267	0,585	0,765	12,203	1,563
V e VI	5,810	0,270	0,519	8,942	

TABELA 22 - Teste t para verificar se entre os tratamentos testemunhas (I e II) e cirurgicamente simulados (III e IV), houve diferenças estatisticamente comprovadas, para as médias dos índices B-MA, referentes às línguas e aos 120 minutos

Grupo	\bar{x}	s^2	s	C.V.	t
I e II	5,902	0,790	0,889	15,063	0,970
III e IV	6,262	0,587	0,766	12,233	

TABELA 23 - Teste t para verificar se entre os tratamentos testemunhas (I e II) e sialoadenectomizados (V e VI), houve diferenças estatisticamente comprovadas, para as médias dos índices B-MA, referentes a línguas e aos 120 minutos

Grupo	\bar{x}	s^2	s	C.V.	t
I e II	5,902	0,790	0,889	15,063	0,279
V e VI	5,811	0,272	0,521	8,975	

TABELA 24 - Teste t para verificar se entre os grupos cirurgicamente simulados (III e IV) e sialoadenectomizados (V e VI), houve diferenças estatisticamente comprovadas, para as médias dos índices B-MA, referentes à língua, e aos 120 minutos

Grupo	\bar{x}	s^2	s	C.V.	t
III e IV	6,262	0,587	0,766	12,233	1,539
V e VI	5,811	0,272	0,521	8,975	

TABELA 25 - Teste t para comparar as médias dos índices B-MA nos tratamentos (I e II) referentes a fígado e língua, decorridos 60 minutos de respirometria

Tecido	\bar{x}	s^2	s	C.V.	t
Fígado	12,858	3,212	1,792	13,939	11,010 *
Língua	5,900	0,782	0,884	14,986	

TABELA 26 - Teste t para comparar as médias dos índices B-MA nos tratamentos (I e II) referentes à fígado e língua, decorridos 120 minutos de respirometria

Tecido	\bar{x}	s^2	s	C.V.	t
Fígado	12,850	3,204	1,790	13,931	10,994 *
Língua	5,902	0,790	0,889	13,063	

TABELA 27 - Teste t para comparar as médias dos índices B-MA nos tratamentos III e IV referentes à fígado e língua, decorridos 60 minutos de respirometria

Tecido	\bar{x}	s^2	s	C.V.	t
Fígado	13,001	3,657	1,912	14,709	10,339 *
Língua	6,267	0,585	0,765	12,203	

TABELA 28 - Teste t para comparar as médias dos índices B-MA nos tratamentos III e IV referentes a fígado e língua, decorridos 120 minutos de respirometria

Tecido	\bar{x}	s^2	s	C.V.	t
Fígado	12,984	3,617	1,902	14,647	10,367 *
Língua	6,262	0,587	0,766	12,233	

TABELA 29 - Teste t para comparar as médias dos índices B-MA nos tratamentos V e VI referentes a fígado e língua, decorridos 60 minutos de respirometria

Tecido	\bar{x}	s^2	s	C.V.	t
Fígado	11,754	2,660	1,631	13,876	10,981 *
Língua	5,810	0,270	0,519	8,942	

TABELA 30 - Teste t para comparar as médias dos índices B-MA nos tratamentos V e VI referentes a fígado e língua, decorridos 120 minutos de respirometria

Tecido	\bar{x}	s^2	s	C.V.	t
Fígado	11,752	2,656	1,630	13,866	10,979 *
Língua	5,811	0,272	0,521	8,975	

