

Influência da ovariectomia na atrofia e regeneração da glândula parótida: estudo histológico em ratas

Influence of ovariectomy on atrophy and regeneration of parotid gland: histological study in rats

Carlos Eduardo Dias COLOMBO

Doutorando – Programa de Pós-Graduação em Biopatologia Bucal – Faculdade de Odontologia de São José dos Campos – UNESP

Professor MSc. – Departamento de Odontologia – Faculdade de Ciências e Saúde – UNIVAP

Silvia Cristina Xavier FERREIRA

Graduanda – Faculdade de Odontologia de São José dos Campos – UNESP – Bolsista – PIBIC/CNPq

Juliana Campos JUNQUEIRA

Doutoranda – Programa de Pós-Graduação em Biopatologia Bucal – Faculdade de Odontologia de São José dos Campos – UNESP

Ivan BALDUCCI

Professor Assistente – Departamento de Odontologia Social e Clínica Infantil – Faculdade de Odontologia de São José dos Campos – UNESP

Yasmin Rodarte CARVALHO

Professora Adjunta – Departamento de Biociências e Diagnóstico Bucal – Faculdade de Odontologia de São José dos Campos – UNESP

RESUMO

A proposta deste trabalho foi estudar morfologicamente em ratas os efeitos da ovariectomia na atrofia e regeneração da parótida. Foram utilizadas 56 ratas divididas em dois grupos: grupo controle A (ratas não ovariectomizadas) e grupo experimental B (ratas ovariectomizadas). Aos três meses de idade, as ratas do grupo B foram ovariectomizadas e as do grupo A sofreram falsa-ovariectomia. A atrofia e regeneração da parótida foram estudadas em ambos os grupos, sendo a atrofia obtida através da ligadura do ducto excretor e a regeneração, através da desobstrução ductal. Os animais foram sacrificados um mês após falsa-ovariectomia ou ovariectomia e nos períodos de sete dias de atrofia glandular e de sete e 14 dias de regeneração glandular. As parótidas removidas cirurgicamente foram submetidas às colorações de HE e PAS. Após falsa-ovariectomia e ovariectomia, as ratas dos grupos A e B, respectivamente, apresentaram os mesmos aspectos morfológicos. Durante a atrofia glandular, houve redução do parênquima, assim como inflamação, fibrose e diminuição de grânulos de secreção nos grupos A e B. Durante a regeneração glandular, houve o restabelecimento do parênquima, redução da inflamação e da fibrose e aumento dos grânulos de secreção em ambos os grupos. Porém, aos sete dias de regeneração glandular, as parótidas das ratas do grupo B apresentaram menor grau de regeneração, o qual foi restabelecido aos 14 dias. Conclui-se, portanto, que a ovariectomia não altera morfologicamente a parótida normal e não influencia o processo de atrofia glandular, porém retarda o processo regenerativo glandular em sua fase inicial.

UNITERMOS

Glândula parótida, atrofia, regeneração; ovariectomia

INTRODUÇÃO

O estrógeno e a progesterona são hormônios sexuais femininos, produzidos principalmente nos ovários, sendo responsáveis pela manutenção das características femininas durante a vida⁸.

Os efeitos desses hormônios sobre as glândulas salivares é uma preocupação científica atual. Receptores para estrógeno e progesterona foram identificados em glândulas salivares normais, bem como em neoplasias que se originam a partir dessas glândulas^{5,9}, sugerindo a influência desses hor-

mônios na formação de tais lesões e a possível resposta das mesmas a uma terapia hormonal.

A ovariectomia é um procedimento cirúrgico utilizado para reduzir os níveis séricos de estrógeno e progesterona¹⁷. O modelo experimental de atrofia e regeneração das glândulas salivares, por sua vez, tem sido bastante utilizado para o estudo do potencial proliferativo de suas células^{2-4,11,13}, visto o grande número de neoplasias que se formam a partir dessas glândulas.

Diante do exposto, o objetivo deste trabalho foi estudar em ratas os efeitos da ovariectomia na atrofia e regeneração da glândula parótida, analisando as alterações morfológicas glandulares e buscando, através desse modelo experimental, obter informações úteis quanto à influência dos hormônios sexuais femininos sobre as glândulas salivares.

MATERIAIS E MÉTODOS

Foram utilizadas 56 ratas da raça Wistar, com três meses de idade e peso aproximado de 260g, sendo as mesmas divididas em dois grupos: grupo controle A (28 ratas não ovariectomizadas) e grupo experimental B (28 ratas ovariectomizadas). Este trabalho foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Odontologia de São José dos Campos – UNESP (004/2002 – PA/CEP).

