

## Estudio morfológico e histoquímico de la membrana pelúcida del óvulo de ratas parotidectomizadas

Por los Dres.:

GILDO MATHEUS,<sup>14</sup> CELSO MARTINELLI.\*  
RONALDO MAIA MELHADO\*

Matheus, G. et al. *Estudio morfológico e histoquímico de la membrana pelúcida del óvulo de ratas parotidectomizadas*. Rev Cub Med 15: 1, 1976.

Se realiza un estudio para el que se utilizaron 40 ratas previamente testadas y comprobada su fertilidad, de una edad aproximada de 120 días. Se confeccionaron dos grupos: uno, compuesto por ratas a las que se les extirparon las glándulas parótidas (parotidectomizadas) después de ser anestesiadas con éter sulfúrico; el otro, compuesto por ratas que también fueron anestesiadas con el mismo anestésico, pero a las que sus glándulas se les mantuvieron expuestas y manipuladas con una pinza. Este estudio tuvo como finalidad analizar la morfología e histoquímica de la zona pelúcida del óvulo de ratas. Se describen los distintos aspectos del método utilizado para realizar dicho estudio, así como los resultados obtenidos en ambos grupos de animales.

### INTRODUCCION

Con el aislamiento (*Ogata* et al, 1944? y cristalización (*Ito y Mizutani*, 1952)\* de una sustancia proteica biológicamente activa, considerada como una "hormona salival" (oarotin), muchos trabajos han procurado relacionar las glándulas salivales con el mecanismo endocrinológico (*Katagiri e Hictashio*, 1940; *rawcett y Kirwood*, 1954; *Takizawa*, 1954; *Ito*, 1954; *Bixler, Muhler y Shafer*, 1955; *Ogata*, 1955; *Bixler, Webster y Muhler*, 1956; *Ito*, 1960; *Shafer y Muhler*, 1960; *Krikos*, 1966; *Melhado*, 1972).<sup>3-</sup>  
4,5,6,7,8,9,10,11,12,13

Recientemente, el estudio morfológico e histoquímico del tejido de granulación [*Rulli*, 1969]<sup>14</sup> y tejido óseo neoformado (*Matheus*, 1973)<sup>15</sup> en ratones salivariadenectomizados y

parotidectomizados ha demostrado que tales tejidos presentan mayor cantidad de ácido hialurónico que sus correspondientes controles.

Con respecto a la existencia de una interrelación entre glándulas salivales y aparato reproductor femenino, pocos son los trabajos encontrados en la literatura médica. Así, *Bixler, Webster y Muhler* (1957)<sup>16</sup> relatan que la desalivación (remoción quirúrgica de las glándulas salivales principales) de las ratas ocasiona atrofia, disminución del peso y alteraciones histológicas en el aparato reproductor de estos animales. *Afonski* (1958)<sup>17</sup> demostró que la extirpación de las glándulas salivales principales lleva a una nítida disminución de la capacidad de fecundación de ratas. *Suddinck* (1960)<sup>18</sup> sugirió que las glándulas salivales de los ratones tienen una sustancia que actúa en la

actividad normal de los órganos femeninos de reproducción, y *Arcieri* (1973),<sup>19</sup> observó disminución en el número de hijos en cada procreación, así como aumento del espacio de tiempo entre cada fecundación, en ratas parotidectomizadas y salivariadectomizadas.

Muchos son los autores (*Wislocki et al*, 1947; *Harter*, 1948; *Catchpole et al*, 1949; *Leblond*, 1950; *Deane*, 1952; *Bu no* y *Hekimian*, 1955; *Sasso*, 1961<sup>25-26</sup>) que han estudiado la membrana pelúcida del óvulo de ratas normales y han concluido que en su composición existe una asociación de mucopolisacáridos y mucoglicoproteínas.

Según *McClellan* y *Rowlands* (1942)<sup>27</sup> la hialuronidasa parece estar relacionada con los espermatozoides, y *Rowlands* (1944)<sup>28</sup> demostró que esa enzima aumenta el poder de fecundación de los espermatozoides.

*Leblond* (1950) sugirió la existencia de una íntima relación entre la permeabilidad del óvulo y la acción enzimática.

*Sasso* (1958) admitió la posibilidad de que el mecanismo de penetración del espermatozoide en el óvulo estaría relacionado con la digestión enzimática de la membrana pelúcida; y *Lobo* (1960) afirmó que es probable que las enzimas faciliten al espermatozoide penetrar la membrana pelúcida para llegar al espacio perivitelino.

Nuevamente *Sasso* (1961), estudiando histoquímicamente óvulos de algunos mamíferos, incluso de la rata, comprobó la existencia de ácido hialurónico asociado a un mucoopolisacárido neutro, en la membrana pelúcida.

De lo que hemos dicho, vemos que debido a la gran importancia del binomio ácido hialurónico-hialuronidasa en el fenómeno de la fecundación, siempre que ocurra una variación cualitativa

cuantitativa que afecte el referido binomio, deben probablemente ocurrir alteraciones en la capacidad de fertilización.

Como ya hemos demostrado aumento de ácido hialurónico en el tejido de granulación y tejido óseo en ratas parotidectomizadas, creemos en la posibilidad de que ese aumento pueda igualmente estar presente en la zona pelúcida del óvulo de ratas cuando se practica la extirpación de las glándulas parótidas.

#### MATERIAL Y METODO

En el presente estudio utilizamos 40 ratas previamente testadas y comprobadamente fértiles, con edad aproximada de 120 días que fueron divididas en dos grupos:

En el primer grupo (parotidectomizados), los animales después de anestesiados con éter sulfúrico, se les extirparon sus glándulas parótidas. Los animales del segundo grupo también fueron anestesiados con éter sulfúrico y sus glándulas parótidas fueron expuestas y manipuladas con una pinza anatómica.

Para que se recuperasen de la operación, los animales se quedaron durante 15 días en observación, después de lo cual fueron redistribuidos en 4 grupos de 10 animales, siendo 5 controles y 5 parotidectomizados. Tanto los animales controles como los parotidectomizados, tuvieron sus aparatos reproductores removidos por disección a los 30, 60, 90 y 120 días después de la remoción de las parótidas.

Las piezas inmediatamente después de extraídas, fueron fijadas en líquido de Gendre por 8 horas e incluidas en parafina. La microtomía fue realizada con 6 micras de espesor y los cortes, teñidos con hematoxilina-eosina, para el estudio histológico. Para el estudio histoquímico se utilizaron las siguientes reacciones y coloraciones: PAS según técnica de *McManus* [*Lison*, 1960];<sup>31</sup> reactivo de hierro coloidal de Hale; coloración con el azul Alcian pH 2,5; coloración con el azul de toluidina a 0,1% en solución amortiguadora fosfato-ácido cítrico (*Lillie*, 1954)<sup>12</sup> pH 3,0 y 7,0; hidrólisis ácida (*Quintarelli et al*, 1961)<sup>3</sup> se

guida de coloración por el azul de Alcian pH 2,5; tratamiento con alfa-amilasa, seguido de la reacción del PAS; tratamiento con hialuronidasa testicular 150 URT mi seguido de la coloración por el azul de Alcian pH 2,5; cromización (Lison, 1960),<sup>31</sup> seguida de coloración por azul de toluidina pH 7,0.

#### RESULTADOS

El estudio morfológico del óvulo de ratas parotidectomizadas no demostró ninguna alteración en cualquiera de los períodos analizados.

Los resultados histoquímicos serán presentados en cuadros con la siguiente codificación:

M	= metacromasia
B	= basofilia
D	= días
—	= negatividad de reacción o coloración
±	= reacción o coloración discreta
+	= reacción o coloración franca
++	= reacción o coloración fuerte
+++	= reacción o coloración intensa

#### DISCUSION

En los animales controles nuestros resultados demostraron que la zona pelúcida del óvulo de ratas está constituida por una asociación de mucopolisacándos y mucoglucoproteínas (figuras 1 y 3), lo que está en concordancia con las observaciones de Wislocki et al (1947),<sup>20</sup> Harter (1948),<sup>n</sup> Catchpote et al (1949),<sup>22</sup> Leblond (1950),<sup>23</sup> Deane (1952),<sup>24</sup> Buno y Hekimian (1955),<sup>25</sup> Rizzoli (1955)<sup>34</sup> y Sasso (1961).<sup>26</sup>

En los animales parotidectomizados, el análisis por el PAS demostró que la membrana pelúcida del óvulo está constituida por esa misma asociación (figuras 2 y 4). Aun cuando los cortes fueron tratados con amijasa, se observó mayor remoción de sustancias PAS positivas en los animales controles que en los parotidectomizados. Esto sugiere que las glándulas parótidas deben, por un mecanismo endocrinológico, tener relación con los estados de polimerización, agregación o

ambos, de las sustancias PAS positivas, ya que su extirpación hace que tales sustancias no sufran hidrólisis total por la amilasa.