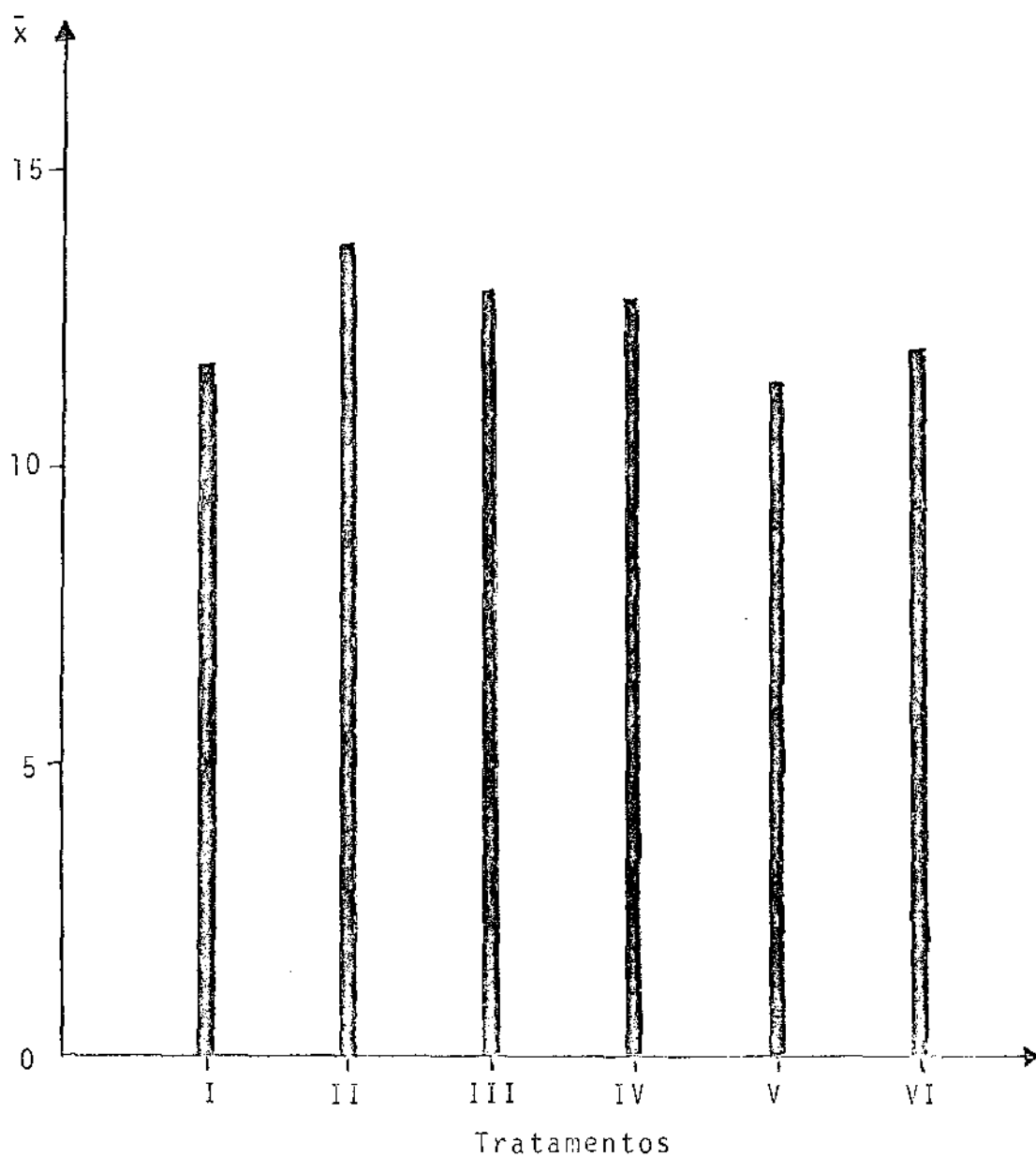


FIGURA 1 - Gráfico de barras relativo às médias dos índices B-MA após 60 minutos de respirometria nos diversos tratamentos relacionados a fígado.

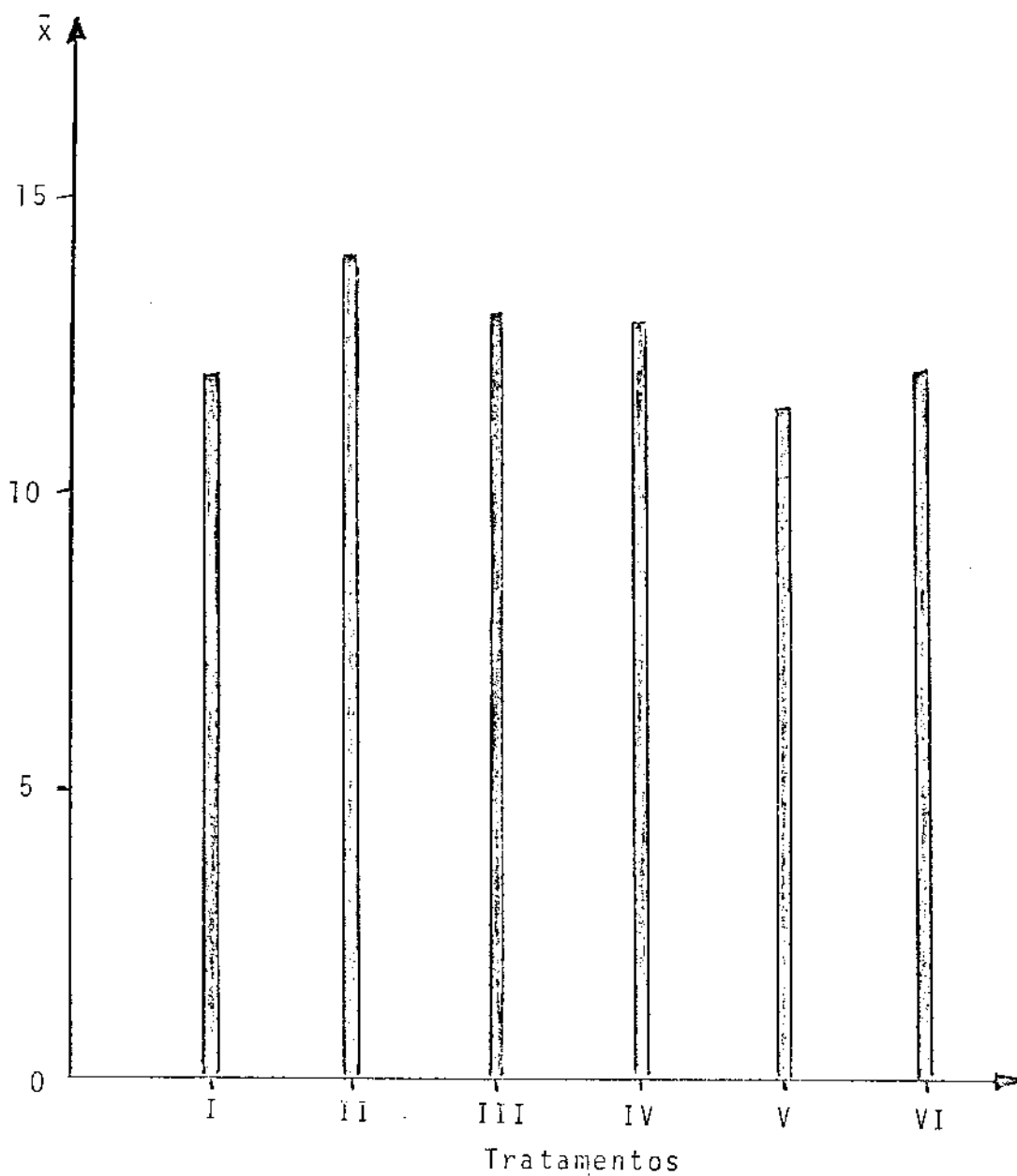


FIGURA 2 - Gráficos de barras relativo às médias dos índices B-MA após 120 minutos de respirometria nos diversos tratamentos relacionados à fígado