Os ratos foram anestesiados com solução de cloridrato de 2-(2,6-xilidino)-5,6dihidro-4H-1,3-tiazina (Rompum – Bayer S.A. – Saúde Animal) + ketamina base (Francotar – Virbac do Brasil Ind. e Com. LTDA) na proporção de 1:0,5, administrando-se 0,1ml/100g por via intramuscular, obtendo-se os efeitos necessários para a realização de todos procedimentos cirúrgicos.

Os animais foram sacrificados em quatro diferentes períodos de tempo, sendo sete ratas do grupo A e sete ratas do grupo B sacrificadas por período. Os períodos de sacrifício dos animais foram: a) trinta dias após a falsa-ovariectomia (grupo A) ou ovariectomia (grupo B); b) sete dias após a ligadura do ducto excretor da parótida, para o estudo da atrofia glandular; c) sete dias após a desobstrução ductal, para o estudo da regeneração glandular nesse período; d) 14 dias após a desobstrução ductal, para o estudo da regeneração glandular nesse período. Após o sacrifício, a parótida direita de cada animal foi excisada.

Ovariectomia

As ratas do grupo B foram ovariectomizadas aos três meses de idade. Para tanto, após tricotomia da região abdominal lateral, a pele e a musculatura foram incisadas longitudinalmente, na região abaixo da última costela e próxima ao nível do rim. O ovário foi identificado e exposto, sendo realizada a hemostasia através da ligação da parte superior da trompa com fio de sutura. O ovário, a gordura circundante, o oviduto e uma pequena porção do útero foram excisados. A musculatura e a pele foram posteriormente suturadas. Esse procedimento cirúrgico foi realizado bilateralmente em cada animal.

Com a mesma idade, as ratas do grupo A tiveram somente seus ovários identificados e expostos cirurgicamente, sendo a seguir reposicionados para posterior sutura da musculatura e pele previamente excisadas. Essas ratas, portanto, foram submetidas à falsa-ovariectomia (*sham*).

Atrofia e regeneração da glândula parótida

Nas ratas submetidas à atrofia glandular, realizou-se a ligadura do ducto excretor 30 dias após a falsa-ovariectomia (grupo A) ou ovariectomia (grupo B). Para o estudo da regeneração glandular, o ducto excretor foi desobstruído sete dias após a ligadura ductal. A obstrução e desobstrução ductal foram realizadas segundo Siqueira et al.¹¹ (2002).

Pesagem dos animais

As ratas dos grupos A e B que foram sacrificadas aos 14 dias de regeneração glandular foram pesadas semanalmente a partir dos três meses de vida até o dia do sacrifício.

Processamento do material biológico

Todas as peças removidas foram fixadas em solução de formol a 10% e incluídas em blocos de parafina, para a posterior obtenção de cortes seriados com cerca de 3µm de espessura, os quais foram corados rotineiramente pela hematoxilina e eosina (HE) e pelo método do ácido periódico de Schiff (PAS).

Análise dos resultados

As colorações de HE e PAS foram analisadas qualitativamente através de microscópio de luz. A

estatística descritiva da variável peso corporal em função do tempo consistiu na obtenção do coeficiente de correlação linear de Pearson, equação da reta de regressão e representação gráfica com o diagrama de dispersão, sendo estatística inferencial realizada através da aplicação do teste de Análise de Variância (ANOVA) da regressão. O nível de significância adotado foi o valor convencional de 5%.

Os programas computacionais utilizados para análise estatística foram o STATISTICA (versão 5.0, StatSoft, Inc., 1995) e o STATISTIX (versão 7.0, Analytical Software, Inc., 2000).

RESULTADOS

Análise morfológica

Segue abaixo a descrição dos aspectos morfológicos das glândulas parótidas das ratas dos grupos A e B, observados por meio das colorações de HE e PAS.

Parótidas após falsa-ovariectomia (*sham*) ou ovariectomia das ratas

As glândulas das ratas dos grupos A e B apresentaram os mesmos aspectos morfológicos descritos a seguir.

HE – A glândula parótida era constituída por lóbulos delimitados por estroma de tecido conjun-

tivo fibroso, o qual exibia fibroblastos e vasos sanguíneos de pequeno calibre. O parênquima glandular apresentou unidades secretoras terminais de formato esférico, os ácinos serosos, e ductos intercalares, estriados e excretores (Figura 1a).

