

JOSÉ EDUARDO DE MARIALVA

Este exemplar corresponde a redação final da tese defendida pelo candidato José Eduardo de Marialva e aprovada pelo Conselho Julgador.

Campinas 11/11/87



INFLUÊNCIA DO TEOR DE PROTEÍNA DA DIETA NAS ALTERAÇÕES TESTICULARES DE RATOS JOVENS SIALOADENECTOMIZADOS.

Tese apresentada ao Instituto de Biologia da Universidade Estadual de Campinas, para a obtenção do título de MESTRE na área de Fisiologia e Biofísica.

ORIENTADOR: Prof. Dr. Antonio Celso Ramalho

CAMPINAS

- 1987 -

AGRADECIMENTOS

Ao Professor Doutor **ANTONIO CELSO RAMALHO**, Professor Adjunto do Departamento de Fisiologia e Biofísica do Instituto de Biologia da Universidade Estadual de Campinas, pelo incentivo, interesse e dedicação constantes com que orientou este trabalho e pela valiosa contribuição à minha formação profissional além da amizade com a qual me honra.

Ao Professor Doutor NORAIR SALVIANO DOS REIS, professor Assistente Doutor do Departamento de Histologia do Instituto de Biologia da Universidade Estadual de Campinas, pela análise histopatológica e pela documentação fotográfica.

Aos professores Doutor JOSE ANTONIO CORDEIRO e SIDNEI RAGAZZI do Departamento de Estatística do Instituto de Matemática e Ciências da Computação da Universidade Estadual de Campinas, pela orientação na análise estatística.

Aos funcionários do Departamento de Fisiologia e Biofísica do Instituto de Biologia da Universidade Estadual de Campinas, Senhores DANIEL VICENTE DE FARIAS, HERVAL DE LARA ALMEIDA e Senhorita IVETE DE JESUS ROQUE, pela colaboração técnica, Senhorita MARIA ELIDIA DOS SANTOS e Senhora INEZ ZENAIDE MIOTTI VALIM, pela dedicação e presteza nos serviços datilográficos.

Ao CNPq e CAPES (PICD) que através do apoio financeiro permitiram o desenvolvimento deste trabalho.

À Fundação Municipal de Ensino Superior de Marília, Faculdade de Medicina de Marília, Marília, S.P., pelo apoio e incentivo, ao me liberar, sempre que necessário, para a confecção deste trabalho.

Aos professores e colegas do Departamento de Fisiologia e Biofísica do Instituto de Biologia da Universi-

dade Estadual de Campinas, pela amizade e incentivo constantes.

A todos aqueles que, de alguma forma, contribuíram para a minha formação profissional.

Aos meus pais e irmãos

e à Irene,

dedico.

ÍNDICE

	Pág.
INTRODUÇÃO	01
MATERIAL E MÉTODOS	10
RESULTADOS	14
1. Peso Corporal	14
2. Ingestão de Dieta	28
3. Peso e Dimensões Testiculares	35
HISTOLOGIA	49
Tratamento (NO)	49
Tratamento (SI)	50
Tratamento (NP)	50
DISCUSSÃO	61
RESUMO E CONCLUSÕES	72
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	75

INTRODUÇÃO

As relações entre as glândulas salivares e as gônadas vem sendo objeto de numerosos estudos.

Hã claras evidências de que os hormônios sexuais são capazes de influenciar as glândulas salivares. LACASSAGNE (1940) foi o primeiro autor a relatar um dimorfismo sexual histológico das glândulas salivares submandibulares em camundongos adultos. Esse autor observou além dos ácinos e sistemas de ductos, característicos das glândulas salivares de mamíferos, outros componentes que ligam os ductos intercalados e estriados, denominando-os "túbulos granulares". Nos machos, esses túbulos são contornados por células colunares altas, cheias de grânulos secretórios, e, nas fêmeas, por células colunares baixas, contendo poucos grânulos. Observou ainda que a diferença sexual destes túbulos poderia ser revertida pela injeção de testosterona nas fêmeas e castração ou injeção de estrógenos no macho. Outros autores também observaram que o tratamento com testosterona em camundongos machos castrados, revertia a atrofia dos túbulos secretores da glândula submandibular (DOINE et al. , 1979).

Inúmeros estudos demonstraram que além do dimorfismo sexual a nível histológico, as glândulas submandibulares de camundongos também apresentam diferenças bioquímicas andrógeno dependentes.

Assim, comparando-se as glândulas submandibulares de camundongos fêmeas e machos impúberes com a do macho adulto, demonstrou-se que a destes contém níveis mais altos

de fator de crescimento epidermal (EGF) (ROBERTS, 1974), fator letal (HOSHINO et al., 1969), renina (HIRATA et al., 1965; ANGELETTI et alii, 1968), protease e fosfatase ácida (JUNQUEIRA et alii, 1949). Dentre estas substâncias dependentes de andrógenos, algumas parecem se localizar nos túbulos granulares das submandibulares, tais como o NGF (LEVIMONTALCINI et al., 1961), a renina (BHOOLA, et al., 1973) e enzimas tóxicas presentes na saliva do camundongo (HIRAMATSU, et alii., 1980).

No camundongo macho castrado foi visto uma redução dos níveis de NGF (ANGELETTI et alii, 1968) e da atividade de renina (BHOOLA et alii, 1973).

Por outro lado, a administração de andrógenos têm se mostrado efetiva no aumento de concentração de diversas substâncias presentes na glândula submandibular de camundongo. Foram descritas as concentrações elevadas de NGF em glândulas submandibulares de machos pré-púberes (BURDMAN et al., 1965) e fêmeas androgenizadas (BURDMAN et al., 1965; BUEKER et alii., 1965; ANGELETTI et alii, 1968; ISHII et al., 1975). Também um aumento da concentração de EGF foi obtido em fêmeas tratadas com testosterona (ROBERTS, 1974; GRESIK et alii, 1981).

Do mesmo modo, foi demonstrado aumento da atividade da renina em glândulas submandibulares de machos castrados e fêmeas após a administração de andrógeno (OLIVER et al., 1967) e observado maior efeito letal do transplante de glândulas submandibulares de camundongos machos imaturos e fêmeas após tratamento prévio com testosterona (LIN et al., 1969).

Enquanto as diferenças histológicas entre as

glândulas submandibulares de camundongos machos e fêmeas estão bem estabelecidas e conhecidas, a evidência desse dimorfismo sexual em outros animais é discutida.

Assim, foi observado dimorfismo sexual das glândulas submandibulares no roedor (Meriones unguiculatus (MSTRACCIO, 1972) em macacos (GIRCD, 1964) e em pombos (MANDAL, et alii., 1971). Em suínos foi extraído testosterona e 5-alfa-dehidrotestosterona das glândulas submandibulares de machos em diferentes idades, estes hormônios não foram encontrados nas mesmas glândulas das fêmeas (BOOTH, 1972).

Nos ratos, antes da puberdade não há diferença entre as glândulas submandibulares de machos e fêmeas, porém, nos animais adultos, cuidadosos e estudos têm demonstrado que os diâmetros dos túbulos dessas glândulas são maiores nos machos que nas fêmeas (GRAD et al., 1949; JACOBY et al., 1959). Observou-se também maior número de túbulos granulares no macho adulto, comparado às fêmeas adultas ou jovens de ambos os sexos (MUDD et al., 1975).

BALDI et al (1972) demonstraram que as submandibulares de ratos tem um mecanismo bioquímico responsável pela degradação da testosterona em metabolitos de menor atividade biológica e é concebível que a enzima responsável por essa transformação se localize nos segmentos tubulares dessas glândulas.

SHAFER et al (1953) verificaram que após castração, havia uma atrofia dos túbulos granulares das glândulas submandibulares de ratos machos e que o tratamento com tiroxina e com testosterona previne as alterações ocorridas pela castração. As alterações decorrentes da hipofisectomia (SHAFER, et alii, 1956; SREEBNY et alii, 1957) e da tireoi-

dectomia (SHAFFER et al, 1953) também são revertidas pela administração conjunta de tiroxina e testosterona.

Nos seres humanos e em cães, as glândulas submandibulares parecem não apresentar dimorfismo sexual (BALDI et al, 1972). Entretanto, à semelhança do que ocorre no rato, a função excretora da submandibular humana, aumenta no começo da maturidade (MANEYAMA et al, 1974), em contraste com a parótida, cuja função excretora, diminui nesse período. Isso parece sugerir uma possível compensação pelas glândulas submandibulares, não somente na função excretora, mas também, na produção de hormônios.