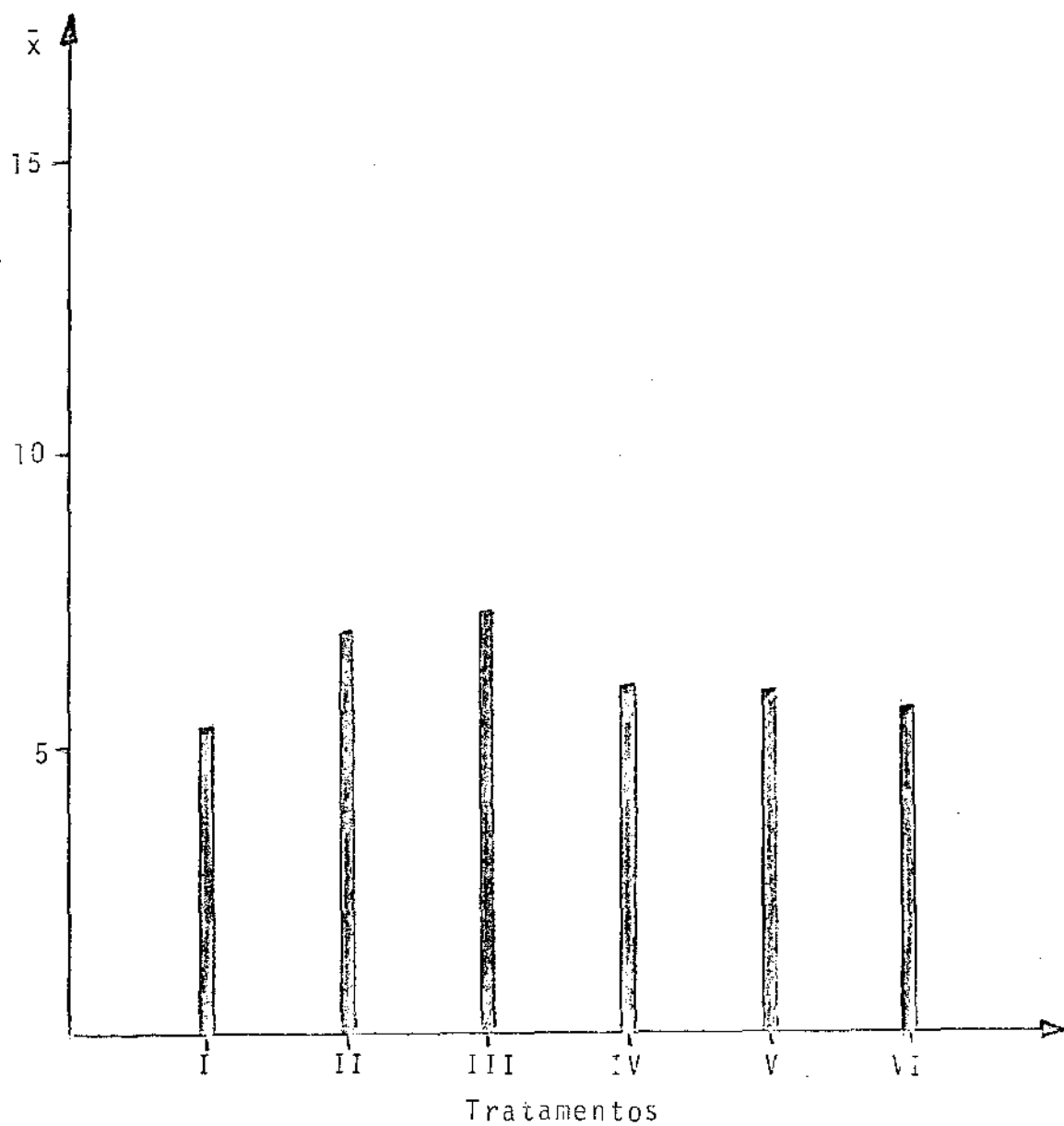


FIGURA 3 - Gráfico de barras relativo às médias dos índices B-MA após 60 minutos de respirometria nos diversos tratamentos relacionados à língua.