PAS – As células acinares apresentaram grânulos PAS-positivos em quantidade variada e distribuição ora homogênea no citoplasma, ora mais concentrada na porção apical. As células que revestiam os ductos intercalares exibiam grânulos PAS-positivos em seu pólo luminal. Algumas células de revestimento dos ductos estriados e excretores também apresentaram grânulos PAS-positivos no citoplasma (Figura 1b).

Atrofia glandular

As parótidas das ratas dos grupos A e B apresentaram os mesmos aspectos morfológicos descritos a seguir.

HE – As glândulas mostraram-se atrofiadas e seu parênquima era constituído basicamente por ductos dilatados, por vezes apresentando secreção e células inflamatórias mononucleares e polimorfonucleares em seu interior. Foram observados ácinos remanescentes, os quais estavam localizados principalmente na periferia dos lóbulos. Além disso, ácinos e, principalmente, ductos apresentaram vacuolização acentuada, sugestiva de degeneração hidrópica. No estroma, observaram-se moderado infiltrado inflamatório predominantemente mono-

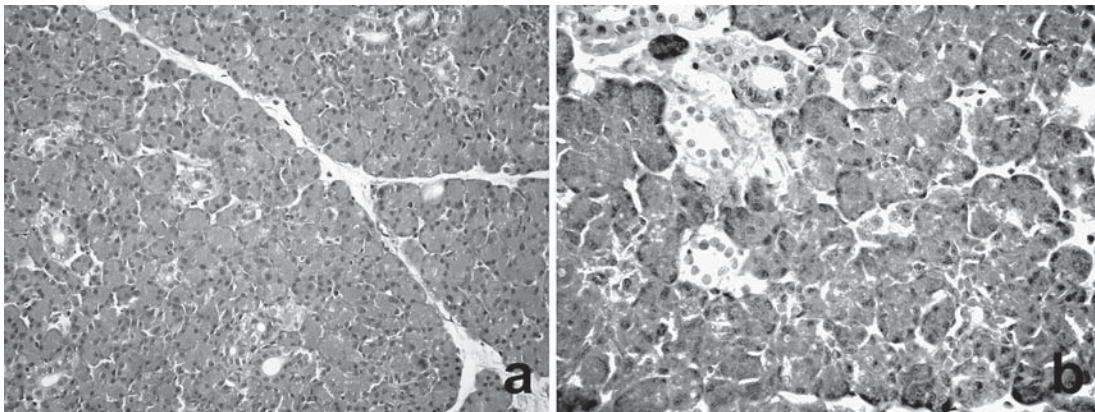


FIGURA 1 - Parótidas após ovariectomia (a) ou falsa-ovariectomia (b): a) lóbulos glandulares separados por septos conjuntivos (grupo B - HE, aumento original 200X); b) ácinos com abundantes grânulos de secreção PAS-positivos e ductos com pequena quantidade de grânulos (grupo A - PAS, aumento original 400X).

nuclear difuso, vasos sangüíneos dilatados e congestos, edema, focos de hemorragia, neoformação vascular e discreta fibrose intersticial, principalmente ao redor de ductos excretorios (Figura 2a).

PAS – Houve uma redução acentuada dos grânulos de secreção PAS-positivos nos ácinos remanescentes, assim como nos ductos (Figura 2b).

Regeneração glandular – 7 dias

HE – Nesse período experimental, seis ratas (85,7%) do grupo A e três ratas (42,9%) do grupo B apresentaram parótidas em regeneração. Por outro lado, quatro ratas do grupo B mostraram glândulas consideradas não regeneradas em sua maior extensão. Apenas uma rata do grupo A apresentou glândula não regenerada.

As parótidas consideradas em regeneração exibiram numerosos ácinos localizados em toda a extensão da maioria dos lóbulos. Esses ácinos eram constituídos por células volumosas, as quais apresentavam grânulos de secreção no citoplasma. Embora alguns lóbulos mostrassem arranjo denso dos elementos parenquimatosos, a maioria exibiu edema intersticial, tornando os ácinos e ductos mais separados. O calibre dos ductos apresentou-se próximo da normalidade. No estroma, observaram-se edema, numerosos vasos sangüíneos por vezes congestos, discreto infiltrado

inflamatório mononuclear difuso e fibrose intersticial menos evidente do que a encontrada na glândula atrofiada (Figura 3a).

As glândulas consideradas não regeneradas exibiram grande quantidade de ductos dilatados, por vezes com células inflamatórias em sua luz. Observaram-se poucos ácinos, presentes principalmente na periferia dos lóbulos. O estroma revelou moderado infiltrado inflamatório mononuclear difuso, vasos sangüíneos dilatados e congestos, edema e discreta fibrose intersticial (Figura 3b).