Em uma revisão dos estudos sobre as glândulas parótidas (ARRANZ, 1975) cita o trabalho de BURGESS et al (1957) onde descreveu-se uma diferença morfológica entre as parótidas de ratos machos, que apresentam uma porção "lenticular" e outra "serosa" e de fêmeas, cuja porção lenticular tem aspecto acinar. O desaparecimento das características do tipo masculino e sua porção lenticular foi observado em ratos após castração (PARMON et alii, 1957). A administração de propionato de testosterona a esses animais, devolveu às parótidas os caracteres masculinos, enquanto nas fêmeas, a castração conferiu à porção lenticular, características de macho, sugerindo que o hormônio testicular origina a diferenciação da parótida.

Em cobaias hipofisectomizados ou orquidectomizados os pesos das glândulas parótidas e submandibulares diminuíram significativamente, o mesmo acontecendo com a concentração e conteúdo total de parotin nessas glândulas (AONUMA et alii, 1970b).

Como vimos, vários autores estudaram os efeitos

da castração ou administração de hormônios sobre as glândulas salivares. Outros, entretanto, pesquisaram a influência das glândulas salivares sobre a função reprodutora com resultados bastante controversos.

Assim, alguns pesquisadores, verificando os efeitos da ablação das glândulas salivares, encontraram sinais de alteração da função testicular.

PARMON et alii (1957) observaram que a parotidectomia unilateral em ratos não produziu alterações no peso e na histologia dos testículos. Porém, a extirpação bilateral causou lesões características de total inibição da espermatogênese, o que demonstra, segundo esses autores, a relação sinérgica existente entre as parótidas e os testículos.

AONUMA et alii (1970a) estudando em cobaias a influência das glândulas salivares sobre a função sexual observaram que a parotidectomia produziu significativa diminuição do volume do sêmen, bem como da atividade da fosfatase ácida e do nível de frutose nesses animais. Com a administração de Parotin por duas semanas, esses animais voltaram às condições normais. Esses autores estudaram também os efeitos da ablação das parótidas sobre a hipófise anterior, observando uma queda nos níveis dos hormônios folículo estimulante (FSH) e luteinizante (LH), 17-ceto-esteróides urinários e estrógenos do plasma, situação revertida pela administração do Parotin.

ALVAREZ-BUYLLA et alii (1970-1973) observaram que, em cães hipofizectomizados que não apresentavam espermatogênese, ereção e ejaculação, após o transplante imediato de glândulas parótidas na sela túrcica, esses animais

recuperaram a espermatogênese e apresentaram apenas moderada atrofia testicular.

CASTRO-CASTRO (1973) estudando testículos de coelhos em situação de "hipersialoadenismo" por administração de Parotin e de "assialoadenismo" por ablação das parótidas, concluiu que nos animais sialoadenectomizados existe inibição do processo espermatogênico, enquanto nos animais com hipersialoadenismo existe maior atividade celular do epitélio germinativo.

NAGANO et al (1973) usando antígeno de glândulas parótidas induziram a azoospermia em cobaios e observaram que os antígenos das outras glândulas salivares não desenvolveram lesões testiculares.

KATAGIRI et al, (1948), verificaram que após a remoção das submandibulares e ligadura dos ductos das parótidas em ratos de ambos os sexos ocorria, entre outros fatos, hipertrofia do útero e do córtex adrenal e atrofia dos testículos.

Por outro lado, PARMON et alii (1957) evidenciaram sinais de intensa espermatogênese e de tecido intersticial normal seis meses após a ablação bilateral das glândulas submandibulares.

BIXLER et alii (1955b) demonstraram, também, que em ratos dessalivados o peso dos testículos aumentava e não havia diferença histológicas em relação aos animais normais.

BASSANI (1983) estudando ratos sialoadenectomizados aos 17 dias de idade e sacrificados aos 21, 30, 42, 60, 85 e 120 dias de idade observou que não houve diferença entre o pesos dos testículos dos grupos operados e controles durante todo o período experimental.

Ao contrário, NARASIMHAN et al (1967) estudando a influência das glândulas salivares submandibulares sobre o crescimento de diversos mamíferos, observaram que a extirpação bilateral em ratos adultos produziu atrofia das gônadas.

Em camundongos de ambos os sexos que tiveram suas glândulas submandibulares removidas, JOHNSON, et alii (1970) observaram que esses animais apresentaram atraso no desenvolvimento corporal em relação aos seus controles e que, nos machos a ablação das submandibulares causou regressão dos testículos e diminuição da atividade sexual, enquanto as fêmeas puderam ser fecundadas e pariram normalmente.

VIEILLEMARINGE (1970) realizou a ablação bilateral das submandibulares em camundongos com 5 dias de idade e constatou que os animais operados apresentavam, aos 26 dias após a cirurgia, um aumento do peso corporal, células intersticiais bastante ativas e espermatogênese bem acentuada.

PAULO (1980), extirpando as glândulas submandibulares e sublinguais em ratos jovens, quatro dias após a cirurgia encontrou aumento do número de células germinativas em degeneração. No entanto, estas alterações foram transitórias, pois as mesmas já não existiam seis semanas após a sialoadenectomia. Além disso, o autor não observou alteração da taxa de desenvolvimento das células germinativas nos animais experimentais.

BIXLER et alii (1957) observaram que a sialoadenectomia produziu, em ratos desmamados, um atraso no desenvolvimento dos órgãos reprodutores.

SUDDICK (1960) também observou em ratas que a sialvariadenectomia era seguida de atraso no desenvolvimento, diminuição da atividade e atrofia dos órgãos reprodutores.

DOTTAVIANO, et alii (1974) estudando a reprodução de ratos sialoadenectomizados (ablação bilateral das glândulas submandibulares e sublinguais) submetidos à cirurgia simulada (estímulos mecânicos das glândulas submandibulares e sublinguais) e normais, observaram que 40% dos casais sialoadenectomizados conceberam, em comparação à 100% dos submetidos à cirurgia simulada e 75% dos normais. Além disso, o tempo médio entre o início do acasalamento e o parto foi de 28 dias para os sialoadenectomizados e 25 dias para os demais grupos.

ARCIERI et al (1977) em estudo semelhante observaram que há uma significativa diminuição do número de filhotes das fêmeas que sofreram a ablação das glândulas submandibulares, sublinguais e das parótidas.

Como pode ser visto, é evidente o relacionamento das glândulas salivares com as funções gonodais. No entanto, os resultados até agora obtidos são bastante contraditórios quanto à participação das glândulas submandibulares e/ou parótidas sobre as alterações testiculares.

Segundo alguns autores a ablação das glândulas causa diminuição da ingestão de alimentos, interferindo com o estado nutricional dos animais. Como consequência da parcial inanição, ocorre atrofia dos testículos e atraso do desenvolvimento dos órgãos reprodutores (BIXLER et alii, 1955b); SUDDICK, 1960).

RAMALHO (1979) estudando o efeito da ablação das glândulas submandibulares e sublinguais sobre os testículos de ratos jovens observou que, embora os animais operados tivessem ingerido menores quantidades de dieta do que os normais, apenas os de um grupo alimentado com uma dieta contem

do menores teores de alguns constituintes, especialmente proteína, vitamina E, Cu, Fe e Mn apresentaram alterações histológicas testiculares. Esse autor sugere que "os menores teores de alguns constituintes da dieta, em conjunto ou separadamente, tenham influenciado o desenvolvimento das lesões testiculares".

Em trabalho posterior RAMALHO, et alii (1983) alimentando ratos sialoadenectomizados com dieta contendo teores adequados de todos os seus constituintes, verificaram que não houve alterações testiculares nesses animais.

BOYD (1970) estudando ratos machos, alimentados por 25 dias com dietas diferentes em proteína observou que os pesos testiculares foram menores à medida que a dieta continha menor proporção de proteína, chegando, nos alimentados com dieta isenta de proteína a ser menor que 1% do peso corporal. O exame histopatológico revelou que os túbu-los seminíferos continham apenas células de Sertoli e algumas espermatogônias mas não espermatócitos, espermatides ou espermatozóides.

À vista do exposto, propusemo-nos a realizar o presente trabalho com o objetivo de estudar a influência do teor de proteína da dieta sobre as possíveis alterações testiculares de ratos jovens sialoadenectomizados.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizados 48 ratos (*Ratus norvegicus*, albinos, Wistar), machos.

Aos 20 dias de idade os animais foram separados de suas mães e transferidos para gaiolas metabólicas individuais localizadas em uma sala provida de condicionamento de ar, com temperatura entre 20 e 26°C e com 14 horas diárias de iluminação e 10 horas de obscuridade.

Aos 30 dias já adaptados às gaiolas os animais foram pesados e distribuídos em 2 grupos: A e B, com 24 animais cada.

Tanto no Grupo A quanto no Grupo B os ratos foram redistribuídos em 3 subgrupos, de forma que cada um deles ficou constituído de 8 animais normais (NO), 8 sialoadenectomizados (SI) e 8 normais com alimentação pareada (NP).