Según las observaciones de Sasso (1961),<sup>26</sup> la zona pelúcida del óvulo de ratas contiene ácido hialurónico asociado a un mucopolisacárido neutro. Todavía, según este autor, el tratamiento preso de los cortes por la piocianina, seguido de la coloración con el azul de Alcian pH 2,5 demostró remoción del ácido hialurónico y persistencia de otra sustancia ácida no identificada. Nuestros resultados histoquímicos nos permiten no sólo coincidir con Sasso (1958 v 1961)<sup>29;26</sup> en cuanto a la presencia de ácido hialurónico asociado a un mucopolisacárido neutro en la zona pelúcida del óvulo de ratas (figuras 9, 11 y 13), sino que, basados en los resultados obtenidos con la hidrólisis ácida, y posterior coloración por el azul de Alcian pH 2,5 sugerimos que la sustancia ácida no identificada a que hace referencia Sasso (1961),<sup>20</sup> es el ácido siálico (figura 15). Nuestra interpretación es « debida al hecho de que, según QuintP relli et al (1961),<sup>33</sup> la coloración por pi azul de Alcian pH 2,5 sufre acentuada disminución después del tratamiento por la hidrólisis ácida.

Asimismo, datos acumulados sugieren que el mecanismo de penetración del espermatozoide en el óvulo está relacionado con la composición histoquímica de su membrana pelúcida. Así es que Sasso (1958)<sup>23</sup> admite que el espermatozoide penetra en el óvulo después de la despolimerización de la zona pelúcida por la hialuronidasa, y Rowlands (1944),<sup>28</sup> Tafel et al (1948P y Leblond (1950)<sup>23</sup> creen que no solamente la hialuronidasa, sino también los fluidos espermáticos actúan en el proceso de fecundación. La identificación de una sustancia ácida, todavía no descrita en la zona pelúcida del óvulo de ratas, coincide con la hipótesis (Rowlands, 1944; Tafel et al, 1948; Leblond, 1950; Lobo, 1960 y Sasso, 1961)<sup>25-35\_23\_30\_2,i</sup> de que los







CUADRO IV

RESULTADOS HISTOQUIMICOS OBTENIDOS AL NIVEL DEL CITOPLASMA DEL OVULO DE RATAS							
Reacciones	Controles			ANIMALES			Parotidectom
	PERIODOS						
	30 D	60 D	90 D	120 D	30 D	60 D	90 D
PAS	+++ (G)	+++ (G)	+++ (G)	+++ (G)	++ (G)	++ (G)	++ (G)
Amilasa PAS	±	±	±	±	+	+	+
Hierro coloidal de Hale	±	±	±	±	+	+	+
Azul de Alcian pH 2,5	—	—	—	—	—	—	—
Hialuronidasa azul de Alcian	—	—	—	—	—	—	—
Hidrólisis-ácida azul de Alcian	—	—	—	—	—	—	—
Azul de toluidina pH 3,0	± B	± B	± B	± B	± B	+ B	+ B
Azul de toluidina pH 7,0	+ B	+ B	++ B	+ B	+ B	++ B	++ B
Cromización azul de toluidina pH 7,0	++ B	++ B	++ B	++ B	++ M	++ M	++ M

espermatozoides deben tener otros elementos enzimáticos además de la hialuronidasa. Por lo tanto, basados en la identificación del ácido siálico en la zona pelúcida del óvulo de ratas, podemos admitir también la existencia de una enzima específica en el elemento fecundante, o sea, la sialidasa. Nos parece que en el mecanismo de la fecundación deben actuar, no solamente el binomio ácido hialurónico-hialuronidasa descrito por Sasso (1961),<sup>9</sup> sino también el binomio ácido siálico-sialidasa.

Además, cuando se comparan los resultados de la zona pelúcida del óvulo de las ratas controles y las parotidectomizadas, observamos que en estas últimas ocurre aumento de la cantidad de ácido hialurónico y de ácido siálico (figuras 10, 12, 14 y 16).

Estos hallazgos están de acuerdo con la teoría de Suddick (1960),<sup>15</sup> de que las glándulas salivales contienen una sustancia que actúa en los órganos femeninos de reproducción, y ese aumento de ácido hialurónico y ácido siálico en la membrana pelúcida del óvulo de las ratas parotidectomizadas quizás pueda explicar por qué, según Afonsky (1958)<sup>7</sup> y Arcieri (1973),<sup>1:1</sup> ocurre disminución de la capacidad de fecundación en ratas salivariadenectomizadas. Nuestros resultados sugieren que muy probablemente

el aumento de la cantidad de ácido hialurónico y ácido siálico, más el aumento de la polimerización, agregación o ambas, de las gluco, mucoproteínas o ambas, dificulta y, a veces, hace que sea imposible la penetración del espermatozoide en el óvulo, ya que la cantidad de hialuronidasa y sialidasa existentes en condiciones normales en el elemento fecundante, sería insuficiente para producir la despolimerización de una zona pelúcida con modificaciones del punto de vista cualitativo y cuantitativo.

Nos parece que las alteraciones de los binomios ácido hialurónico-hialuronidasa y ácido siálico-sialidasa, así como las modificaciones del estado de polimerización,

agregación o ambas, de las gluco, mucoproteínas o ambas, en la zona pelúcida del óvulo de las ratas parotidectomizadas, serían los factores responsables por la disminución del poder de fecundación de estos animales.

El aumento de ácido hialurónico en animales parotidectomizados ya ha sido demostrado en la sustancia fundamental del tejido de granulación (Rulli, 1969)<sup>14</sup> y en el tejido óseo neoformado (Matheus, 1973).<sup>1</sup>

Según este último autor, la extirpación de las glándulas parótidas ocasiona un aumento de los mucopolisacáridos ácidos que tienen aumentada su síntesis. Este mecanismo quizás explique por qué razón hay mayor proporción de ácido hialurónico y de ácido siálico en la zona pelúcida de las ratas parotidectomizadas.

La presencia de mucopolisacáridos neutros en el nivel de la zona pelúcida del óvulo de ratas, observada por la cromización azul de toluidina pH 7,0 y descrita por Sasso (1961),<sup>9</sup> y la ausencia de mucopolisacáridos ácidos sulfatados observada por la reacción con el azul de toluidina pH 3,0 (figura 17), ha sido confirmada en el presente trabajo (figuras 19 y 21), aunque tales sustancias no hayan sufrido ninguna alteración en los animales parotidectomizados (figuras 18, 20 y 22).

La intensa positividad, de la membrana externa de la zona pelúcida, a la reacción del PAS (figuras 1 y 3) y su negatividad a las demás reacciones, demuestra que ella se constituye solamente de gluco, mucoproteínas o ambas, y que la remoción de las glándulas parótidas no produce alteraciones de estas sustancias en este nivel. Asimismo, la membrana interna, además de la intensa positividad al PAS, ha revelado la presencia de grupos ácidos (figura 7) asociados a mucopolisacáridos ácidos carboxilos.

Con la remoción de las parótidas ocurrió aumento cuantitativo de los grupos ácidos (figura 8).

Ese aumento puede ser debido a que cuando se extirpan las parótidas ocurre una hipertrofia de las células beta del páncreas (*Takizawa*, 1954 y *Ogata*, 1955)<sup>8</sup> con probable hipersecreción de la insulina. Como esta hormona actúa en la biosíntesis de los MPA, su presencia, cuando es muy aumentada, puede haber ocasionado un aumento de los grupos acídicos en las ratas parotidectomizadas.

La presencia del glucógeno en el citoplasma del ovocito de las ratas ya ha sido relatado por *Wislocki et al* (1947)<sup>11</sup> y *Harter* (1948),<sup>11</sup> y quizás tenga relación con el fornecimiento de energía para el metabolismo de estas células. La disminución de este mucopolisacárido en los animales parotidectomizados (figura 4), asociada al aumento de gluco, mucoproteínas o ambas, grupos acídicos y mucopolisacáridos ácidos carboxilos, sugiere una alteración metabólica, probablemente desde el punto de vista activo; o sea, en las ratas parotidectomizadas el glucógeno habría sido utilizado de manera más intensa, con el objetivo de fornecer energía para el mayor metabolismo de las otras sustancias.