PAS – Nas parótidas em regeneração, as células acinares continham quantidade variada de grânulos de secreção PAS-positivos distribuídos homogeneamente no citoplasma. Diversos ductos intercalares apresentaram esses grânulos no pólo luminal de suas células. As parótidas não regeneradas apresentaram poucos ácinos, os quais exibiram escassos grânulos de secreção PAS-positivos.

Regeneração glandular – 14 dias

HE – Nesse período experimental, cinco ratas do grupo A e cinco ratas do grupo B apresentaram parótidas regeneradas. As demais ratas desses grupos mostraram glândulas consideradas não regeneradas em sua maior extensão, apresentando os aspectos morfológicos já descritos no período anterior.

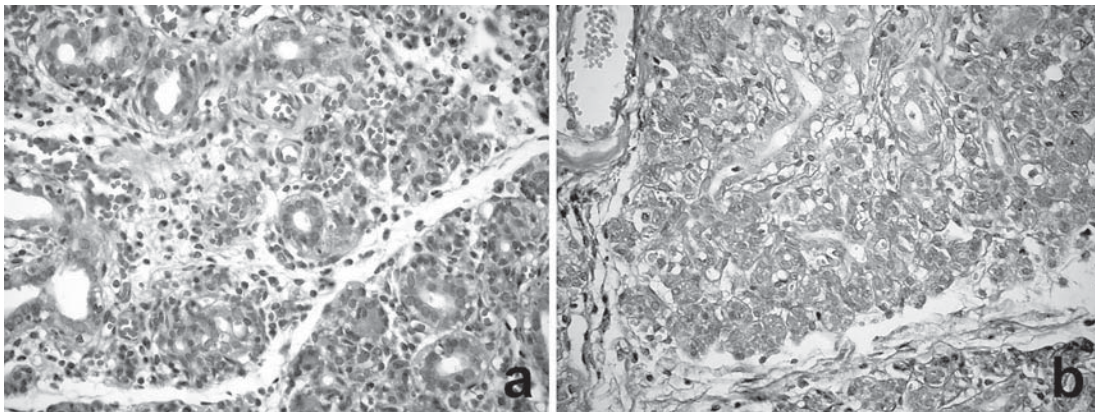


FIGURA 2 - Atrofia glandular: a) ductos dilatados e vacuolizados, ácinos residuais, vasos sangüíneos congestos e infiltrado inflamatório mononuclear (grupo A - HE, aumento original 400X); b) escassos grânulos de secreção PAS-positivos (grupo B - PAS, aumento original 400X).

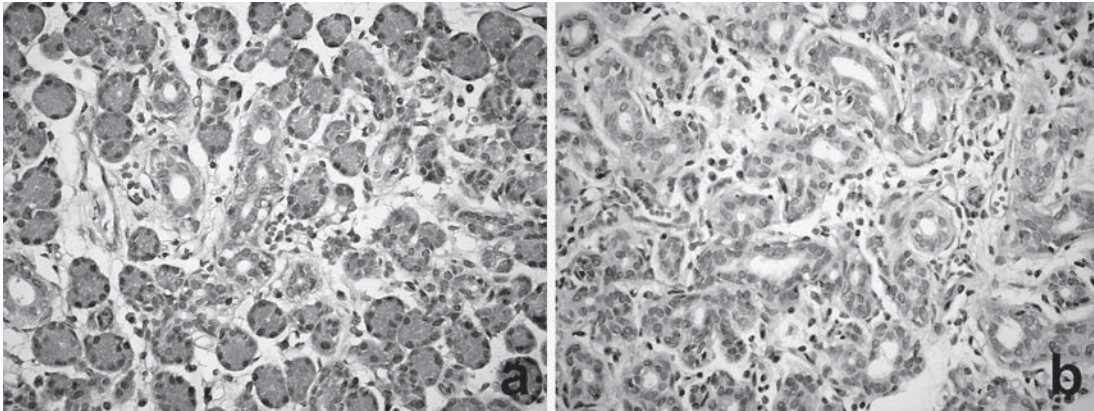


FIGURA 3 - Regeneração glandular - 7 dias: a) glândula em regeneração com ácinos volumosos e separados pelo edema remanescente (grupo A - HE, aumento original 400X); b) glândula não regenerada com ductos residuais e infiltrado inflamatório mononuclear (grupo B - HE, aumento original 400X).

As glândulas regeneradas exibiram lóbulos constituídos por ácinos volumosos, dispostos ora em arranjo denso, ora separados pelo edema remanescente. Esses ácinos, juntamente com os ductos, apresentaram aspecto de normalidade. O estroma de tecido conjuntivo formava septos fibrosos delicados entre os lóbulos, estando praticamente livre de sinais inflamatórios (Figura 4a).