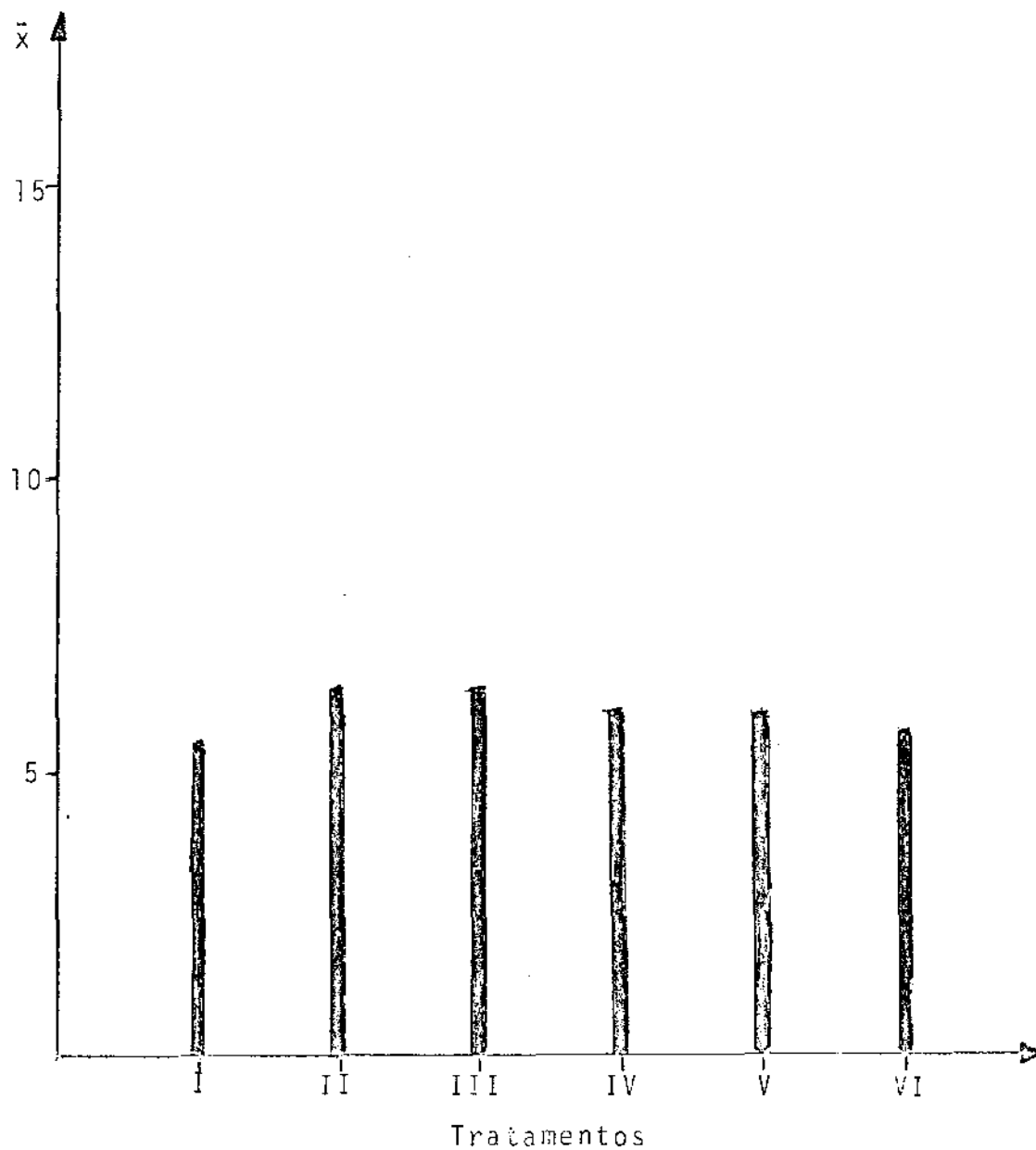


FIGURA 4 - Gráfico de barras relativo às médias dos índices B-MA após 120 minutos de respirometria nos diversos tratamentos relacionados à língua

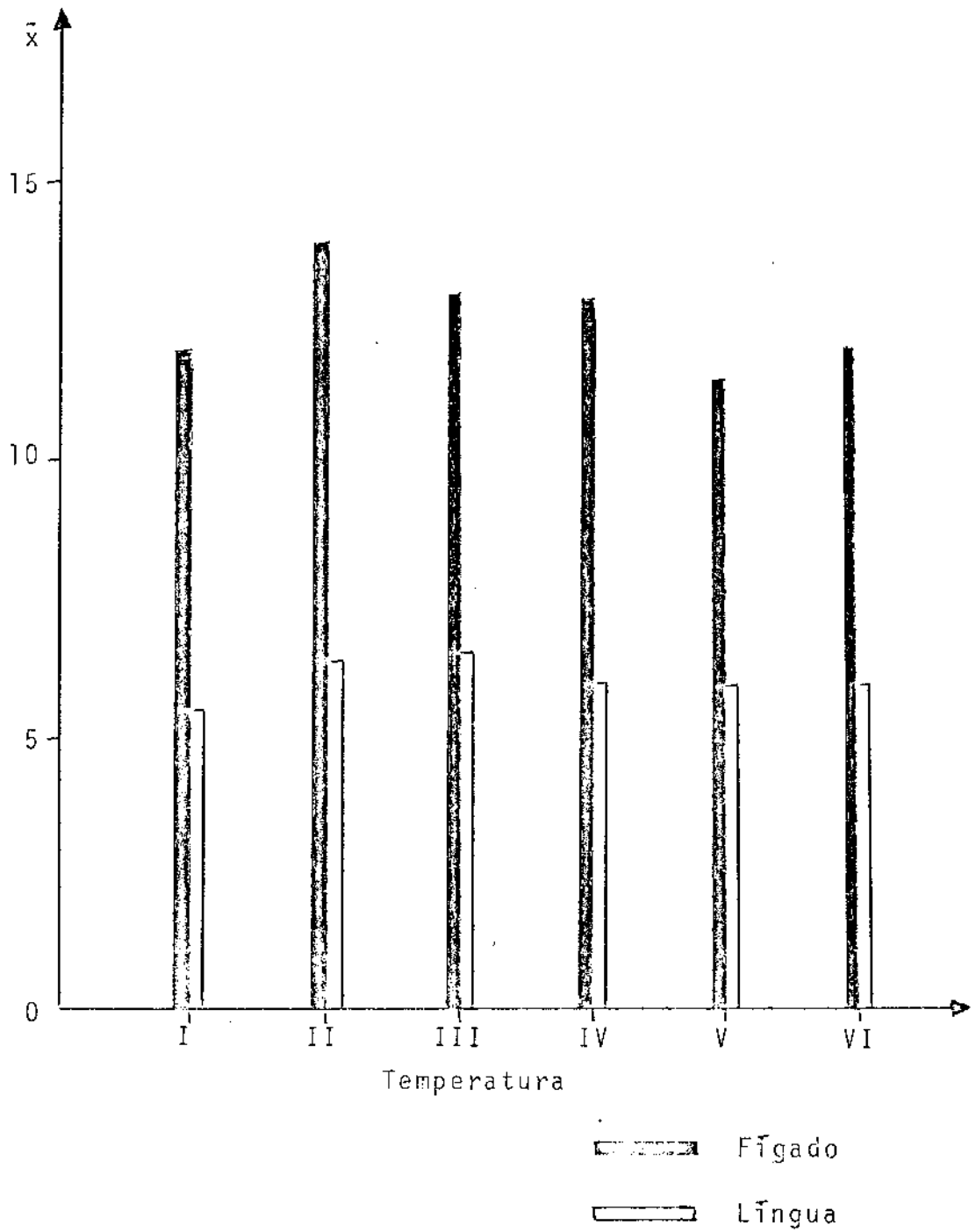


FIGURA 5 - Gráfico de barras, relativo às médias dos índices B-MA, para fígado e língua, decorridos 60 minutos de respirometria