De nuestra exposición podemos observar que la extirpación de las glándulas parótidas modifica la composición de la membrana pelúcida del óvulo de ratas; y si fuese posible, la aplicación de los resultados observados en animales inferiores de manera directa, basados en el presente trabajo, quizás inclinaría a pensar que muchos casos de esterilidad femenina de etiología desconocida puedan ser la manifestación directa de alteraciones que ocurren en las glándulas salivales, ya que tales glándulas parecen tener una función endocrinológica y según *Suddlck* (1960)<sup>18</sup> ellas contienen una sustancia que actúa en la función normal de los órganos de reproducción. Todavía, como este asunto es muy complejo, otros trabajos deben ser realizados para que otras informaciones nos señalen más elementos sobre las implicaciones de la extirpación de estas

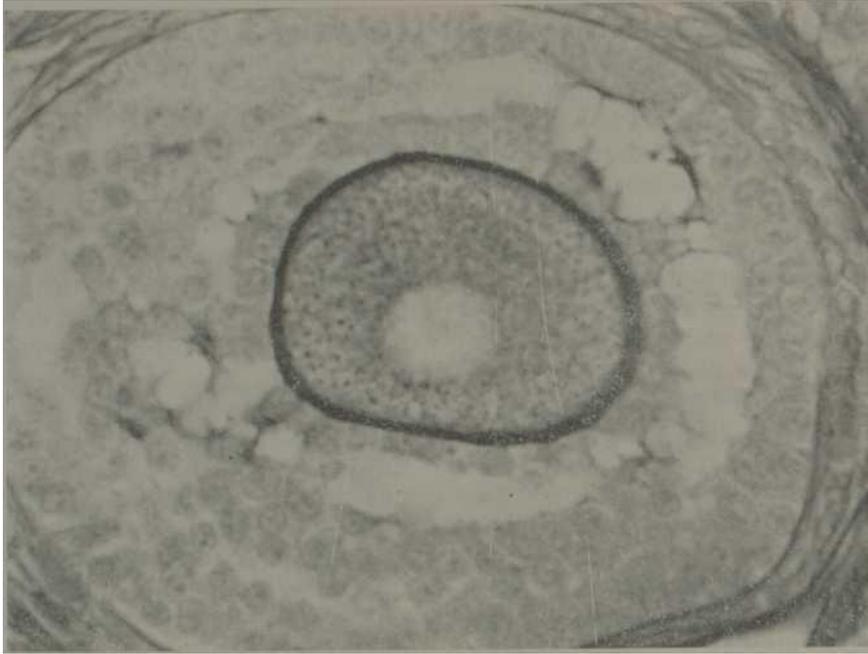
glándulas en el mecanismo de fertilización.

#### CONCLUSIONES

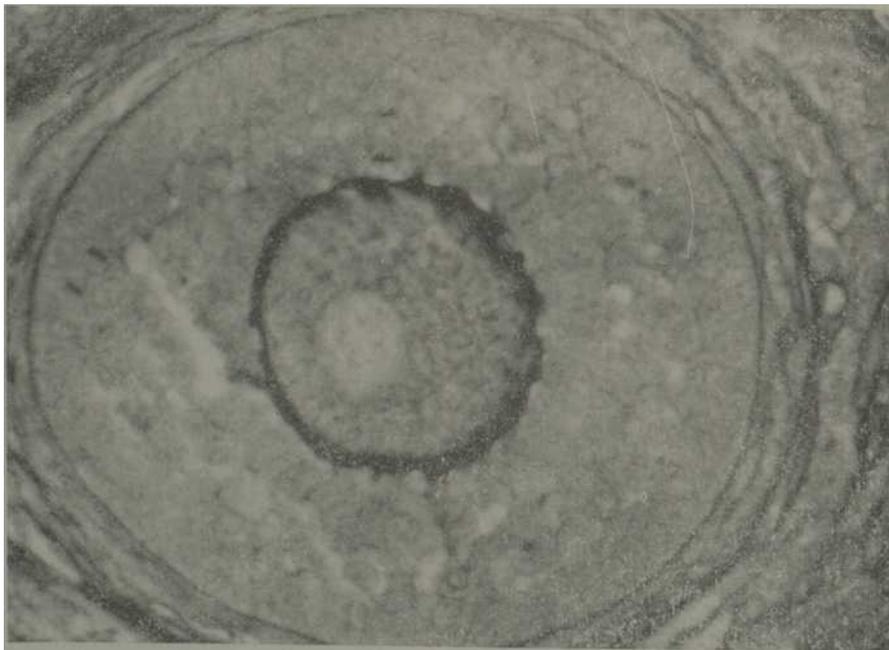
Para el estudio morfológico e histoquímico de la zona pelúcida del óvulo de ratas, fueron utilizados 40 animales. De éstos, 20 tuvieron las glándulas parótidas extirpadas quirúrgicamente, y los otros 20 tuvieron las parótidas expuestas y tocadas con una pinza anatómica.

Inmediatamente antes del sacrificio, todas las ratas tuvieron sus ovarios removidos a los 30, 60, 90 y 120 días post-quirúrgicos. Después de fijadas e incluidas las piezas fueron cortadas a 6 mieras; los cortes fueron teñidos con H.E. para el estudio morfológico. Para el estudio histoquímico fueron utilizadas reacciones para identificación de gluco, mucoproteínas o ambas, grupos acídicos, mucopolisacáridos ácidos carboxilos y neutros. También se realizaron tratamientos enzimáticos para glucógeno y ácido hialurónico. Los cortes fueron también tratados por la hidrólisis ácida, seguida de la coloración con el azul de Alcian pH 2,5, para demostración del ácido siálico.

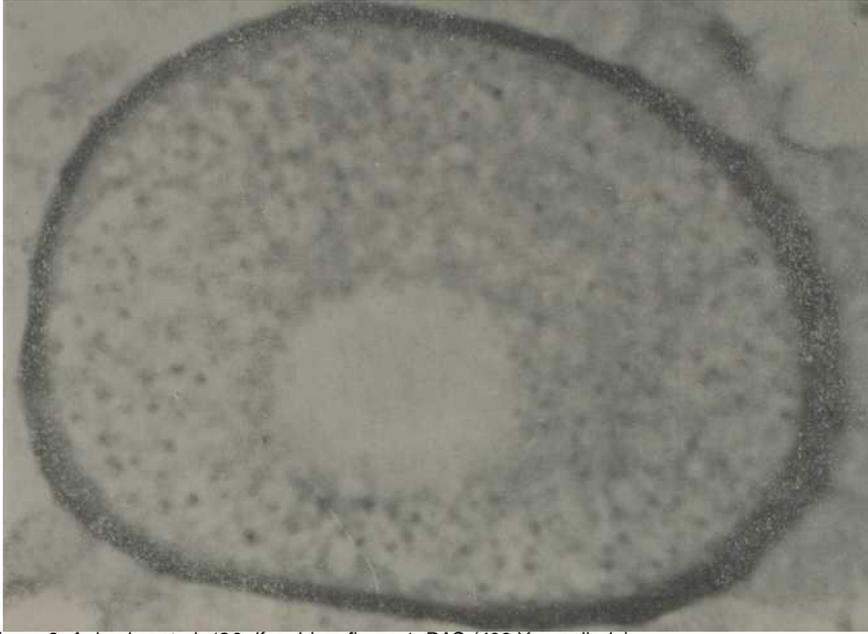
Se observó, que desde el punto de vista morfológico no hubo diferencias cuando fueron comparadas las zonas pelúcidas de los óvulos de ratas controles y parotidectomizadas, y desde el punto de vista histoquímico, quedó demostrado que la membrana pelúcida del óvulo de ratas contiene ácido siálico en su composición. Así es que en las condiciones experimentales del presente trabajo se demostró que la extirpación de las glándulas parótidas, en ratones, ocasionó aumento de la cantidad de ácido hialurónico y de ácido siálico en el nivel de la membrana interna de la zona pelúcida; aumento de los grupos acídicos en el nivel de la membrana interna de la zona pelúcida; disminución del glucógeno y aumento de las gluco, mucoproteínas o ambas, y de los grupos acídicos en el citoplasma de los ovocitos.