Os animais NP receberam diariamente durante o período experimental quantidade de dieta correspondente à ingestão do dia anterior dos ratos SI.

A sialoadenectomia consistiu na extirpação bilateral das glândulas submandibulares e sublinguais maiores, e, para sua realização, usou-se como referência o procedimento cirúrgico de CHEYNE (1939).

Nas gaiolas metabólicas ofereceu-se aos animais, água potável natural e as respectivas dietas, da mesma forma que vinha sendo realizado desde o período de adaptação. Ofereceu-se, diariamente, 25 g de dieta e água "ad libitum".

O controle de ingestão alimentar foi realizado medindo-se as sobras de dieta e calculando-se as quantidades ingeridas.

A dieta oferecida aos animais do Grupo A foi composta de:

Caseína	200 g
Mistura de sais minerais (ver adiante)	40 ml
Óleo de algodão	50 ml
Óleo de fígado de bacalhau	10 ml
Maisena	700 g
Solução de vitaminas	50 ml

Observação: 1000 g da dieta fornece 17% de proteína e 422,6* Cal.

A cada 1000 g de dieta, adicionou-se 50 ml da solução de vitamina preconizada por MANNA & HAUGE (1953), a crescida de vitamina B₁₂ (BURINI, 1973).

Solução de vitaminas - 1000 ml da solução contém as seguintes vitaminas:

Tiamina.....	0,6 g
Riboflavina.....	0,6 g
Piridoxina.....	0,6 g
Pantotenato de cálcio.....	2,0 g
Ácido nicotínico.....	1,0 g
Colina.....	30,0 g
Biotina.....	2,0 mg
Ácido fólico.....	4,0 mg
Inositol.....	8,0 g

* Segundo Best, C.H. e Taylor, N.B. - The Physiological basis of medical practice. 8th Edition, The Williams e Wilkins Co., Baltimore 1966 cap 63, p. 1265 e Scientific Tables - Documenta - Geigy 5ths edition, J.R. Guiner.

Ácido p-aminobenzóico.....	6,0 g
Vitamina K.....	0,2 g
Vitamina B ₁₂	0,6 g
Água deionizada q.s.p.	1000 ml

A mistura de sais minerais foi preparada de acordo com HEGST et alii (1941), com adição de cloreto de cobalto (BURINI, 1973). 1000 g de dieta contém as seguintes quantidades de sais:

NaCl.....	5,5720 g
KI.....	0,0318 g
KH ₂ PO ₄	15,5590 g
MgSO ₄ .7H ₂ O.....	2,2919 g
CaCO ₃	15,2559 g
FeSO ₄ .H ₂ O.....	1,0799 g
MnSO ₄ .H ₂ O.....	0,1604 g
ZnSO ₄ .7H ₂ O.....	0,0219 g
CuSO ₄ .5H ₂ O.....	0,0203 g
CoCl.6H ₂ O.....	0,0009 g

A dieta oferecida aos animais do Grupo B foi semelhante à dieta do Grupo A, exceto no teor de caseína e maisena, que foram recalculados para oferecer a cada 1000 g de ração 10% de proteína.

O preparo das dietas obedeceu à sequência: dissolução dos sais na solução de vitaminas; adição de óleos ; adição de caseína; passagem da mistura através de peneira de malhas de "nylon"; adição de maisena; homogeneização da mistura com colher de madeira; duas passagens do pó correspondente à mistura final através de malhas de "nylon".

As dietas foram armazenadas em frascos plásticos

e guardados em geladeira.

Durante a experimentação , ao final de cada período de 4 dias, verificou-se o peso dos ratos sempre à mesma hora. Anotou-se a ingestão diária de dieta bem como a ingestão após cada período de 4 dias.

Depois de 24 dias de observação nas gaiolas metabólicas os animais foram sacrificados por decapitação.

Na necrópsia os testículos esquerdos e respectivos epidídimos foram retirados por via abdominal. Depois de separados, os testículos foram pesados e mediu-se suas maiores dimensões longitudinais e transversais com auxílio de paquímetro. Em seguida os testículos e epidídimos foram colocados em líquido de Bouin. Após 3 ou 4 horas, cada testículo foi dividido em 3 porções, através de cortes transversais e fixados em Bouin por mais 24 horas. Os epidídimos , no mesmo prazo de tempo, também foram separados em 3 porções através de cortes transversais e fixados por mais 24 horas em Bouin. Após fixação, os fragmentos de testículos e de epidídimos foram processados e incluídos em parafina. Os cortes de 6 μ m de espessura foram corados pelo hemalume-eosina.

O estudo microscópico qualitativo dos testículos e epidídimos foi realizado examinando-se um corte de cada peça obtida. Os estágios dos ciclos do epitélio seminífero foram determinados de acordo com LEBLOND et al (1952).

Os resultados referentes aos ganhos de peso em todo o período experimental e a ingestão de dieta, bem como os pesos e dimensões testiculares foram avaliados estatisticamente pela Análise de Variância e Teste de Tukey.

RESULTADOS

1. PESO CORPORAL

Nas tabelas 1, 2, 3, 4, 5 e 6 pode-se observar os resultados referentes ao peso, ganho de peso corporal periódico e acumulativo dos ratos NO, SI e NP dos grupos A e B , durante os 24 dias de experimentação.

Os gráficos 1, 2 3 e 4 mostram as médias e o erro padrão das médias do ganho de peso corporal periódico e acumulativo nos períodos estudados.

A análise de variância dos valores referentes ao ganho de peso corporal revelou que existe diferenças entre os grupos ao nível de 1% (Quadro 1a).

Entre os tratamentos em cada grupo, a análise de variância mostrou que tanto no grupo A quanto no B existem diferenças estatísticas significativas. Usando o teste de Tukey para detectar as diferenças entre os tratamentos, observou-se que NO x SI e NO x NP as diferenças são significativas ao nível de 1%, enquanto para SI x NP não foram significativas (Quadro 1.2).

Com relação à comparação de cada Tratamento entre os Grupos, nota-se que a diferença entre os NO e entre os NP é significativa ao nível de 1%, enquanto que entre os SI, é significativa ao nível de 5% (Quadros 1b, c, d e 1.1).

TABELA 1 - Peso, em gramas, dos ratos NO, SI e NP do Grupo A, em gaiolas metabólicas.

PERÍODOS								
Ratos Nº	Peso Inicial	I	II	III	IV	V	VI	
NO	1	66	82	109	138	146	177	200
	2	60	75	99	125	150	176	200
	3	75	100	125	149	170	191	210
	4	70	88	107	127	146	175	200
	5	72	96	135	165	192	224	252
	6	64	80	112	141	169	197	218
	7	69	80	96	122	142	171	197
	8	56	75	95	121	138	165	190
$\bar{x}$	66,50	84,50	109,75	136,00	156,63	184,50	208,38	
EPM	2,23	3,30	5,0	5,44	6,56	6,73	6,91	
SI	9	65	62	68	77	80	95	112
	10	61	61	69	86	103	123	136
	11	72	66	74	86	104	133	163
	12	64	63	63	74	84	96	110
	13	56	55	55	62	74	80	95
	14	70	69	80	105	114	130	155
	15	78	71	82	106	125	150	174
	16	64	65	75	94	106	122	144
$\bar{x}$	66,25	64,00	70,75	86,25	98,75	116,13	136,13	
EPM	2,42	1,76	3,16	5,38	6,26	8,30	9,93	
NP	17	72	70	75	94	111	127	147
	18	73	74	76	102	120	141	161
	19	73	75	78	101	118	138	162
	20	64	69	73	92	110	130	146
	21	65	66	73	92	110	130	148
	22	68	71	76	92	107	122	148
	23	64	64	70	85	103	121	140
	24	61	63	69	87	102	121	136
$\bar{x}$	67,50	69,00	73,75	93,13	110,13	128,75	148,50	
EPM	1,65	1,55	1,09	2,10	2,26	2,69	3,20	

Peso Inicial: peso correspondente ao início da experimentação (animais previamente adaptados às gaiolas metabólicas); Períodos: soma de 4 dias; as colunas I a VI correspondem aos pesos observados no último dia de cada período.

TABELA 2 - Peso, em gramas, dos ratos NO, SI e NP do Grupo B, em gaiolas metabólicas.