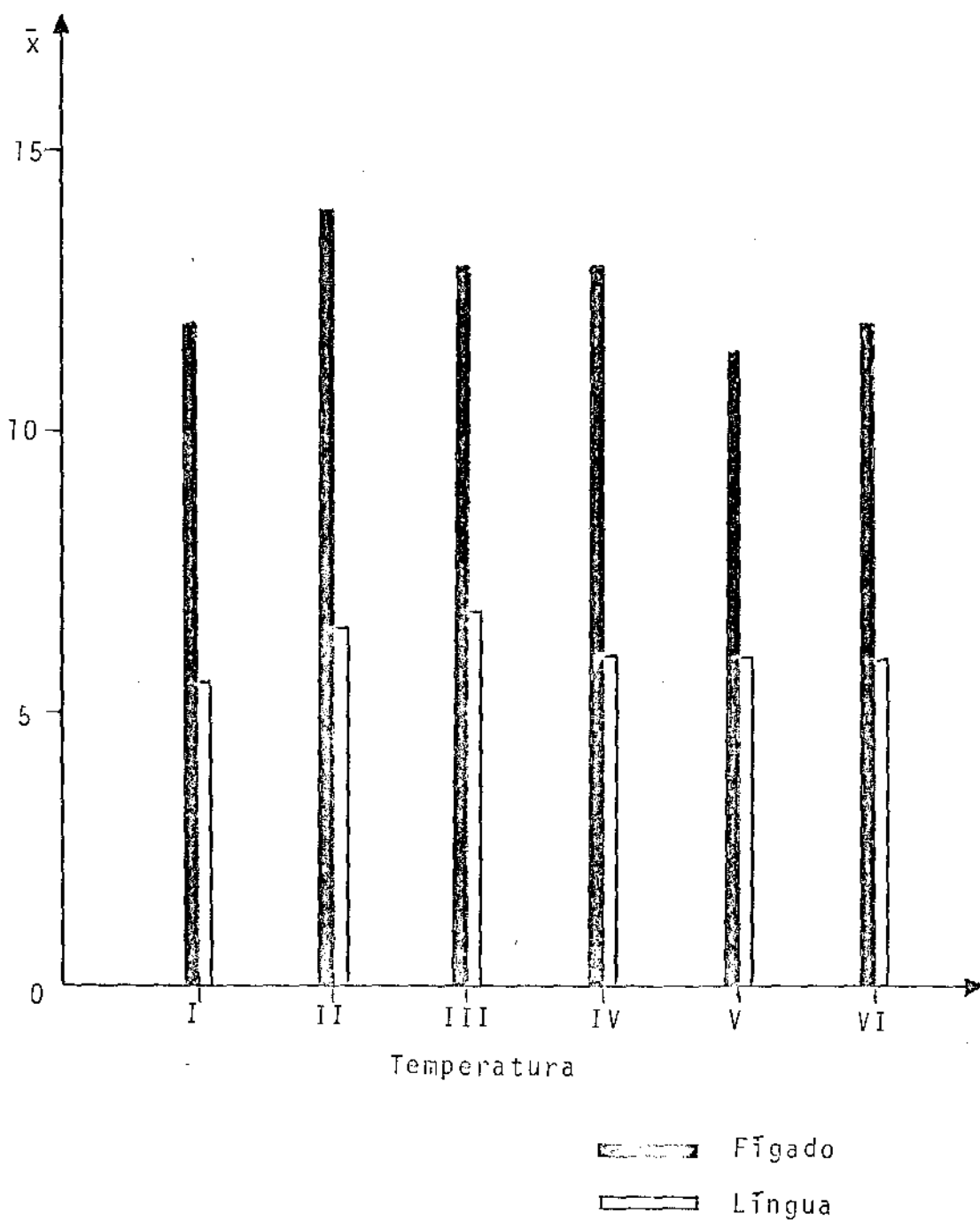


FIGURA 6 - Gráfico de barras, relativo às médias dos índices B-MA, para fígado e língua, decorridos 120 minutos de respirometria.

5 - DISCUSSÃO

5.1 - ANIMAIS E TECIDOS

Foram escolhidos ratos (*Rattus norvegicus albinus*, Wistar) porque para estes animais ainda não se tinham determinados índices B-MA para qualquer tipo de tecido.

Estes animais submetidos aos tratamentos já mencionados em "Material e Método" foram mantidos em gaiolas, sob rigorosa limpeza e troca a intervalos de 24 horas, dos constituintes de suas dietas. Não houve, ao longo dos 70 dias do trabalho experimental, nenhuma morte; e provavelmente nenhum tipo de infecção atacou os ratos mesmo porque apesar das cirurgias havidas, todos eles à exceção dos integrantes dos lotes de números 31 a 33 e 40 a 42 (Quadro I), ganharam peso, dentro de limites que variaram de 2 a 61 gramas.

Nos ratos "testemunhas" submetidos à dieta enriquecida com leite, observou-se sistemático aumento de peso. (Quadro I).