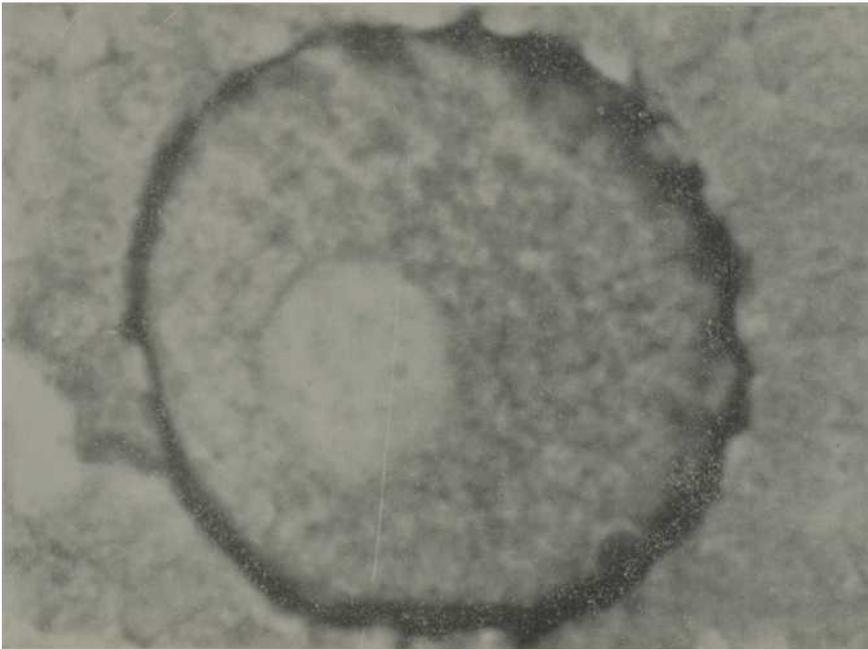
*Figura 1. Animal control, 120 días. Intensa positividad de la zona pelúcida, membranas interna y externa. Citoplasma del ovocito con granulaciones positivas. PAS (400 X).*



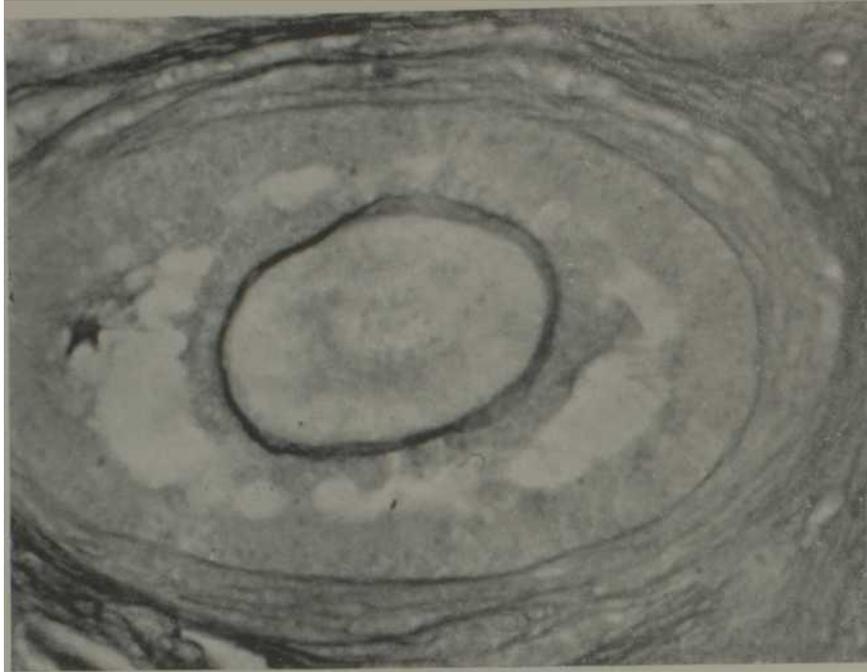
*Figura 2. Animal parotidectomizado, 120 días. Intensa positividad de la zona pelúcida, membranas interna y externa. Citoplasma del ovocito donde se observa disminución de las granulaciones positivas en relación a la figura 1. PAS (400 X).*



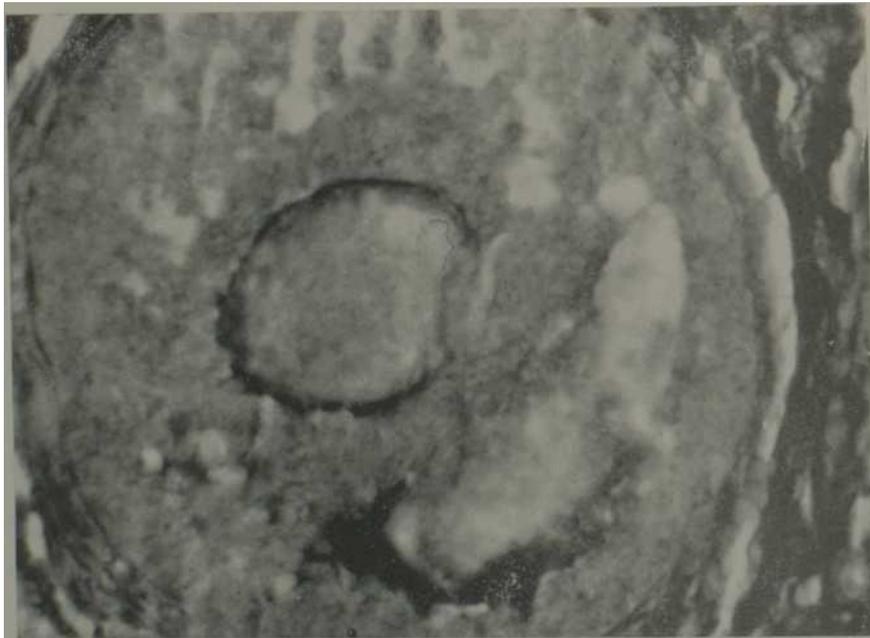
*Figuro 3. Animal control, 120 días. Idem figura 1. PAS (400 X, ampliada).*



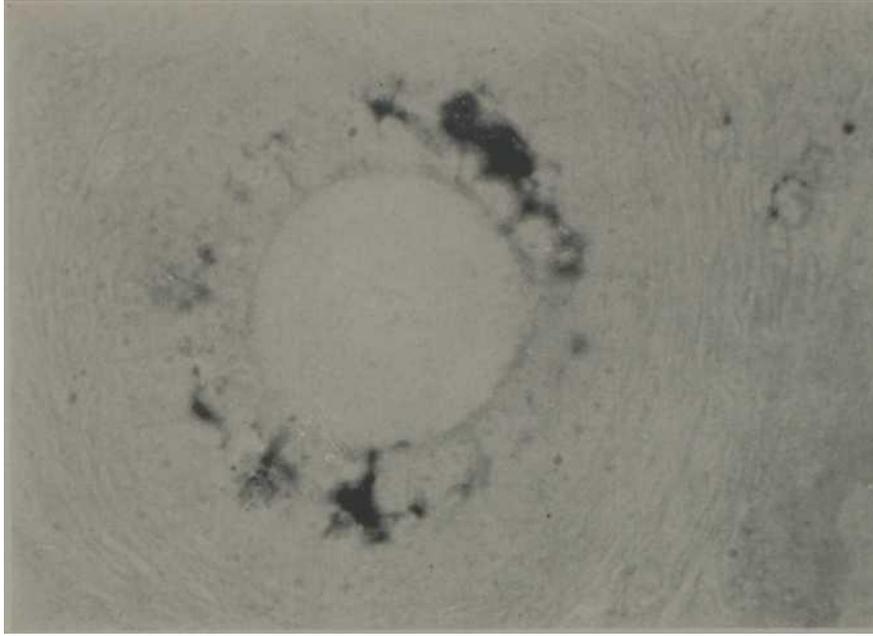
*Figura 4. Animal parotidectomizado, 120 dias. Idem figura 2. PAS (400 X, ampliada).*



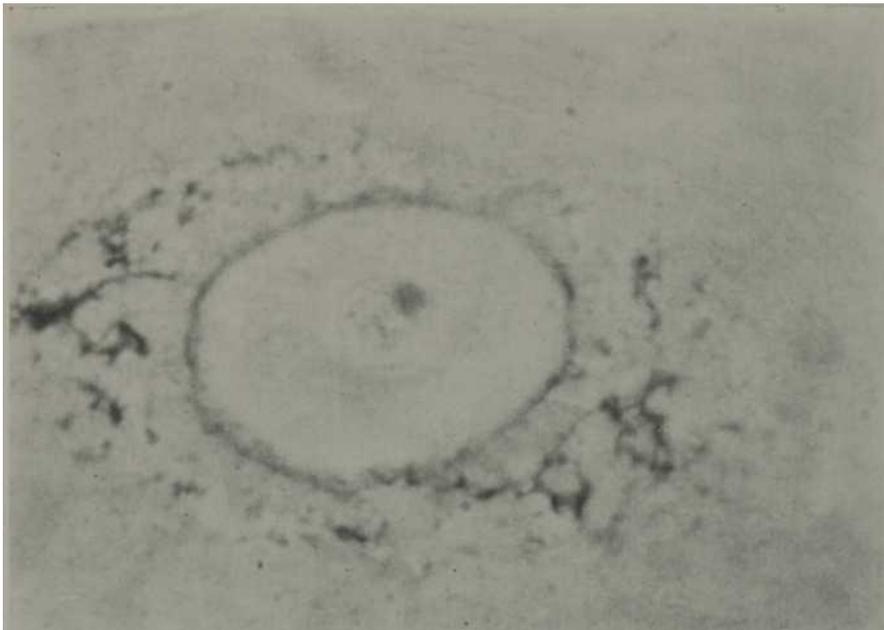
*Figura 5. Animal control, 120 días. Intensa positividad de las membranas interna y externa. Zona pelúcida donde se observa fuerte positividad. Ausencia de granulaciones positivas en el citoplasma del ovocito. Amilasa y PAS (400 X).*