PERÍODOS								
Ratos		Peso						
Nº		Inicial	I	II	III	IV	V	VI
NO	1	68	78	87	97	114	131	141
	2	68	76	77	81	91	108	124
	3	63	80	99	113	128	149	167
	4	73	80	90	102	117	131	143
	5	77	81	97	108	127	141	152
	6	70	75	76	88	104	128	144
	7	60	67	80	97	114	134	148
	8	72	81	94	109	123	138	150
$\bar{x}$		68,87	77,25	87,50	99,5	114,75	132,50	146,75
EPM		1,83	1,66	3,18	3,90	4,38	4,22	4,26
SI	9	60	51	52	53	55	56	61
	10	68	67	73	79	87	102	111
	11	75	77	79	88	96	106	117
	12	80	66	66	67	67	72	80
	13	-	-	-	-	-	-	-
	14	70	70	76	85	94	105	115
	15	70	72	83	92	108	122	137
	16	64	70	80	93	108	118	128
$\bar{x}$		69,57	67,58	72,72	79,58	87,86	97,29	107,97
EPM		2,50	3,07	4,03	5,55	7,60	9,18	10,19
NP	17	74	63	65	62	66	71	73
	18	70	69	75	76	87	101	110
	19	68	68	76	83	94	111	124
	20	76	63	67	70	74	81	91
	21	59	-	-	-	-	-	-
	22	99	91	96	101	113	123	132
	23	51	65	67	75	86	102	109
	24	56	65	76	85	93	105	118
$\bar{x}$		70,57	69,15	74,58	78,86	87,58	99,15	108,14
EPM		5,87	3,74	3,99	4,70	5,70	6,68	7,63

Peso Inicial: peso correspondente ao início da experimentação (animais previamente adaptados às gaiolas metabólicas); Períodos: soma de 4 dias; as colunas I a VI correspondem aos pesos observados nos último dia de cada período.

TABELA 3 - Ganho de peso, em gramas, dos ratos NO, SI e NP do Grupo po A, em gaiolas metabólicas.

PERÍODOS								
Ratos								Ganho
Nº		I	II	III	IV	V	VI	Total
NO	1	16	27	29	8	31	23	134
	2	15	24	26	25	26	24	140
	3	25	25	24	21	21	19	135
	4	18	19	20	19	29	25	130
	5	24	39	30	27	32	28	180
	6	16	32	29	28	28	21	154
	7	11	16	26	20	29	26	128
	8	19	20	26	17	27	25	134
$\bar{x}$		18,00	25,25	26,25	20,63	27,88	23,88	141,88
EPM		1,64	2,64	1,14	2,27	1,19	1,00	6,13
SI	9	-3	6	9	3	15	17	47
	10	0	8	17	17	20	13	75
	11	-6	8	12	18	29	30	91
	12	-1	0	11	10	12	14	46
	13	-1	0	7	12	6	15	39
	14	-1	11	25	9	16	25	85
	15	-7	11	24	19	25	24	96
	16	1	10	19	12	16	22	80
$\bar{x}$		-2,25	6,75	15,50	12,50	17,38	20,00	69,88
EPM		1,01	1,58	2,40	1,89	2,55	2,17	7,94
NP	17	-10	5	19	17	16	20	75
	18	1	2	26	18	21	20	88
	19	2	3	23	17	20	24	89
	20	5	4	19	18	20	16	82
	21	1	7	19	18	20	18	83
	22	3	5	16	15	15	26	80
	23	0	6	15	18	18	19	76
	24	2	6	18	15	19	15	75
$\bar{x}$		1,5	4,75	19,38	17,00	18,63	19,75	81,00
EPM		0,73	0,58	1,26	0,45	0,75	1,31	1,96

As colunas I a VI correspondem ao ganho de peso observado ao fim de cada período de 4 dias. $\bar{x}$ = média dos grupos; EPM = erro padrão da média.

TABELA 4 - Ganho de peso acumulativo em gramas dos ratos NO, SI e NP do Grupo A em gaiolas metabólicas.

		PERÍODOS					
Ratos Nº		I	II	III	IV	V	VI
NO	1	16	43	72	80	111	134
	2	15	39	65	90	116	140
	3	25	50	74	95	116	135
	4	18	37	57	76	105	130
	5	24	63	93	120	152	180
	6	16	48	77	105	133	154
	7	11	27	53	73	102	128
	8	19	39	65	82	109	134
$\bar{x}$		18	43,25	69,5	90,125	118	141,87
EPM		1,647	3,774	4,437	5,668	5,891	6,135
SI	9	-3	3	12	15	30	47
	10	-0	8	25	42	62	75
	11	-6	2	14	34	61	91
	12	-1	-1	10	20	32	46
	13	-1	-1	6	18	24	39
	14	-1	10	35	44	60	85
	15	-7	4	28	47	72	96
	16	1	11	30	42	80	80
$\bar{x}$		-2,25	4,5	2,0	32,75	52,72	69,87
EPM		1,011	1,658	3,801	4,621	7,432	7,942
NP	17	-2	3	22	39	55	75
	18	-1	3	29	47	68	88
	19	2	5	28	45	65	89
	20	5	9	28	46	66	82
	21	1	8	27	45	65	83
	22	3	8	24	39	54	80
	23	0	6	21	39	57	76
	24	2	8	26	41	60	75
$\bar{x}$		1,25	6,25	25,625	42,625	61,25	81
EPM		0,795	0,838	1,051	1,223	1,925	1,963

Os valores indicados nas colunas I a VI correspondem ao ganho de peso acumulativo observado ao fim de cada período de 4 dias. $\bar{x}$ = média dos grupos; EPM = erro padrão da média.

TABELA 5 - Ganho de peso, em gramas, dos ratos NO, SI e NP do grupo B em gaiolas metabólicas.

		PERÍODOS						Ganho Total
Ratos		I	II	III	IV	V	VI	
Nº								
NO	1	10	9	10	17	17	10	73
	2	8	1	4	10	17	16	56
	3	17	19	14	15	21	18	104
	4	7	10	12	15	14	12	70
	5	4	16	12	18	14	11	75
	6	5	1	8	16	24	21	79
	7	7	13	17	17	20	14	88
	8	9	13	15	14	15	12	78
$\bar{x}$		8,38	10,25	11,50	15,25	17,75	14,25	77,88
EPM		1,41	2,30	1,46	0,88	1,27	1,34	4,92
SI	9	-9	1	1	2	1	5	1
	10	-1	6	6	8	15	9	43
	11	2	2	9	8	10	11	42
	12	-14	0	1	0	5	8	0
	13	-	-	-	-	-	-	-
	14	0	6	9	9	9	10	45
	15	2	11	9	16	14	15	67
	16	6	10	13	15	10	10	64
$\bar{x}$		-2,00	5,14	6,86	8,29	9,14	9,71	37,43
EPM		2,64	1,63	1,69	2,25	1,84	1,14	10,25
NP	17	-9	2	-3	4	5	2	-1
	18	-1	6	1	11	14	9	40
	19	0	8	7	11	17	13	56
	20	-13	4	3	4	7	10	15
	21	-	-	-	-	-	-	-
	22	-8	5	5	12	10	9	33
	23	-14	2	8	11	16	7	58
	24	-9	11	9	8	12	13	62
$\bar{x}$		-7,71	5,43	4,29	8,71	11,57	9,00	37,57
EPM		2,04	1,22	1,61	1,30	1,70	1,42	8,96

As colunas I a VI correspondem ao ganho de peso observado ao fim de cada período de 4 dias. $\bar{x}$ = média dos grupos; EPM = erro padrão da média.

TABELA 6 . Ganho de peso cumulativo em gramas de ratos NO, SI e NP do Grupo B em gaiolas metabólicas.

		PERIODOS					
Ratos							
Nº		I	II	III	IV	V	VI
NO	1	10	19	29	46	63	73
	2	8	9	13	23	40	56
	3	17	36	50	65	86	104
	4	7	7	29	44	58	70
	5	4	20	32	50	64	75
	6	5	6	18	34	58	79
	7	7	20	37	54	74	88
	8	9	22	37	51	66	78
$\bar{x}$		8.375	18.625	30.625	45.875	63.625	77.875
EPM		1.4133	3.195	4.084	4.158	4.698	4.926
SI	9	-9	-8	-7	-5	-4	1
	10	-1	5	11	19	34	43
	11	2	4	13	21	31	42
	12	-14	-14	-13	-13	-8	0
	13	-	-	-	-	-	-
	14	0	6	15	24	35	45
	15	2	13	22	38	52	67
	16	6	16	29	44	54	64
$\bar{x}$		-20	3.14	10.0	18.28	27.71	37.42
EPM		2.646	4.026	5.687	7.887	9.344	10.25
NP	17	-11	-9	-12	-8	-3	-1
	18	- 1	5	6	17	31	40
	19	0	8	15	26	56	56
	20	-13	-9	-6	-2	5	15
	21	-	-	-	-	-	-
	22	- 8	-3	2	14	24	33
	23	14	16	24	35	51	58
	24	9	20	29	37	49	62
$\bar{x}$		-1.42	4.0	8.28	17.0	30.42	37.57
EPM		3.835	4.376	5.736	6.548	8.768	8.970

Os valores indicados nas colunas I a VI correspondem ao ganho de peso acumulativo observado ao fim de cada período de 4 dias. $\bar{x}$ = média dos grupos ; EPM = erro padrão da média.