Conclui-se, então, que a admissão de leite à dieta ministrada aos animais foi medida de garantia, pois permitiu aos ratos submetidos a traumas cirúrgicos ingerirem proteínas carboidratos, lipídeos e vitaminas suplementarmente à da ração granulada que deveria lhes ser mais incômoda para in

gestão, devido à dor e à ausência de saliva que facilitaria a deglutição (casos dos tratamentos III, IV, V e VI).

Os tecidos eleitos para respirometria em Warburg foram língua e fígado, pelas razões de em relação à primeira não haver até o momento nenhum dado em relação a índice B-MA, ao passo que para fígado, já existem dados, porém, para cobaias (*Cavia porcellus*, L.) (2).

A técnica de fracionamento de tecidos foi aplicada imediatamente após o sacrifício dos animais, para evitar perda de atividade das fatias de tecidos pela decorrência de tempo excessivo, entre as suas obtenções e utilizações em Warburg. Ainda, usou-se para este mesmo objetivo, solução fisiológica gelada. Em relação à contaminação microbiológica pelo ar, este fator já fora cuidadosamente verificado por AYRES (1) ser de influência igual a zero.

Três fatores exigidos para a garantia maior da respirometria foram então obedecidos: a) espessura das fatias de tecidos dentro dos limites impostos pela fórmula de Warburg (5); b) curto espaço de tempo (15 minutos) entre sacrifício do animal e utilização em respirometria de Warburg e c) carga de tecidos dentro de limites exigidos pelas técnicas manométricas. Assim 1,0 ml para fígado e 0,5 ml para língua, dando, respectivamente somados à solução Krebs-Ringer-fosfato e à solução de KOH a 20% iguais a 3,20 ml e 2,70 ml, volumes estes que em relação às capacidades dos frascos de rea

ção, guardaram proporções adequadas conforme o sugerido por FISCHER *et alii* (5), uma vez que, o oxigênio utilizado pelas fatias de tecidos é aquele existente em dissolução física no meio de suspensão e há necessidade de volume e PO_2 da atmosfera interior dos frascos serem adequadas à necessidade de reposição deste gás em dissolução física ao meio de suspensão.

Os volumes de fatias de tecidos de línguas foram menores que os de fígado, em razão das diminutas dimensões deste órgão. Estas diferenças porém, não criaram dificuldades experimentais e nem de interpretação de resultados, porque estes volumes estavam dentro das exigências manométricas de Warburg e porque as massas secas e os teores de nitrogênio foram-lhes proporcionais.

5.2 - RESULTADOS OBTIDOS E ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os índices B-MA consistem em relação entre $QO_2^{(N)}$ e QO_2 . Deste modo os resultados obtidos estão inseridos nos Quadros de Números II a XIII que se completam com todos os dados fundamentais para possíveis revisões dos valores obtidos.

QO_2 , em sentido restrito, foi considerado como "a quantidade de oxigênio consumido, medida em microlitros, por miligrama de massa seca, e nos primeiros sessenta minu -

tos"; em sentido mais amplo, foi considerado aos 120 minutos.

$QO_2^{(N)}$, em sentido restrito foi considerado como "a quantidade de oxigênio consumido medida em microlitros, por miligrama de nitrogênio total, aos sessenta minutos", e em sentido maior, admitido também aos 120 minutos.

Estas ampliações de conceituação foram aplicadas, para se obter índices B-MA, além dos 60 minutos, também aos 120 minutos, com a finalidade principal de se saber se haveria diferenças significantes nas respirometrias até 2,0 horas, o que poderia indicar deterioração dos tecidos. Isto não aconteceu, tanto assim, que as variações havidas e analisadas estatisticamente, entre animais, tratamentos, dias dos experimentos e horas (60 e 120 minutos) da respirometria, foram sempre não significantes (Tabelas 7, 8, 17, 18, 19), dentro do mesmo tecido.

Os índices B-MA em trabalho anterior (2) mostraram ser específicos para tecidos, havendo inclusive similitude de valores para tecidos semelhantes (caso de fígado de *Sus scrofa domesticus*, Gray e de *Cavia porcellus*, L.).

Estes índices tem real importância, uma vez que, para a mesma atividade respiratória endôgena, variam em função dos teores de nitrogênio total dos tecidos. Isto leva à conclusão de que, estruturas com índices B-MA mais baixos apresentam compostos nitrogenados com menor atividade dinâmica,

e/ou maior função estrutural, e, aquelas com índice B-MA maiores revelam a presença maior de compostos nitrogenados com funções dinâmicas maiores se comparados aos componentes nitrogenados com funções estruturais. São contudo, índices relativos ; não absolutos.

No presente trabalho foram determinados índices B-MA aos 60 e 120 minutos de respirometria, para fígados, e línguas de ratos que se submeteram aos tratamentos de números I a VI conforme o exposto no capítulo de Material e Método.

Em vista dos trabalhos já citados que atribuíram ao parotin e ao S-parotin (10) influenciar no comportamento biológico de vários tecidos, os tratamentos V e VI foram caracterizados pela sialoadenectomia: assim, animais que sofreram ablações das glândulas salivares maiores, poderiam apresentar variações nas respirações endógenas, em Warburg, ao longo de 14 , 28 , 42 , 56 e 70 dias de experiência. Os resultados obtidos (Quadros II a XIII) submetidos à análise estatística (Tabelas 9 , 10 , 11 , 12 , 13 , 14 , 19 , 20 , 21 , 22, 23 e 24), através das médias dos índices B-MA para cada tratamento, e suas interações (exceção feita ao tipo de tecido), revelaram-se não significantes. Estes resultados conflitam, em termos, com os de outros autores (7 , 8 , 9 , 10 11 e 12), porém, como este trabalho verificou atividade "in vitro" após a ablação das glândulas salivares de fígado e língua, o aparen

te conflito poderá ser consequência das diferenças metodológicas aplicadas, nos diferentes trabalhos. O fato é que, em respirometria endógena, fígado e língua de ratos (*Rattus, norvegicus albinus*, Wistar) sob qualquer dos seis tratamentos aplicados, e ao longo de 14 a 70 dias não apresentaram variações significantes. Isto representa já, uma conclusão direta dos trabalhos experimentais desta tese.