*Figura 6. Animal parotidectomizado, 120 días. Intensa positividad de las membranas interna y externa. Zona pelúcida fuertemente positiva. Ausencia de granulaciones positivas y positividad difusa. Amilasa y PAS (400 X).*



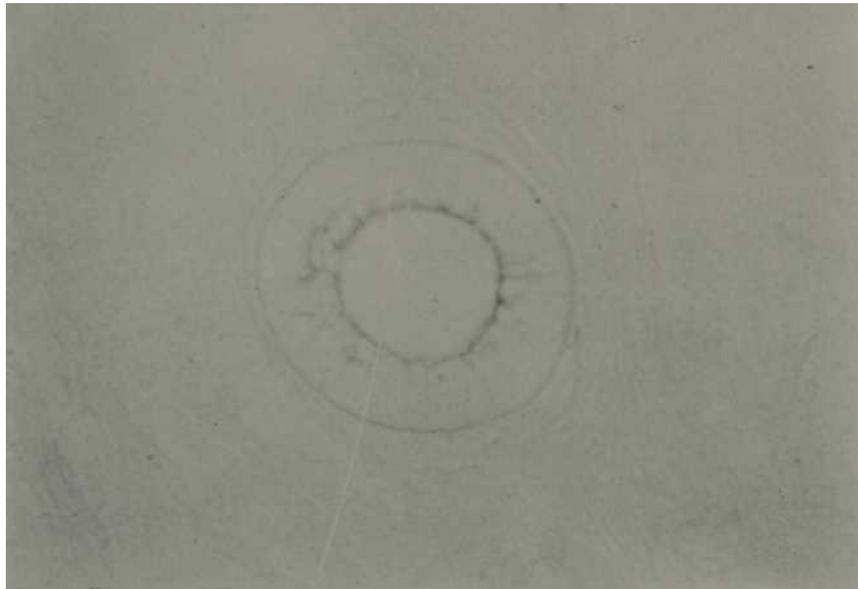
*Figura 7. Animal control, 120 días. Membrana interna con discreta positividad; membrana externa y zona pelúcida, negativas. Citoplasma del ovocito con discreta positividad. Hierro coloidal de Hale (400 X).*



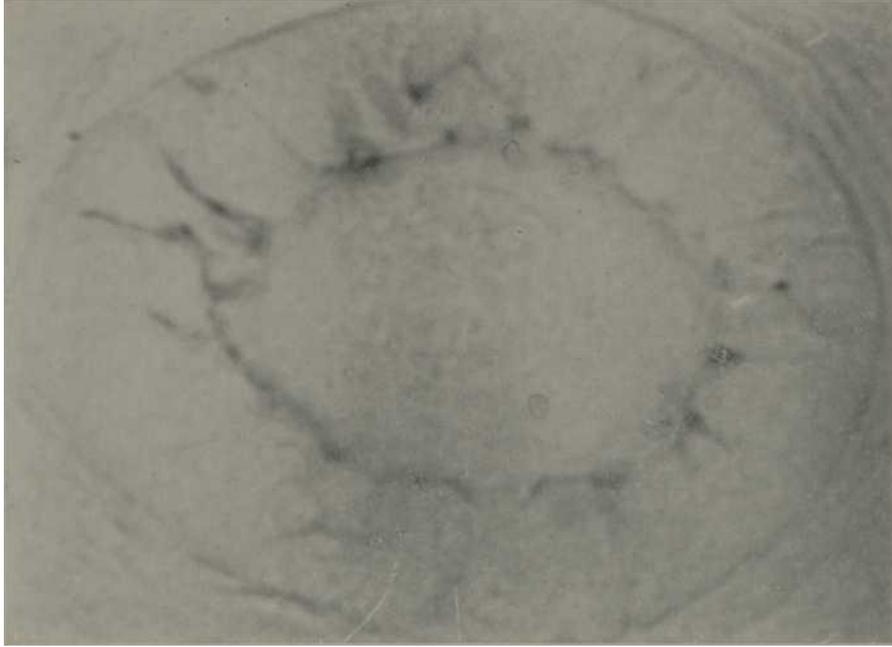
*Figura 8. Animal paratidectomizado, 120 días. Membrana interna con fuerte positividad; membrana externa y zona pelúcida negativas. Citoplasma del ovocito, débilmente positivo. Hierro coloidal de Hale (400 X).*



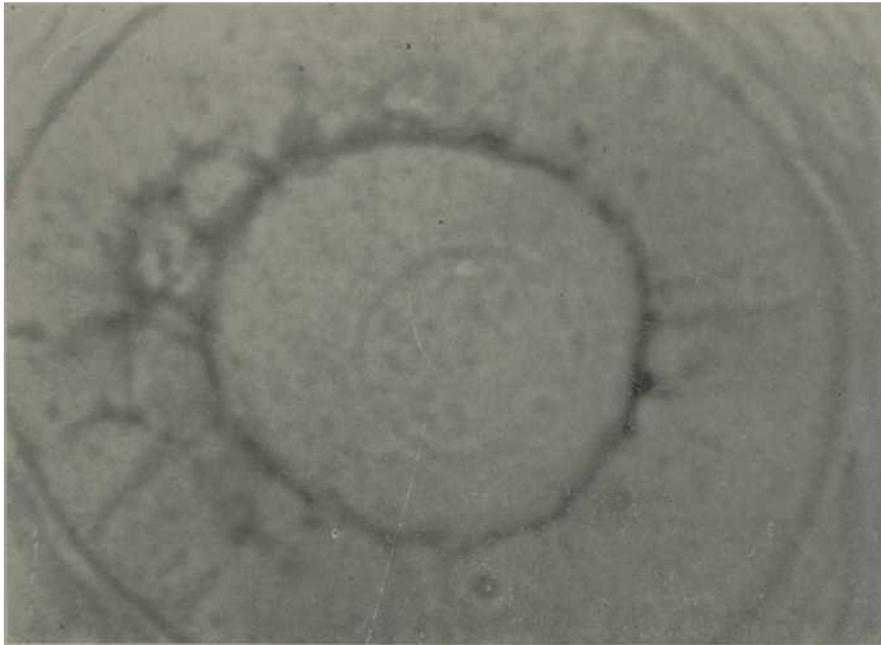
*Figura 9. Animal control, 120 días. Zona pelúcida con débil positividad. Membrana interna, externa y citoplasma del ovocito, negativos. Azul de Alcian pH 2,5 (400 X).*



*Figura 10. Animal paratidectomizado, 120 días. Zona pelúcida con intensa positividad. Membranas interna, externa y citoplasma del ovocito, negativos. Azul de Alcian pH 2,5 (400 X).*