QUADRO 1 - GANHO DE PESO PERIÓDICO

a) Análise de variância relativa ao ganho de peso periódico entre os Grupos A e B.

Causas de Variação	GL	SQ	QM	F
Grupos	1	23660	23660	2199
Resíduo	44	47347	1076	
Total	45	71007		

b) Análise de variância relativa ao ganho de peso periódico entre os tratamentos NO ($NO_A \times NO_B$)

Causas de Variação	GL	SQ	QM	F
Grupos	1	16384	16384	6615
Resíduo	14	3469	284	
Total	15	19852		

c) Análise de variância relativa ao ganho de peso periódico entre os tratamentos SI ($SI_A \times SI_B$)

Causas de Variação	GL	SQ	QM	F
Grupos	1	3930	3930	643
Resíduo	13	7951	612	
Total	14	11881		

d) Análise de variância relativa ao ganho de peso periódico entre os tratamentos NP ($NP_A \times NP_B$)

Causas de Variação	GL	SQ	QM	F
Grupos	1	7041	7041	2547
Resíduo	13	3594	276	
Total	14	10635		

QUADRO 1.1 - TESTE DE TUKEY PARA COMPARAÇÃO DOS CONTRASTES ENTRE OS GRUPOS.

A			
NO	**	-	-
SI	-	*	-
NP	-	-	**
B			**

* - diferença significativa a 5%

** - diferença significativa a 1%

QUADRO 1.2 - GANHO DE PESO PERIÓDICO

- a) Análise de Variância relativa ao ganho de peso periódico entre os tratamentos do Grupo A.

Causas da Variação	GL	SQ	QM	F
Tratamentos	2	24036	12018	4308
Resíduo	21	5858	279	
Total	23	29894		

- b) Análise de variância relativa ao ganho de peso periódico entre os tratamentos do Grupo B.

Causas de Variação	GL	SQ	QM	F
Tratamentos	2	8299	4149	861
Resíduo	19	9154	482	
Total	21	17453		

- c) Teste de Tukey para a comparação dos contrastes entre os tratamentos do Grupo A.

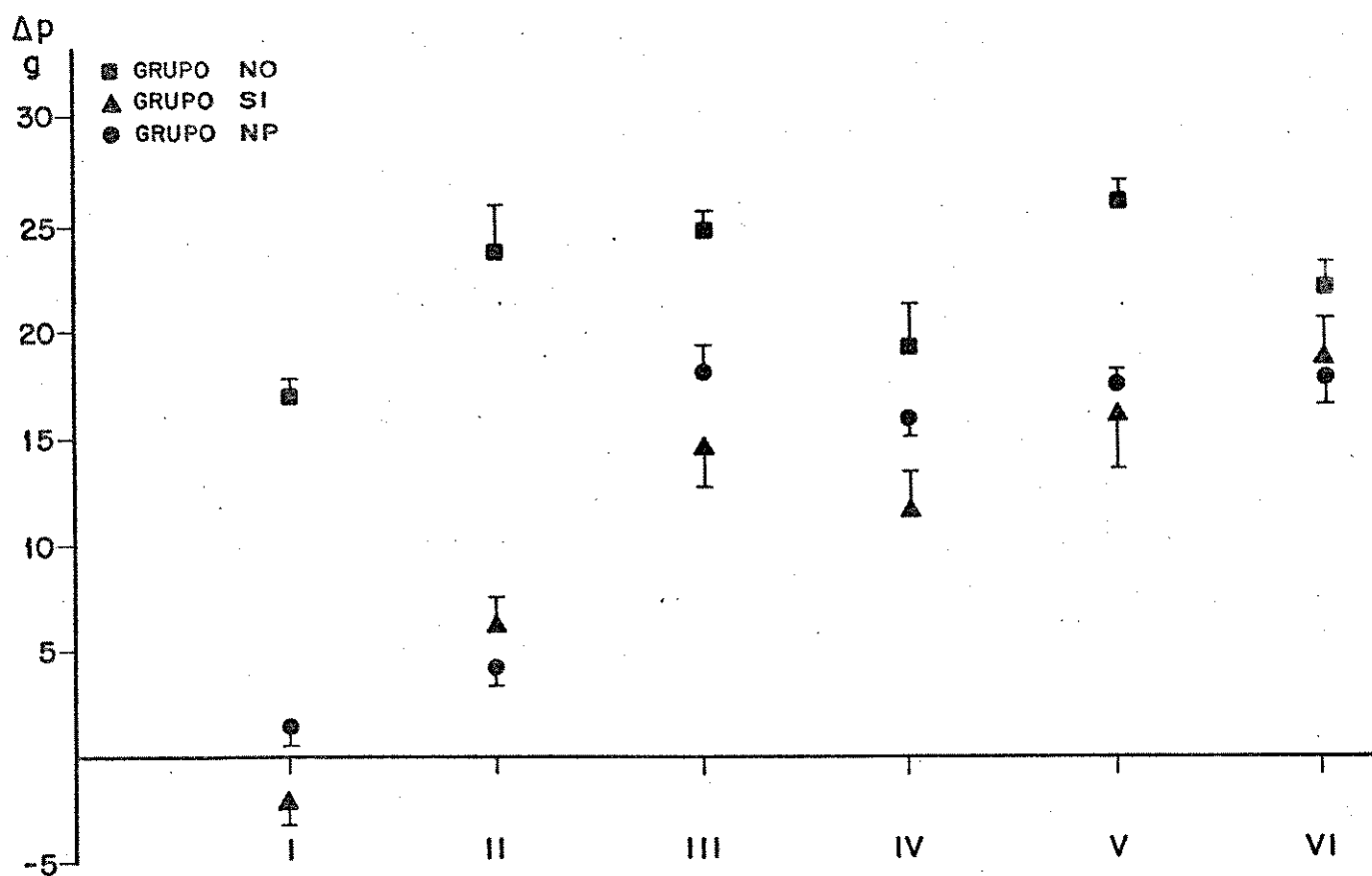
	SI	NO
NO	**	**
SI	-	NS

- d) Teste de Tukey para comparação dos contrastes entre os tratamentos do Grupo B.