As análises estatísticas envolvendo interações entre dieta (cuja variação de composição foi a inclusão de leite) e valores das médias dos índices B-MA revelaram resultados não significantes (Tabelas 5, 6, 15 e 16), tanto para fígado como para língua. Estes resultados provaram que, apesar da presença de leite, que seria mais facilmente deglutido principalmente pelos animais traumatizados cirurgicamente (tratamentos III, IV, V e VI) completou, porém não a ponto de criar diferenças fisiológicas, a ingestão e utilização de ração balanceada. É certo que, o já referido maior aumento de peso dos lotes de animais tratados suplementarmente com leite, ao longo dos 70 dias que duraram as experiências, seus tecidos (fígado e língua) em Warburg não apresentaram maior eficiência respiratória.

Os resultados envolvendo os índices B-MA nos dois momentos (60 e 120 minutos), interados com outras variáveis (tipo de tecido, tratamento e dieta) (Tabelas 7, 8, 17

e 18) foram estatisticamente não significantes.

Estes resultados permitiram concluir, que, todos os tecidos para todos os tratamentos, cujas determinações dos Índices B-MA, feitas aos 60 e 120 minutos de respiração em Warburg, estavam em plena atividade bioquímica (no que concerne ã respiração endôgena).

Quando foram analisados os resultados envolvendo os dois tipos de tecidos (fígado e língua), sob o ponto de vista estatístico, em todas as interações, as diferenças caracterizaram-se sempre altamente significantes, ao nível de 1%. Assim, os Índices B-MA encontrados para fígado (médias de triplicatas) representaram aproximadamente o dobro se comparados aos Índices B-MA para língua (igualmente médias de triplicatas). Estas altas significâncias valeram para as interações destes tecidos com momentos da respirometria (60 e 120 minutos) e com todos os tratamentos (Quadros de números II a XIII e Tabelas 25, 26, 27, 28, 29 e 30). Estes resultados, com valores dos Índices B-MA tão próximos dentro de cada tecido, (sob quaisquer tratamentos e com todas as interações analisadas) e tão distantes entre tecidos, provam a alta especificidade dos referidos Índices. Note-se a perfeita igualdade dos Índices B-MA para língua (médias) aos 60 e 120 minutos, igualmente comprovada através do teste "t", que pode ser visto na Tabela 18 e no Quadro XIII. Por outro lado, fígado tendo apresentado Índices B-MA bem elevados se comparados aos

de língua (aproximadamente 2:1) indicam que os componentes nitrogenados de fígado têm maiores atividades dinâmicas que os de língua, e que, os componentes nitrogenados de língua tem maiores funções estruturais que os de fígado. Estas assertivas poderão, contudo, em trabalho futuro e sequencial, ser melhores explicadas em seus conteúdos, desde que mitocôndrias isoladas destes tecidos sejam postas a respirar em Warburg, sob as mesmas condições experimentais do presente trabalho.

É interessante ressaltar que as médias dos índices B-MA, para fígado de ratos (*Rattus, norvegicus albinus*, Wistar) que no presente trabalho tiveram os valores de 12,54 e 12,53, para os tempos de 60 minutos e 120 minutos respectivamente, assemelharam-se com o valor desse índice, para o mesmo tecido de cobaio (*Cavia porcellus*, L.) (2), cuja média teve o valor de 12,79.

As médias dos índices B-MA que serviram de suporte para todo o raciocínio da discussão dos resultados obtidos e de suas respectivas análises estatísticas (variância, desvio padrão e coeficiente de variação) encontram-se nas Tabelas 1, 2, 3 e 4 e ilustrados nas Figuras 1, 2, 3 e 4, quando então pode-se verificar visualmente que, em média, dentro de cada tratamento as variações foram mínimas, e, entre tecidos (fígado e língua) as variações foram talmente significantes (Figuras 5 e 6). Em razão destas situações conclusi-

vas, é que variações dentro de tecidos revelaram-se insignifi_icantes e as entre tecidos altamente significantes, conforme os resultados obtidos através de análises estatísticas já dis_ucutidas neste mesmo capítulo.

6 - CONCLUSÕES

- a - Os tecidos (fígado e língua) de ratos (*Rattus norvegicus albinus*, Wistar) mantidos sob diferentes tratamentos, tes temunhas, cirurgicamente simulados e sioloadenectomizados, e incluindo dieta, ao respirarem endôgenamente em manômetros de Warburg, tanto aos 60 como aos 120 minutos de atividade, não apresentaram diferenças estatisticamente significantes em relação aos respectivos índices B-MA.
- b - Nas condições experimentais deste trabalho os possíveis efeitos do parotin, do S-parotin e de talvez outros princípios hormonais produzidos pelas glândulas salivares maiores, não foram evidenciados.
- c - Os índices B-MA para fígado de ratos em tempo de respirometria referentes a 60 e 120 minutos foram semelhantes em média àquele encontrado para o mesmo tecido, de cobaio (*Cavia porcellus*, L.), a saber, respectivamente iguais a: 12,54, 12,53 e 12,79.
- d - Os índices B-MA para língua de ratos foram em média iguais a: 5,99 aos 60 minutos e 5,99 aos 120 minutos de respirometria.

e - A especificidade destes índices conforme os diferentes tecidos, ficou bem definida: no presente estudo, para fígado os valores em média foram iguais a: 12,54 (60 minutos) ; 12,53 (120 minutos) , e para língua: 5,99 (60 minutos) ; 5,99 (120 minutos).