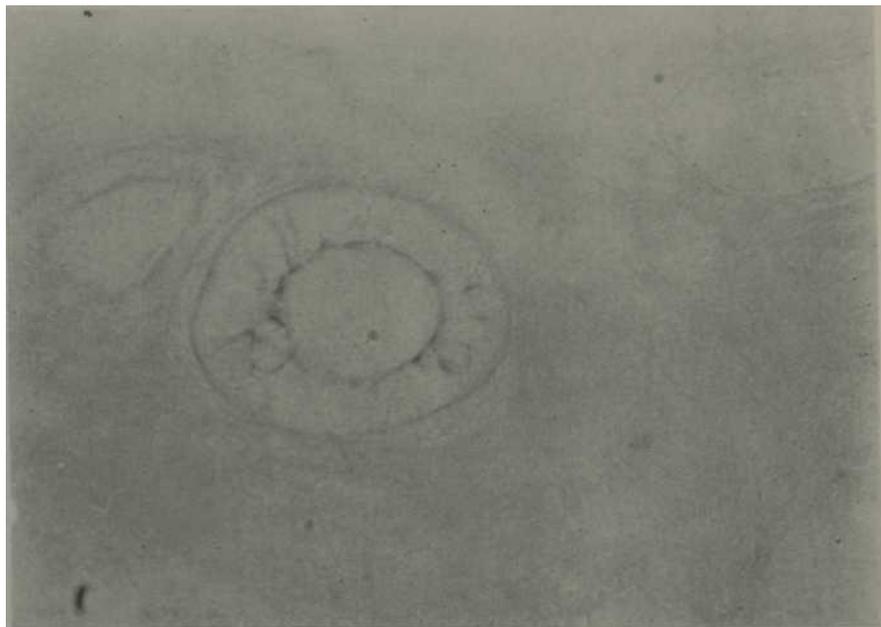
*Figura 11. Animal control, 120 días. Idem figura 9. Azul de Alcian pH 2,5 (400 X, ampliada).*



*Figura 12. Animal parotidectomizado, 120 días. Idem figura 10. pH 2,5 (400 X, ampliada).*



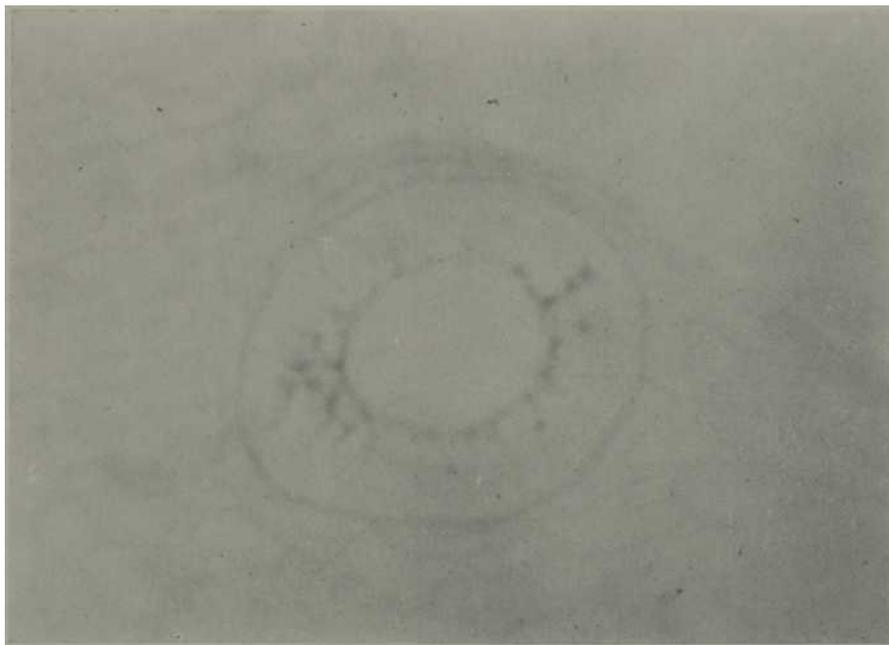
*Figura 13. Animal control, 120 días. Zona pelúcida con discreta positividad. Membranas interna, externa y citoplasma del ovocito, negativos. Hialuronidasa y azul de Alcian pH 2,5 (400 X).*



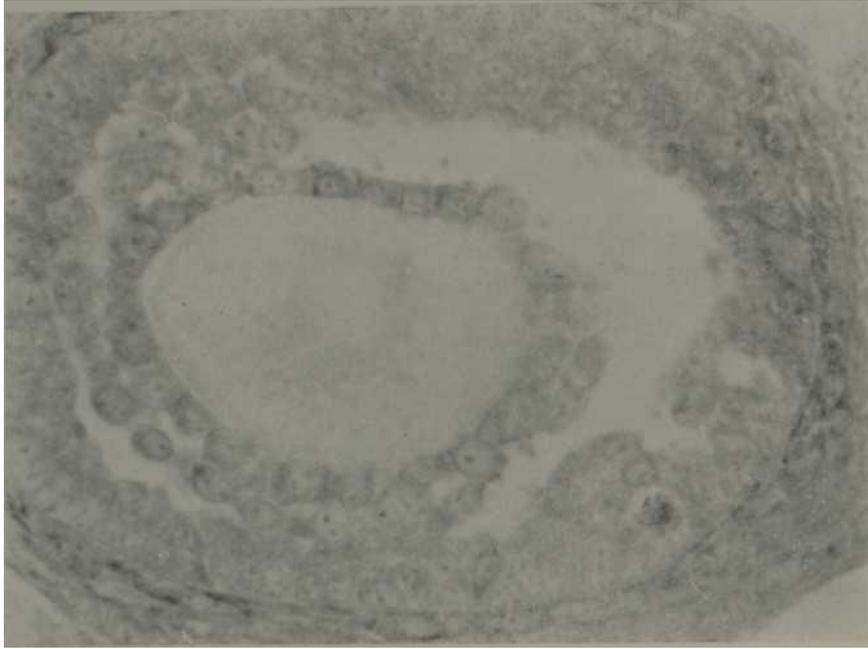
*Figura 14. Animal parotidectomizado, 120 días. Zona pelúcida donde se observa fuerte positividad. Membranas interna, externa y citoplasma del ovocito, negativos. Hialuronidasa y azul de Alcian pH 2,5 (400 X).*



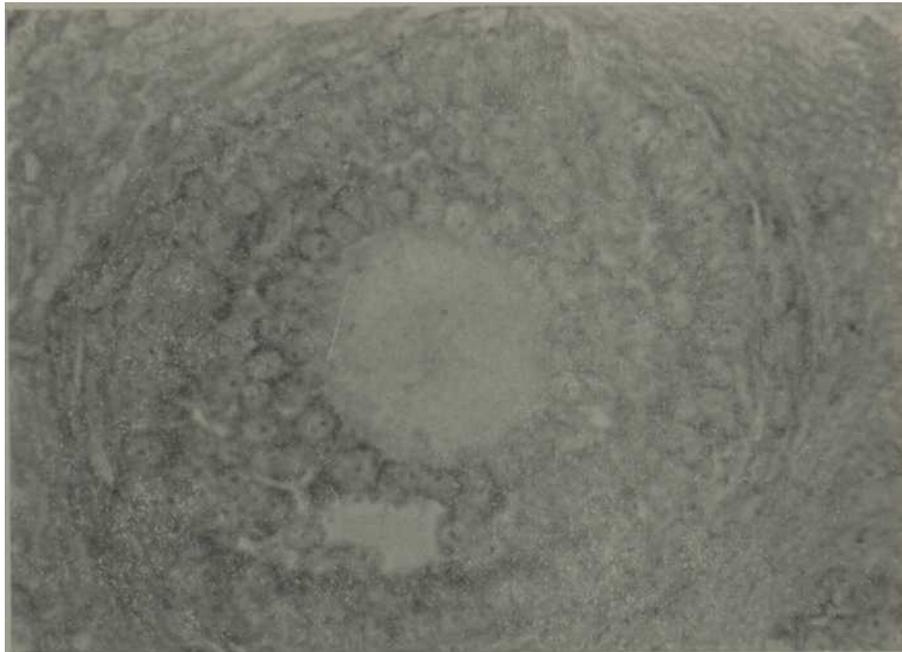
*Figura 15. Animal control, 120 días. Zona pelúcida con discreta positividad. Membranas interna, externa y citoplasma del ovocito, negativos. Hidrólisis ácida y azul de Alcian pH 2,5 (400 X).*