	SI	NP
NO	**	**
SI	-	NS

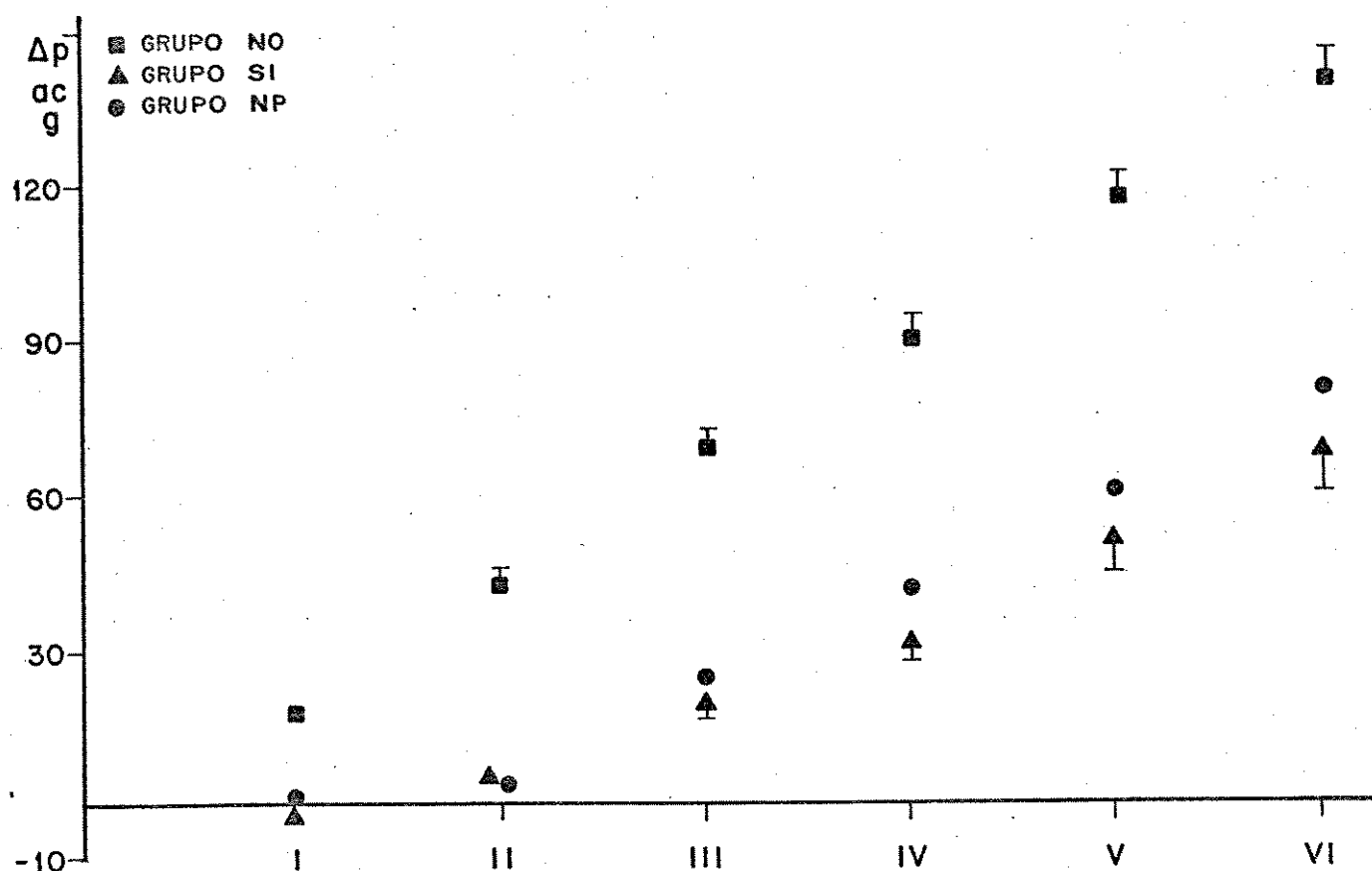
** - diferença significativa a 1%

NS - diferença não significativa a 5%



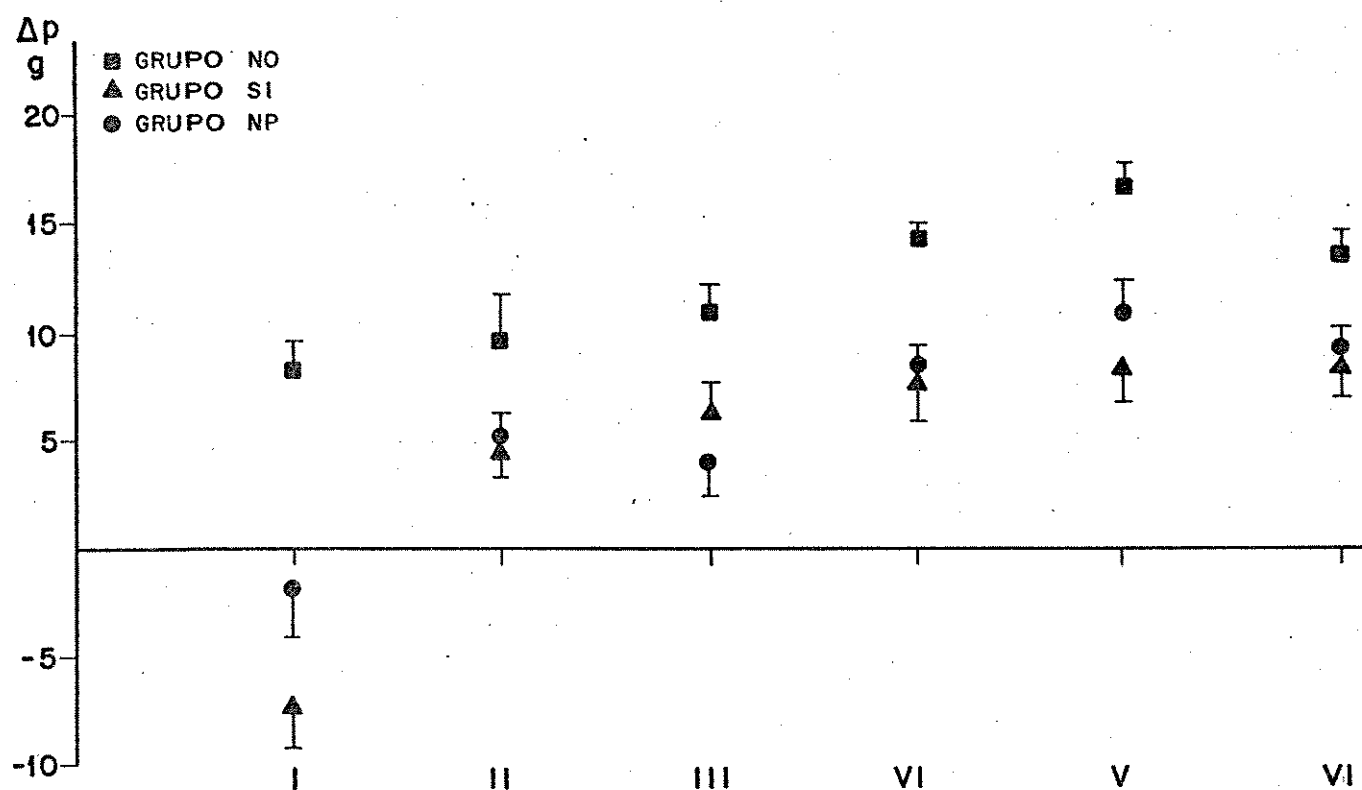
GRAF. 1 GANHO DE PESO CORPORAL DO GRUPO A.

Representação esquemática das médias e erro padrão das médias do ganho de peso corporal do Grupo A por período. I a VI = períodos.



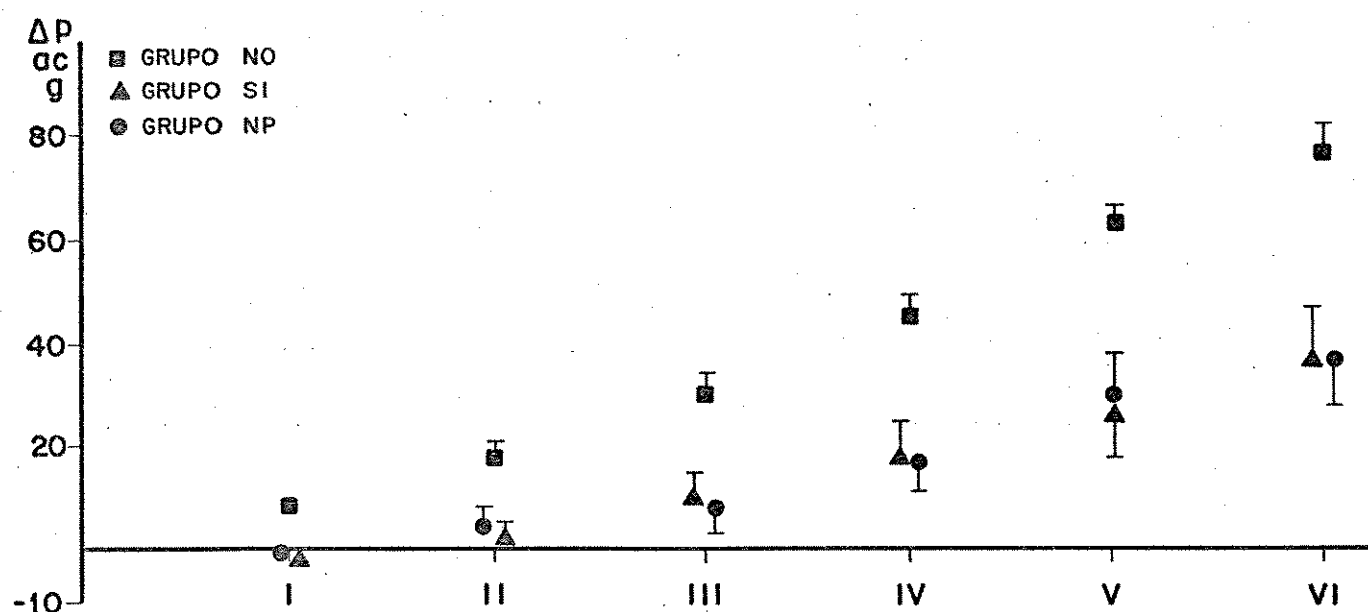
GRAF 2 GANHO DE PESO ACUMULATIVO DO GRUPO A.

Representação esquemática das médias e erro padrão das médias do ganho de peso acumulativo do Grupo A por período. I a VI = períodos.



GRAF. 3 GANHO DE PESO CORPORAL DO GRUPO B.

Representação esquemática das médias e erro padrão das médias do ganho de peso corporal do Grupo B por período. I a VI = períodos.



GRAF. 4 GANHO DE PESO ACUMULATIVO DO GRUPO B.

Representação esquemática das médias e erro padrão das médias do ganho de peso acumulativo do Grupo B por período. I a VI = períodos.

2. INGESTÃO DE DIETA

Nas Tabelas 7 e 8 são apresentados os resultados referentes à ingestão de dieta dos NO e dos SI dos Grupos A e B durante os 6 períodos de observação em gaiolas metabólicas e também a ingestão total de dieta durante esse período.

Os Gráficos 5 e 6 mostram as médias e os erros padrões das médias da ingestão de dieta em cada período.