PAS – As parótidas regeneradas exibiram células acinares com maior quantidade de grânulos de secreção PAS-positivos homogeneamente distribuídos no citoplasma. Tais grânulos foram também observados no pólo luminal de células de ductos intercalares (Figura 4b). As parótidas não regeneradas apresentaram poucos ácinos, os quais exibiram escassos grânulos de secreção PAS-positivos.

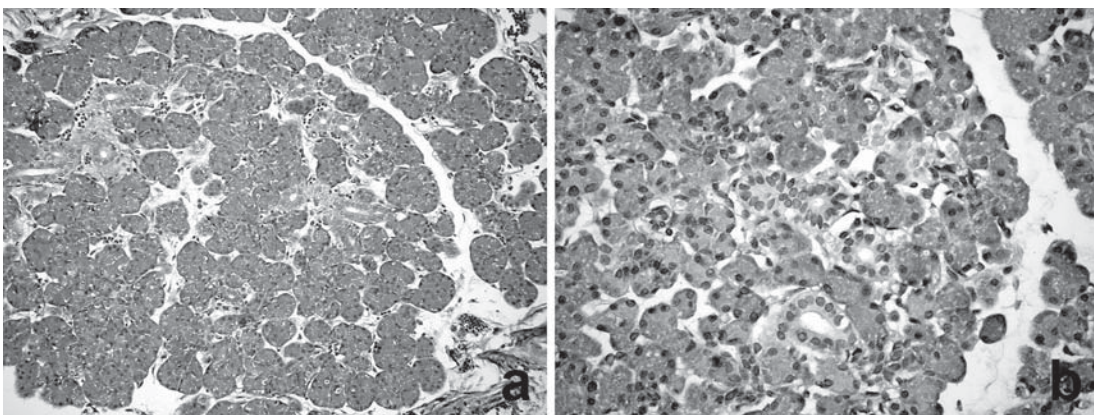


FIGURA 4 - Regeneração glandular - 14 dias – Glândulas regeneradas com: a) ácinos numerosos (grupo A - HE, aumento original 200X); b) ácinos e ductos com aspecto de normalidade e grande quantidade de grânulos de secreção PAS-positivos nos ácinos (grupo B - PAS, aumento original 400X).

Pesos corporais

A estatística dos dados de peso corporal em função do tempo está representada na Figura 5, que contém as retas de regressão para os grupos A e B.

As retas de regressão para os valores de peso corporal das ratas dos grupos A e B apresentam inclinação estatisticamente significativa ($p = 0,001$) e mostram que no tempo inicial as ratas de ambos os grupos apresentam pesos semelhantes. As variáveis peso corporal e tempo apresentam relacionamento positivo nos dois grupos estudados, ou seja, o aumento do tempo leva a um aumento do peso corporal tanto para as ratas que não sofreram a ovariectomia, quanto para as que sofreram. Os valores do coeficiente de correlação linear de Pearson nos grupos A e B são próximos ($R_A = 0,532$, $R_B = 0,612$) e indicam correlação moderada. O coeficiente angular da reta (taxa de variação) do grupo B é numericamente superior ao do grupo A, ou seja, para uma mesma variação de tempo, as ratas do grupo B apresentam numericamente maior ganho de peso corporal. No entanto, o teste estatístico, sob hipótese de igualdade entre os coeficientes angulares das retas, resulta num valor próximo de significância ($p = 0,0507$).

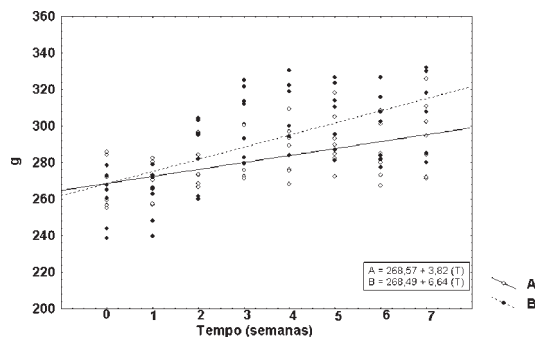


FIGURA 5 - Diagrama de dispersão e respectivas retas de regressão para os valores de peso corporal (g) das ratas dos grupos A e B em função do tempo. As retas de regressão apresentam inclinação estatisticamente significativa ($p = 0,001$). Os coeficientes angulares das retas quando comparados resultaram num valor próximo de significância ($p = 0,0507$).