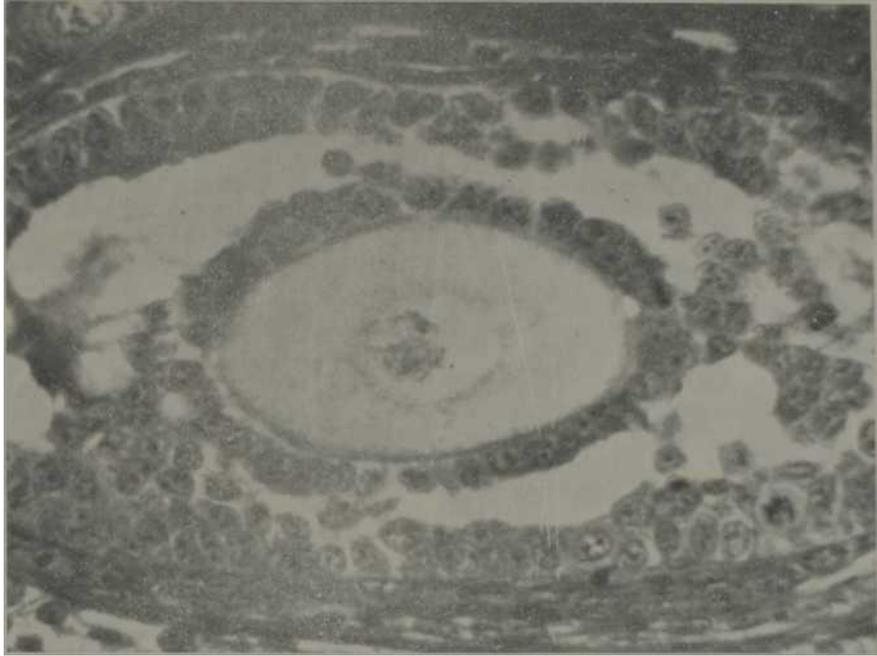
*Figura 16. Animal parotidectomizado, 120 días. Zona pelúcida, con débil positividad. Membranas interna, externa y citoplasma del ovocito, negativos. Hidrólisis ácida y azul de Alcian pH 2,5 (400 X).*



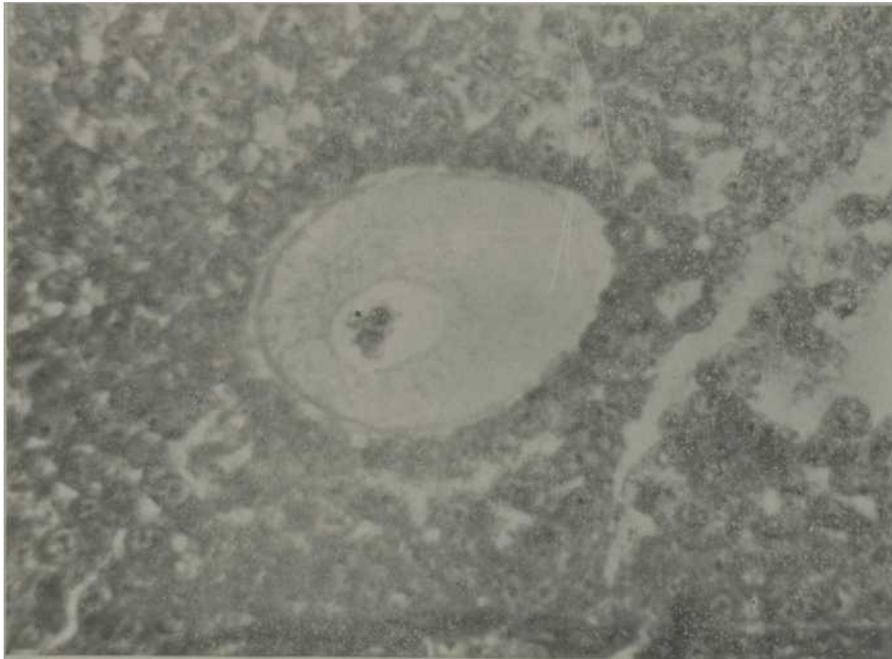
*Figura 17. Animal control, 120 días. Zona pelúcida, membranas interna y externa, negativas. Citoplasma del ovocito con discreta basofilia. Azul de toluidina pH 3,0 (400 X).*



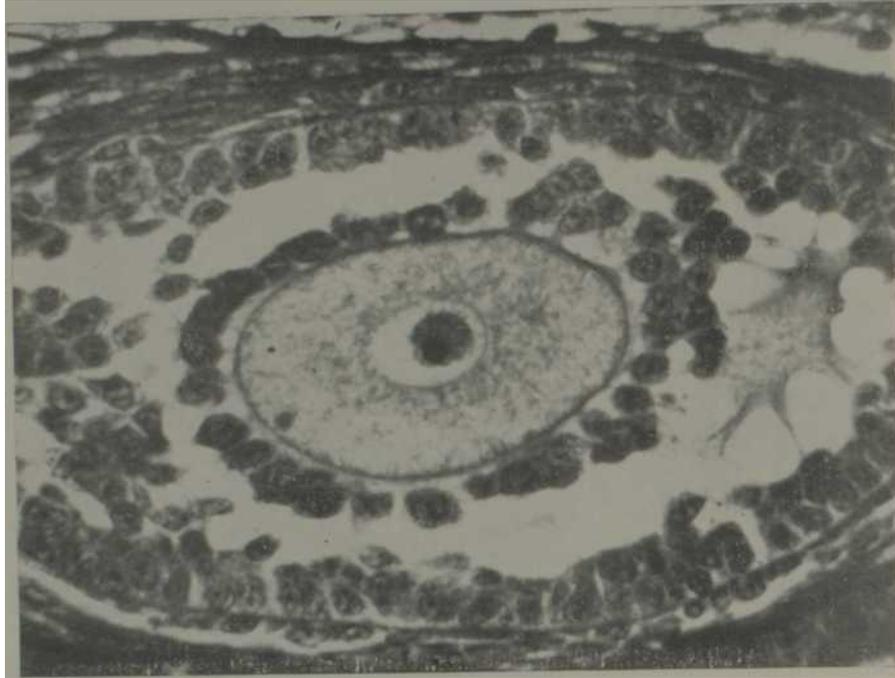
*Figura 18. Animal paratidectomizado, 120 días. Zona pelúcida, membrana interna y externa, negativas. Citoplasma del ovocito con débil basofilia. Azul de toluidina pH 3,0 (400 X).*



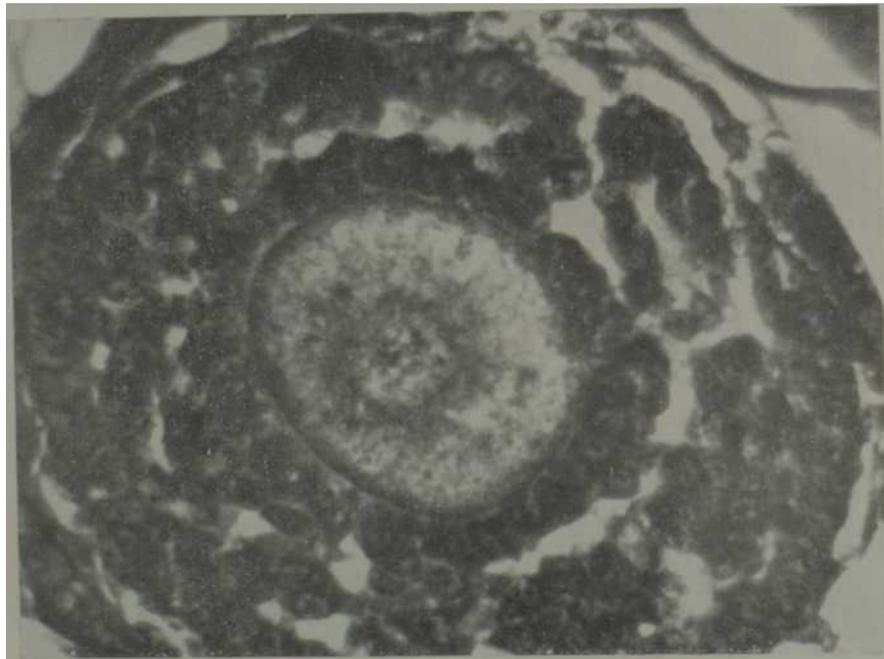
*Figura 19. Animal control, 120 días. Zona pelúcida y membrana externa, negativas. Membrana interna y citoplasma del ovocito con débil basofilia. Azul de toluidina pH 7,0 (400 X).*



*Figura 20. Animal parotidectomizado, 120 días. Zona pelúcida y membrana interna con débil basofilia. Membrana externa, negativa y citoplasma del ovocito donde se observa fuerte basofilia. Azul de toluidina pH 7,0 (400 X),*



*Figura 21. Animal control, 120 días. Zona pelúcida débilmente metacromática. Membrana externa negativa y membrana interna con débil basofilia. Citoplasma del ovocito con fuerte basofilia. Cromización y azul de toluidina pH 7,0 (400 XJ).*



*Figura 22. Animal parotidectomizado, 120 días. Zona pelúcida débilmente meta- cromática. Membrana interna con débil basofilia y membrana externa negativa. Citoplasma del ovocito fuertemente metacromático. Cromización y azul de toluidina pH 7,0 (400 X).*

Matheus, G. et al. *Morphological and histochemical study of the zona pellucida of ova from parotidectomized rats*. Rev Cub Med 15: 1, 1976.