A análise de variância e o teste de Tukey dos valores referentes à ingestão alimentar revelaram que não houve diferença estatística entre os grupos ao nível de 5% (Quadro 2a e d).

Nos tratamentos entre os grupos a análise de variância e o teste de Tukey demonstrou que entre os NO existe diferença significativa ao nível de 1% e entre os SI a diferença é não significativa a 5% (Quadro 2d).

Comparando-se os tratamentos em cada grupo pode-se observar no Grupo A uma diferença entre NO e SI significativa ao nível de 1% (Quadro 2.1a) e no grupo B a diferença entre NO e SI é significativa ao nível de 1% (Quadro 2.1b).

TABELA 7 - Ingestão de dieta, em gramas, dos ratos NO e SI do Grupo A em gaiolas metabólicas.

		PERÍODOS						Ingestão Total
Ratos		I	II	III	IV	V	VI	
Nº								
NO	1	38,5	51,5	59,9	57,6	70,3	59,9	337,7
	2	41,9	49,9	59,2	75,4	70,2	59,2	355,8
	3	49,0	48,6	57,6	60,5	52,8	57,6	326,1
	4	42,7	44,4	53,5	55,4	58,1	53,5	308,1
	5	55,8	67,4	71,1	80,8	85,1	71,1	431,3
	6	40,3	50,9	63,8	75,6	77,9	63,8	372,3
	7	40,9	42,0	51,9	64,0	67,6	51,9	318,3
	8	58,4	48,7	53,0	59,0	67,9	53,0	320,0
$\bar{x}$		43,44	50,49	58,75	66,04	68,74	58,75	346,20
EPM		2,12	2,66	2,26	3,44	3,59	2,26	14,26
SI	9	18,5	28,8	32,4	40,3	40,3	42,2	202,5
	10	20,7	28,8	40,3	49,4	46,8	47,2	253,2
	11	15,7	26,7	38,4	46,7	53,0	54,1	234,6
	12	17,3	20,8	31,5	37,4	38,6	34,6	180,2
	13	19,6	18,2	30,6	32,6	35,8	37,4	174,2
	14	20,8	34,0	46,1	45,9	45,8	50,9	243,5
	15	14,7	30,9	47,9	50,6	54,9	59,7	258,7
	16	18,2	51,9	42,1	44,4	47,6	48,8	233,0
$\bar{x}$		18,19	27,51	38,66	43,40	45,35	46,86	219,99
EPM		0,78	1,92	2,35	2,18	2,38	2,98	10,85

Os valores indicados nas colunas I a VI correspondem à quantidade de dieta ingerida durante 4 dias de cada período. A soma destas quantidades corresponde à ingestão total durante a experimentação em gaiolas metabólicas. Os animais NP receberam uma quantidade de dieta igual à consumida pelos ratos SI. $\bar{x}$ = média dos grupos; EPM = erro padrão.

TABELA 8 . Ingestão de dieta, em gramas dos ratos NO e SI do Grupo B em gaiolas metabólicas.

Ratos								Ingestão
Nº		I	II	III	IV	V	VI	Total
NO	1	46,5	44,3	45,4	49,8	53,8	54,7	294,50
	2	35,7	27,7	28,8	32,9	45,0	51,8	221,90
	3	48,3	54,8	53,1	55,3	61,5	60,5	333,50
	4	36,5	41,2	43,1	45,2	60,0	49,2	275,20
	5	35,5	46,5	47,1	55,1	53,8	58,3	296,30
	6	34,0	27,2	34,0	58,3	65,7	60,4	279,60
	7	30,8	40,7	41,8	48,2	60,2	57,4	279,10
	8	40,2	42,9	49,1	49,4	53,0	50,7	285,30
$\bar{x}$		38,43	40,67	42,89	49,28	56,63	55,38	283,18
EPM		2,16	3,27	2,81	2,79	2,29	1,56	10,92
SI	9	12,7	16,9	17,8	16,8	21,7	22,9	108,80
	10	27,3	30,8	31,6	37,3	44,4	41,5	212,90
	11	29,8	29,3	35,1	39,2	46,2	47,1	226,70
	12	11,5	18,7	26,2	22,3	25,3	31,6	135,60
	13	-	-	-	-	-	-	-
	14	30,7	34,5	37,2	38,8	41,3	41,5	224,00
	15	28,6	37,9	42,1	47,9	54,5	55,4	266,30
	16	35,5	37,2	42,7	47,2	43,4	47,5	253,50
$\bar{x}$		25,15	29,33	33,25	35,65	39,53	41,07	203,97
EPM		3,50	3,20	3,37	4,47	4,43	4,08	22,39

Os valores indicados nas colunas I a VI correspondem à quantidade de dieta ingerida durante os 4 dias de cada período. A soma destas quantidades corresponde à ingestão total durante a experimentação em gaiolas metabólicas. Os animais NP receberam uma quantidade de dieta igual a consumida pelos ratos SI. $\bar{x}$ = média dos grupos; EPM = erro padrão da média.

QUADRO 2 - INGESTÃO DE DIETA

a) Análise de variância relativa à ingestão alimentar entre os grupos A e B.

Causas de Variação	GL	SQ	QM	F
Grupo	1	23660	23660	2199
Resíduo	44	47347	1076	
Total	45	71007		

b) Análise de variância relativa à ingestão alimentar entre os tratamentos do grupo A.

Causas de Variação	GL	SQ	QM	F
Tratamentos	1	61219	61219	4541
Resíduo	14	18873	1348	
Total	15	80092		

c) Análise de variância relativa à ingestão alimentar entre os tratamentos do grupo B.

Causas de Variação	GL	SQ	QM	F
Tratamentos	1	23530	23530	1096
Resíduo	13	27905	2146	
Total	14	51436		

d) Teste de Tukey para comparação dos contrastes entre os grupos

	NO	SI	A
NO	**	-	-
SI	-	NS	-
B			NS

** - diferença significativa a 1%

NS - diferença significativa a 5%

QUADRO 2.1 - INGESTÃO DE DIETA

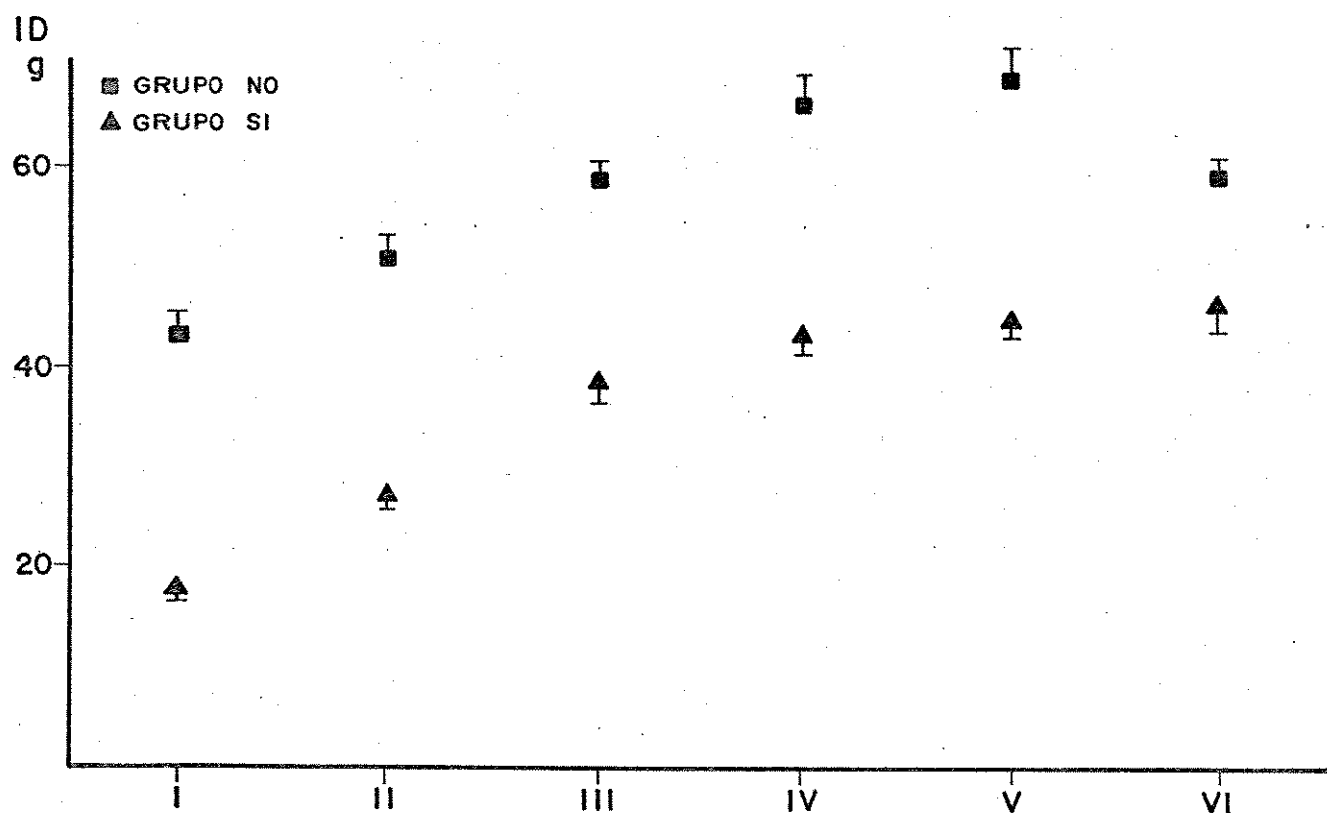
- a) Teste de Tukey para comparação dos contrastes entre os tratamentos do Grupo A.