DISCUSSÃO

Embora as glândulas salivares não sejam consideradas órgãos alvos clássicos dos hormônios sexuais femininos, a influência desses hormônios vem sendo estudada sobre as mesmas, bem como sobre as neoplasias delas originadas. No entanto, pouco ainda se sabe sobre essa relação.

Diante disso, a proposta desse trabalho foi estudar o comportamento da glândula parótida frente à ovariectomia e conseqüente diminuição dos níveis séricos de estrógeno e progesterona. Para tanto, utilizamos o modelo experimental de atrofia e regeneração glandulares.

No presente trabalho, as parótidas após ovariectomia das ratas apresentaram aspectos morfológicos semelhantes aos do controle. No entanto, White & Mudd¹⁶ (1975) verificaram a diminuição significativa da distribuição relativa dos ductos em glândulas submandibulares de ratas após ovariectomia.

Em nosso estudo, as parótidas atrofiadas das ratas após falsa-ovariectomia ou ovariectomia apresentaram os mesmos aspectos morfológicos. Portanto, a ovariectomia não afetou o processo de atrofia glandular. Por outro lado, Ishimaru et al.⁶ (1999), ao utilizar um modelo experimental de Síndrome de Sjögren em camundongos, verificaram que a deficiência de estrógeno acelerou o desenvolvimento de lesões em glândulas salivares, observando severas destruições teciduais e elevados índices de apoptose em células ductais.

Nossos resultados mostraram que a parótida atrofiada apresenta degeneração, atrofia e redução das estruturas acinares, bem como dilatação, degeneração e persistência de ductos. A presença de estruturas ductais ou ductiformes durante a atrofia glandular tem sido relatada pela maior parte dos estudos^{2-4,11-3,19}, sendo a dilatação ductal uma característica bastante mencionada^{4,11,12,19}.

Os trabalhos de atrofia glandular também relatam atrofia^{4,11,12,19} e degeneração dos ácinos^{4,11,12}, além de perda das células acinares^{2-4,11,13}.

Quanto à presença de grânulos de secreção durante a atrofia glandular, verificamos através da coloração de PAS que houve uma redução desses grânulos nos ácinos remanescentes, assim como nos ductos, concordando com os resultados de Colombo⁴ (2001) e Siqueira et al.¹¹ (2002).

Ao estudarmos a reparação glandular, verificamos que as parótidas das ratas que sofreram ovari-

ectomia apresentaram menor grau de regeneração após sete dias de desobstrução ductal. Tal grau, no entanto, foi restabelecido aos 14 dias. Portanto, a ovariectomia retardou o processo regenerativo glandular em seu período inicial.

A importância do estrógeno e da progesterona na regeneração glandular foi também estudada por White & Mudd¹⁶ (1975). Esses autores observaram que tais hormônios restauraram a arquitetura normal glandular em ratas que sofreram ovariectomia. Ishimaru et al.⁶ (1999) verificaram que a administração de estrógeno proporcionou a reparação de lesões glandulares induzidas num modelo experimental de Síndrome de Sjögren, acompanhado de ovariectomia em camundongos. O efeito da reposição hormonal sobre outros tipos de tecidos foi também estudado em ratas pós-ovariectomia^{1,18}. Ashcroft et al.¹ (1997) verificaram que a ovariectomia prejudica a reparação de feridas cutâneas, sendo a mesma favorecida pela aplicação tópica de estrógeno. Yasuoka et al.¹⁸ (2000), por sua vez, mostraram que a ovariectomia modifica histomorfometricamente os tecidos da articulação temporomandibular (ATM), sendo que a posterior administração de estrógeno aos animais restaura a maior parte desses efeitos, exercendo importante papel na remodelação dessa articulação.

No presente trabalho, observamos que, durante a regeneração glandular, houve aumento gradativo da quantidade e volume dos ácinos, redução da dilatação ductal e diminuição na incidência de vacuolização nas células acinares e ductais, sendo que a parótida apresentou aspecto próximo da normalidade após 14 dias de regeneração.

O aumento da população de células acinares durante a regeneração glandular foi demonstrado nos trabalhos de Burford-Mason et al.² (1993), Takahashi et al.¹³ (1998) e Colombo⁴ (2001).

Através da coloração de PAS, observamos que, durante a regeneração glandular, houve um aumento dos grânulos de secreção nas células acinares, concordando com os resultados de Colombo⁴ (2001) e Siqueira et al.¹¹ (2002).