Fourty previously investigated rats which were also tested for their fertility and were about 120 days old were studied. Two groups were formed: one composed by parotidectomized rats operated on under sulphuric-ether anesthesia and the other one composed by rats anesthetized using the same agent which glands were exposed and manipulated with a clamp. In this study the morphology and histochemistry of rat ovum zona pellucida were analyzed. Different aspects of the method used as well as results obtained are described.

#### RESUME

Matheus, G. et al. *Etude morphologique et histochimique de la zone pellucide de l'ovule, des rats ayant subi une parotidectomie*. Rev Cub Med 15: 1, 1976.

Cette étude se rapporte à 40 rats âgé de 120 jours préalablement étudiés dont on a prouvé leur fertilité. A ce propos on a fait deux groupes: un groupe composé des rats ayant subi une parotidectomie avec éther sulphurique, et un deuxième groupe composé des rats également anesthésiés mais en conservant leurs glandes. Cette étude était faite dans le but d'analyser la morphologie et l'histochimique de la zone pellucide de l'ovule des rats. Les différents aspects envisagés par cette méthode ainsi que les résultats obtenus dans toutes les deux groupes sont décrits.

#### PE3KME

MaTeyc r., h jip. Mop\$ojiormecKaH k mcToxiwiraecKafI K3yHeHiiH np03pa'iHOf6 oOojiohkh OTeUKii nap0THfleKT0MK3iip0BaHHHX Kpuc. Rev Cub Med 15:1,1976.

ИрОБОИHTCfl H3yMeMie JOH KOTOpOrO HCII0ИЛ30BaИИ? 40 KpHC 120 flHeii B03pac- TZ y KOTOPHX nptLBOpiTe^BHO yCTaHaBJIKBaJIK HX nJIOfOpoJLHOCTK.COCTaBIUIZ flse rpynu:nepBH5 coctoht «3 Kpiceñ Ce3 napaTKpoKjwoiS :neje3K (napara- jieKTOMH3np0BaHHHX) rtocjie BBejieHKe aHeCT63mi cyjn|)yPHM 3\$upOM; aпыran rpyнна coctoht H3 KpHceii noa aHeCTe3m ho óe3 y^ajeraiiH napaTupoHflHHX atejie3. Uejiii stoü H3yMeHiiii HanpaBJinetch k aHaJiiH3y Mop^ojioraio a тiuctoijio raro np03pa^H0H 30hh kh6iikh KpHceM. OnHCHBajm pa3JiirqHHx acneKTax MeTO- ihkh iicnojB3yeMoro jviih npoBeneHiiH Ha3BaHHoro H3yneHHH .Taicece KaK nojiv ^ieHHHe pe3yjiBTaTH b ooei/ix rpyinn shbothx.

#### BIBLIOGRAFIA

1. Ogata, A. et al. Chemical and pathological studies in the isolation of salivary hormone. Igaku-to-Seibutsugaku, 5: 253-257. In OGATA, T. 1955, 1944.
2. Ito, Y. y Mizutani, A. Studies on the salivary gland hormones. J Pharm Soc Jap 72: 244. In ITO, Y., 1954, 1952.
3. Katagiri, S. y Higashijo, T. Histologishe studien über die Einflüsse der speicheldrüsenectirpation auf die Wirkung des Geschlechts hormones. Trans Soc Pathol Jap 30: 252, 1940.
4. Fawcett, F. W. y Kirkwood, S. Role of the salivary glands in extrathyroidal iodine metabolism. Science 120: 547-548, 1954.
5. Takizawa, N. A pathological research on the infernal secretion of salivary glands. Acta Pathol Jap 4: 129-166, 1954.
6. Ito, Y. Biochemical studies on salivary gland hormone. Endocrinol Jap 1: 1-50, 1954.
7. Bixler, D. et al. Effect of desalivaron on adrenals, uterus and testes in the rat. J Dent Res 34: 910-914, 1955.
8. Ogata, T. The infernal secretion of salivary gland. Endocrinol Jap 2: 247-261, 1955.
9. Bixler, D. et al. The histochemistry of the adrenal cortex following removal of major salivary glands. J Dent Res 35: 547-554, 1956.

10. *Ito, T.* Parotin: a salivary gland hormone. *Ann N. Y. Acad. Sci* 85: 228-310, 1960.
11. *Shafer, W. G. y Muhler, J. C.* Endocrine influences upon salivary glands. *Ann N.Y. Acad Sci* 85: 215-217, 1960.
12. *Krikos, G. A.* "Salivary glands", in *Orban's Oral Histology and Embriology*. Harry Sicher ed. G. V. Mosby Company. Saint Louis, 1966.
13. *Melhrfo, R. M.* Estudo histoquímico das glândulas salivares (parótidas, submandibulares e sublinguais) de ratos tratados com dexametasona 21-fosfato. Tese Dout Fac Odont Aragatuba Sao Paulo, Brasil, 1972.
14. *Rulli, M. A.* Contribuição ao estudo morfológico e histoquímico do tecido de granulação cicatricial em ratos após a extirpação das glândulas parótidas e submandibulares. Tese Dout Fac Odont Aragatuba, Sao Paulo, Brasil, 1973.
15. *Matheus, G.* Processo de reparo de fratura óssea em ratos parotidectomizados. Estudo morfológico e histoquímico. Tese Dout Fac Odont Aragatuba, Sao Paulo, Brasil, 1973.
16. *Bixler, D. et al.* The effects of salivarydenectomy on the reproductive organs of the female rat. *J Dent Res*, 36: 559, 1957.
17. *Afonski, D.* Effects of desalivaron in reproduction. *J Dent Res*, 37: 965, 1958.
18. *Suddick, P. R.* Effect of salivarydenectomy and administration of salivary gland hormones upon the reproductive organs of the female rats. *J Dent Res*, 30: 554-571, 1960.
19. *Arden, R. M.* Influencia da extirpação das glândulas salivares na procriação de ratos. "En prensa", 1973.
20. *Wislocki, G. B. et al.* Metachromasia in mammalian tissues and its relationship to mucopolysaccharides. *Am J Anat*, 81: 1, 1947.
21. *Harter, B. T.* Glicogen and carbohydrate-protein complex in the ovary of the white rat during estrous cycle. *Anat Rec*, 102: 349-367, 1948.
22. *Catchpole, H. R. et al.* Some properties of ovarian connective tissue in relation to parenchymatous changes. *J Endocrinol* 6: 277- 282, 1949.
23. *Leblond, C. P.* Distribution of periodic acid-reactive carbohydrate in the adult rat. *Am J Anat* 86: 49, 1950.
24. *Deane, H. W.* Histochemical observations on the ovary and oviduct of the albino rat during the estrous cycle. *Am J Anat* 91: 363-413, 1952.
25. *Buno, W. L. y Hekimian, L.* Estudio histoquímico del ovario de la rata en relación con el ciclo estral, la gestación y la lactación. *An Fac Med* 40: 42-62, 1955.
26. *Sasso, W. S.* Estudo dos mucopolissacárides da zona pelúcida dos óvulos de animais de laboratorio dos géneros *Lepus*, *Cebus*, *Canis*, *Felis*, (*Felis*), *Cavia*, *Mus* e *Rattus* (Mammalia). *Matern Infanc* (Sao Paulo) 20: 345-407, 1961.
27. *McClellan, D. y Rowlands, L. W.* Role of hyaluronidase in fertilization. *Nature* 150: 627-628, 1942.
28. *Rowlands, L. W.* Capacity of hyaluronidase to increase the fertilizing power of sperm. *Nature* 154: 332-333, 1944.
29. *Sasso, W. S.* Estudo "in vitro" da permeabilidade ovular. Tese de Docência-Livre, Fac Farm Odont Univ Sao Paulo 1958.
30. *Lobo, A. B.* *Nogões básicas de embriologia humana*. 3ª ed., Rio de Janeiro, Ed. Guanabara, 1960.
31. *Lison, L.* *Histochemie et cytochimie animales*. Principies et methodes. 3ème ed., Gauthier-Villars, Paris, 1960.
32. *Lillie, R. D.* *Histopathologic technic and practical histochemistry*. McGraw-Hill Book Company, New York, 1954.
33. *Quintarelli, G. et al.* Studies of sialic acid-containing mucins in bovine submaxillary and rat sublingual glands. *J Histochem Cytochem* 9: 176-183, 1961.
34. *Rizzolli, C.* Ricerche sulla natura e distribuzione dei mucopolisaccharides nei tessuti animali. *Rev Istochim norm pat* 345, 1955.
35. *Talel, R. E. et al.* Hyaluronidase treatment of human sterility. *Am J Obstet Gynec* 55: 1023-1029, 1948.