7 - RESUMO

O autor trabalhando com fígado e língua de ratos (*Rattus, norvegicus albinus*, Wistar) submetidos a diferentes tratamentos (dieta, cirurgicamente simulados, sialoadenectomizados e testemunhas), realizou ensaios respirométricos em Warburg, para a determinação de índices B-MA (relação entre $QO_2^{(N)}$ e QO_2).

As análises estatísticas dos resultados obtidos permitiram conclusões dentre as quais as principais foram: a) nas condições experimentais parotin e S-parotin não produziram efeitos como seria de se esperar, em face dos trabalhos de outros autores, que trabalharam sob outras condições experimentais e outra metodologia ; b) os índices B-MA são altamente específicos para cada tipo de tecido analisado ; c) as médias dos índices B-MA para fígado foram iguais a 12,54 aos 60 minutos e 12,53 aos 120 minutos e para língua 5,99 aos 60 minutos e 5,99 aos 120 minutos de respirometria.

Foram discutidos - sempre com o suporte da análise estatística - outros aspectos pertinentes ao conteúdo do trabalho, tais como os efeitos previsivelmente advindos das variações das dietas e demais características de seis tratamentos.

Treze quadros analíticos, trinta tabelas relativas às análises estatísticas e seis gráficos comparativos ilustram o trabalho desenvolvido.

8 - LITERATURA CITADA

- 1 - AYRES, G. C. de M. Determinação do Consumo de Oxigênio (QO_2 e $QO_2^{(N)}$) em Massêter, Cêrebro e Polpa Dental de Suino - *Sus scrofa domesticus*, Gray. Influência do Meio de Suspensão, do Teor de Oxigênio da Atmosfera e de Tetraciclina, sobre a Respiração "in vitro". Tese apresentada e aprovada para obtenção do título de Livre-docente em Bioquímica. Faculdade de Odontologia, UNICAMP, 1965.
- 2 - AYRES, G. C. de M. e BAUMGARTNER, M. L. Determinação dos Índices B-MA ($QO_2^{(N)} / QO_2$) em Tecidos de Cobaio *Ca-via porcellus*, L. Bol. Fac. Odont. Piracicaba, U. E.C., 50: 1-24, 1970.
- 3 - AYRES, G. C. de M. & NEDER, A. C. Estudo Comparativo de Respiração Endôgena de Tecido Cerebral e de Polpa Dental de Suínos, sob Diferentes Tensões Parciais de Oxigênio da Atmosfera Experimental. Aceito para publicação na Revista "Vida Odontológica", da Sociedade Portuguesa de Odontologia, 1981.
- 4 - DIXON, W. J. & MASSEY, J. F. V. Introduction to Statistical Analysis. 2th Ed. McGraw-Hill, New York, 1957.
- 5 - FISCHER, K. A. ; SCHUMACHER, E. R. ; ROBINSON, N. P. ; ALBERTS, D. D. & SHARBONDY, G. P. The Relation of Oxygen Consumption in Bovine Dental Pulp. J. Dent. Res., Baltimore, 36: 150-152, 1957.

- 6 - GOMES, F. P. Curso de Estatística Experimental. 2^a Ed. Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", da Universidade de São Paulo, 1963.
- 7 - GUIMARÃES, A. ; TEIXEIRA, D. ; VIZIOLI, M. R. e VIEIRA, S. Efeito da Parotidectomia sobre o Nível Glicêmico e o Teor de Glicogênio Hepático. Rev. Bras. de Pesq. Med. e Biol., 12(1): 53-61, 1979.
- 8 - GUIMARÃES, A. ; TEIXEIRA, D. ; VIZIOLI, M. R. ; EL GUINDY, M. M. e CURY, J. A. Effects of Salivary Gland Active Principle (Parotin) on Glycemic Level and Hepatic Glycogen Content in Alloxan-diabetic Rats. Archs Oral Biol., 25: 11-13, 1980.
- 9 - HAMBURGER, R. J. & SZENT-GYORGYI, A. V. The Influence of Oxygen Tension Upon the Biological Oxidation Process. Biochem. Z., Berlin, 157: 298-302, in: Chem. Abstr., 19: 3, 497.
- 10 - ITO, Y. Biochemical Studies on Salivary Gland Hormone. Endocrinol. Jap., 1: 1954.
- 11 - ITO, Y. Parotin: a Salivary Gland Hormone. Annals New York Academy Science, 85: 1960.
- 12 - LASER, H. A Critical Analysis of the Tissue Slice Method in Manometric Experiments - Effect of Variations in O₂ and CO₂ Tension. Biochem. J., Liverpool, Cambridge, 36: 319-335, 1942.

- 13 - TEIXEIRA, O. ; VIZIOLI, M. R. & GUIMARÃES, A. Effects of Sialoadenectomy and Parotin Hormone on the Development of Rat Sponge-Induced Granulation Tissue. Acta Anat., 94: 22-29, 1976.
- 14 - UMBREIT, W. W. ; BURRIS, R. H. & STAUFFER, J. F. Manometric Techniques and Tissue Metabolism. 2nd Ed. Burgess Publishing Co., Minneapolis, 227 p. 1951.
- 15 - VILLELA, G. G. ; BACILA, M. e TASTALDI, H. Técnicas e Experimentos de Bioquímica. Ed. Guanabara - Koogan , Rio de Janeiro, 552 p., 1973.

9 - ÍNDICE

	Pág.
1 - INTRODUÇÃO	1
2 - REVISÃO DE LITERATURA	3
3 - MATERIAL E MÉTODOS	7
4 - RESULTADOS OBTIDOS	14
5 - DISCUSSÃO	50
6 - CONCLUSÕES	59
7 - RESUMO	61
8 - LITERATURA CITADA	62
9 - ÍNDICE	65