Em nosso estudo, as glândulas consideradas não regeneradas sete dias após a desobstrução ductal exibiram escassos grânulos de secreção PAS-positivos, o que provavelmente implicaria em diminuição do fluxo salivar. Como as ratas ovariectomizadas apresentaram menor grau de regeneração glandular nesse período, provavelmente a ovariectomia tenha levado a uma diminuição mais acentu-

ada do fluxo salivar. Laine & Leimola-Virtanen⁷ (1996) estudaram a influência hormonal sobre o fluxo salivar, verificando que a reposição hormonal aumenta esse fluxo em mulheres peri e pós-menopausa.

Outra forma de se estudar a influência dos hormônios sexuais femininos sobre as glândulas salivares é avaliar a presença de receptores para esses hormônios nas mesmas, bem como nas neoplasias que se originam a partir dessas glândulas.

O receptor para estrógeno foi identificado bioquimicamente nas glândulas parótidas e submandibulares⁵ e imuno-histoquimicamente em glândulas submandibulares¹⁰. O receptor para progesterona foi verificado imuno-histoquimicamente nas glândulas parótida^{9,14}, submandibular e sublingual⁹. Tais receptores foram encontrados basicamente no núcleo de células ductais^{9,10,14}.

A presença de receptores para estrógeno e progesterona em glândulas salivares nos leva a considerá-las como alvos dos hormônios sexuais femininos, juntamente com as glândulas mamárias, ovários e útero.

No presente trabalho, obtivemos também o peso corporal das ratas que foram sacrificadas aos 14 dias de regeneração glandular, passando, portanto, por todos os períodos do experimento. Observamos que as ratas ovariectomizadas apresentaram numericamente maior ganho de peso quando comparadas com as ratas não ovariectomizadas. Wattanapernpool et al.¹⁵ (2000) verificaram também em ratas ovariectomizadas aumento do peso corporal, sendo que o mesmo ocorre devido a uma maior ingestão de alimentos e não por causa da diminuição do metabolismo. Abordando outros estudos, esses autores sugeriram que o ganho de peso verificado na ausência do estrógeno poderia ser causado não só por uma maior alimentação, mas também pela diminuição da atividade locomotora.

CONCLUSÕES

Diante dos resultados obtidos, conclui-se que em ratas:

- a) a ovariectomia não altera morfológicamente a glândula parótida normal;
- b) a ovariectomia não influencia o processo de atrofia da glândula parótida, após ligadura do ducto excretor;
- c) a ovariectomia retarda a fase inicial do processo regenerativo da glândula parótida, após

desobstrução do ducto excretor, indicando a importância dos hormônios sexuais femininos nesse processo.

AGRADECIMENTOS

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo – FAPESP (02/02974-8) e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico – CNPq/PIBIC.

ABSTRACT

The purpose of this work was to study morphologically the effects of ovariectomy on atrophy and regeneration of parotid in rats. Fifty-six female rats were divided into 2 groups: control group A (not ovariectomized rats) and experimental group B (ovariectomized rats). At 3 months old, the rats in group B were ovariectomized and the rats of group A suffered sham-ovariectomy. The parotid atrophy and regeneration were studied in both groups. The atrophy was obtained through the excretory duct ligation and, the regeneration through ductal disobstruction. The animals were sacrificed 1 month after sham-ovariectomy or ovariectomy and in periods of 7 days of atrophy and 7 and 14 days of gland regeneration. The parotids were surgically removed and submitted to HE and PAS stains. After sham-ovariectomy and ovariectomy, the rats of groups A and B, respectively, presented the same aspects. During gland atrophy, there was reduction of parenchyma, as well as inflammation, fibrosis and decrease of secretory granules. During gland regeneration, there was recovery of parenchyma, reduction of inflammation and of fibrosis and increase of secretory granules in both groups. However, after 7 days of gland regeneration, the parotids of rats of group B presented smaller rate of regeneration. This rate was reestablished after 14 days. It was concluded, therefore, that the ovariectomy does not morphologically change the normal parotid and does not influence the process of gland atrophy. However, it delays the gland regenerative process in its initial phase.

UNITERMS

Parotid gland, atrophy, regeneration; ovariectomy.

REFERÊNCIAS

1. Ashcroft GS, Dodsworth J, Boxtel EV, Tarnuzzer RW, Horan MA, Schultz GS et al. Estrogen accelerates cutaneous wound healing associated with an increase in TGF-beta1 levels. *Nat Med* 1997 Nov.; 3 (11): 1209-15.
2. Burford-Mason AP, Cummins MM, Brown DH, Mackay AJ, Dardick I. Immunohistochemical analysis of the proliferative capacity of duct acinar cells during ligation-induced atrophy and subsequent regeneration of rat parotid gland. *J Oral Pathol* 1993 Nov.; 22 (10): 440-6.
3. Burgess KL, Dardick I, Cummins MM, Burford-Mason AP, Bassett R, Brown DH. Myoepithelial cells actively proliferate during atrophy of rat parotid gland. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 1996 Dec.; 82 (6): 674-80.
4. Colombo CED. Atrofia e regeneração da glândula parótida após ligadura do ducto excretor: estudo histológico, histoquímico e imuno-histoquímico em ratos. São José dos Campos; 2001. [Dissertação de Mestrado - Faculdade de Odontologia de São José dos Campos].
5. Dimery IW, Jones LA, Verjan RP, Raymond AK, Goepfert H, Hong WK. Estrogen receptors in normal salivary gland and salivary gland carcinoma. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg* 1987 Oct.; 113 (10): 1082-5.
6. Ishimaru N, Saegusa K, Yanagi K, Haneji N, Saito I, Hayashi Y. Estrogen deficiency accelerates autoimmune exocrinopathy in murine Sjögren's syndrome through fas-mediated apoptosis. *Am J Pathol* 1999 July; 155 (1): 173-81.
7. Laine M, Leimola-Virtanen R. Effect of hormone replacement therapy on salivary flow rate, buffer effect and pH on perimenopausal and postmenopausal women. *Arch Oral Biol* 1996 Jan.; 41 (1): 91-6.
8. McCance KL, Huether SE. *Pathophysiology – The biologic basis for disease in adults and children*. St. Louis: Mosby; 1998.
9. Ozono S, Onozuka M, Sato K, Ito Y. Immunohistochemical localization of estradiol, progesterone, and progesterone receptor in human salivary glands and salivary adenoid cystic carcinomas. *Cell Struct Funct* 1992 June; 17 (3): 169-75.
10. Ozono S, Sato K, Ito Y, Kubota N, Hayashi H, Kato H et al. Immunohistochemical evidence that tumors elicit the synthesis of estrogen receptors in the submandibular gland of female rats. *Experientia* 1995 Mar.; 51 (3): 220-2.
11. Siqueira TV, Colombo CED, Balducci I, Carvalho YR. Atrofia e regeneração da glândula parótida após ligadura do ducto excretor: estudo histológico e histoquímico em ratos. *Pós-Grad Rev Fac Odontol São José dos Campos* 2002 jan./abr.; 5 (1): 27-34.
12. Souza LB, Taga EM, Onofre MA, Taga R. Estudo esterológico da atrofia da glândula parótida do rato após ligadura do ducto excre-

- tor principal. Rev Odontol Univ São Paulo 1995 jan./mar.; 9 (1): 1-9.
13. Takahashi S, Schoch E, Walker NI. Origin of acinar cell regeneration after atrophy of the rat parotid induced by duct obstruction. Int J Exp Pathol 1998 Oct.; 79 (5): 293-301.
 14. Teymoortash, A.; Lippert, B.M.; Werner, J.A. Steroid hormone receptors in parotid gland cystadenolymphoma (Warthin's tumour). Clin Otolaryngol 2001 Oct.; 26 (5): 411-6.
 15. Wattanapernpool J, Riabroy T, Preawnim S. Estrogen supplement prevents the calcium hypersensitivity of cardiac myofilaments in ovariectomized rats. Life Sciences 2000; 66 (6): 533-43.
 16. White SC, Mudd BD. Hormonal regulation of submandibular salivary gland morphology and antigenicity in rats. Arch Oral Biol 1975 Dec.; 20 (12): 871-5.
 17. Wu S, Ruan Y, Zhu X, Lai W. Estrogen receptors and the activity of nitric oxide synthase in artery of female rats receiving hormone replacement therapy. Horm Res 2000; 53 (3): 144-7.
 18. Yasuoka T, Nakashima M, Okuda T, Tatematsu N. Effect of estrogen replacement on temporomandibular joint remodeling in ovariectomized rats. J Oral Maxillofac Surg 2000 Feb.; 58 (2): 189-96.
 19. Zaia AA, Almeida OP, Line SRP. Immunochemical analysis of laminin in duct-ligated submandibular glands of rats. J Oral Pathol Med 1997 Nov.; 26 (10): 451-3.

Recebido em 30/10/03

Aprovado em: 17/12/03

Yasmin Rodarte Carvalho
Av. Eng. Francisco José Longo, nº 777
Jd. São Dimas
São José dos Campos – SP
CEP 12245-000
yasmin@fosjc.unesp.br