A	SI
NO	**

- b) Teste de Tukey para comparação dos contrastes entre os tratamentos do Grupo B.

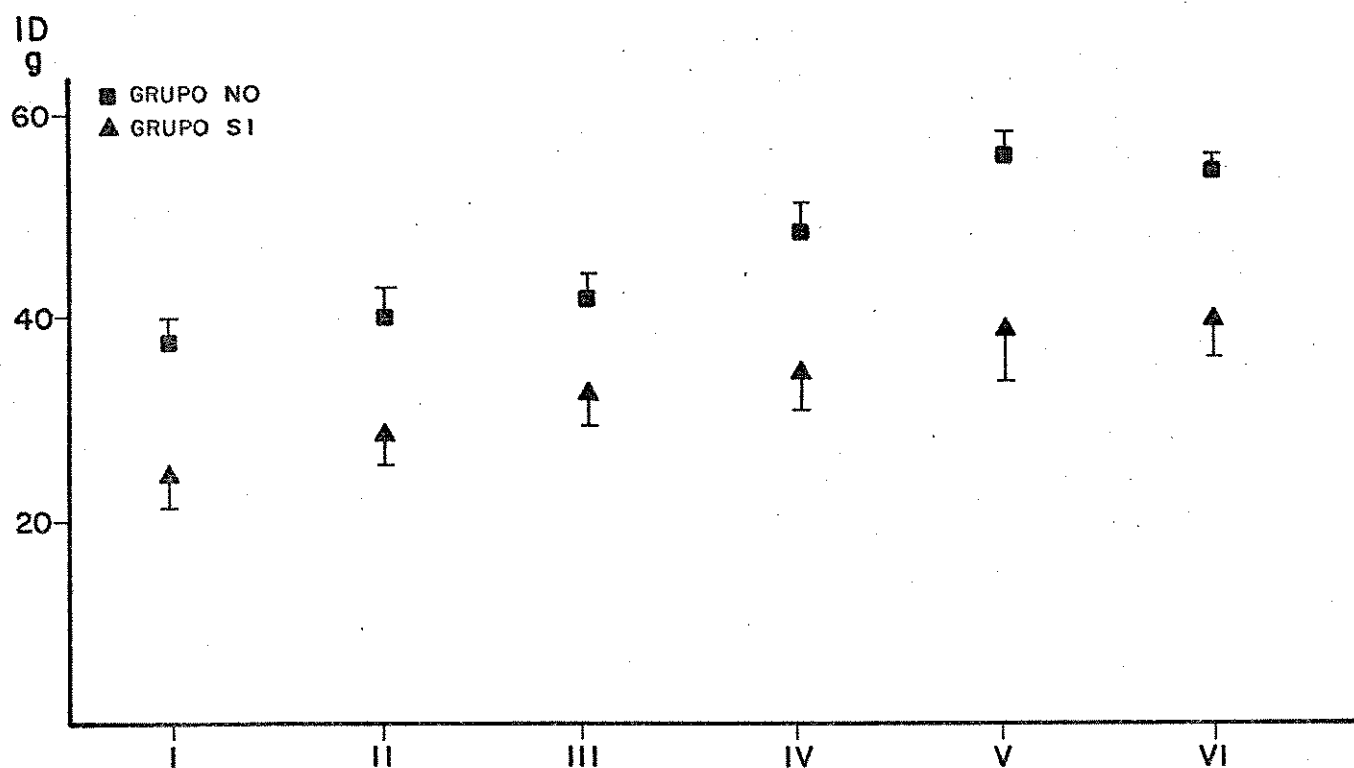
B	SI
NO	**

** - diferença significativa a 1%.



GRAF. 5 INGESTÃO DE DIETA DO GRUPO A.

Representação esquemática das médias e erro padrão da média da ingestão de dieta do Grupo A por período. I a VI = períodos.



GRAF. 6 INGESTÃO DE DIETA DO GRUPO B.

Representação esquemática das médias e erro padrão da média da ingestão da dieta do Grupo B por período.

3. PESO E DIMENSÕES TESTICULARES

Nas Tabelas 9 e 10 pode-se observar os resultados referentes aos pesos bem como as dimensões longitudinais e transversais dos testículos dos ratos NO, SI e NP dos Grupos A e B.

A análise de variância e também o teste de Tukey dos valores referentes aos pesos testiculares revelaram diferença estatística entre os grupos, significativa ao nível de 1% (Quadro 3a e 3.1c).

Entre os tratamentos inter-grupos a análise de variância e o teste de Tukey dos pesos testiculares, demonstraram haver diferenças estatísticas entre os NO ao nível de 1% enquanto que entre os SI e os NP essas diferenças são significativas a 5% (Quadros 3b e 3c, 3d e 3.1c).

Quanto ao resultado referente aos pesos testiculares entre tratamentos em cada grupo, a análise de variância e o teste de Tukey revelaram que entre NO e SI, NO e NP e SI e NP do Grupo A a diferença é não significativa a 5% entre os tratamentos do Grupo B a análise de variância e o teste de Tukey mostraram que entre NO e SI há uma diferença estatística significativa ao nível de 5% enquanto que entre NO e NP e SI e NP a diferença é não significativa ao mesmo nível (Quadros 3.1a, 3.1b e 3.1d₁ e d₂).

As análises estatísticas dos resultados referentes às dimensões longitudinais entre os grupos demonstraram uma diferença significativa ao nível de 1% (Quadro 3.2a e 3.3c).

Comparando-se os tratamentos entre os grupos, a

análise de variância e o teste de Tukey evidenciaram que os NO e os NP apresentam uma diferença entre si não significativa a 5% enquanto que os SI apresentam uma diferença estatística significativa ao nível de 5% (Quadros 3.2a, b e c).

No Grupo A a aplicação da análise de variância e do teste de Tukey entre os tratamentos demonstraram que a diferença é não significativa a 5% (Quadro 3.3a e d_1 enquanto sua aplicação entre os tratamentos do Grupo B mostram que entre os NO e NP e SI e NP existe uma diferença não significativa a 5%, entretanto entre os NO e SI a diferença é significativa ao nível de 5% (Quadro 3.3b e d_2).

A análise de variância e o teste de Tukey dos resultados referentes às dimensões transversais entre os Grupos revelou uma diferença significativa ao nível de 1% (Quadro 3.4 e 3.5c). A análise de variância e o teste de Tukey de cada tratamento, demonstraram que existe uma diferença entre os NO e entre os NP significativa ao nível de 1% enquanto que entre os SI é significativa a 1% (Quadros 3.3b, c, d e 3.5c).

Entre os tratamentos, em cada grupo, as mesmas análises revelaram no Grupo A uma diferença não significativa a 5% entre NO e NP e SI e NP e entre NO e SI a diferença é significativa ao nível de 5%. No Grupo B a diferença entre NO e NP e SI e NP é não significativa a 5%, enquanto que NO e SI há uma diferença significativa a 1%. (Quadros 3.5a, b, d e d_2).

TABELA 9 - Peso, em miligramas, e medidas, em milímetros, dos testículos esquerdos dos ratos NO, SI e NP do Grupo A.

Ratos NO nº	Peso		DIMENSÕES		Ratos SI nº	Peso	DIMENSÕES		Ratos NP nº	Peso	DIMENSÕES	
	Long.	Transv.	Long.	Transv.			Long.	Transv.			Long.	Transv.
1	1,1715	1,85	1,09	0,97	9	0,8486	1,69	0,97	17	1,1475	1,78	1,12
2	0,9751	1,62	1,09	11,06	10	0,8983	1,66	11,06	18	1,0695	1,77	1,08
3	1,2467	1,95	1,09	1,10	11	1,1188	1,89	1,10	19	1,1251	1,87	1,07
4	1,2093	1,84	1,17	1,04	12	0,9348	1,72	1,04	20	1,1697	1,85	1,11
5	1,2488	1,90	1,13	0,94	13	0,6785	1,52	0,94	21	1,0140	1,69	1,06
6	1,0260	1,74	1,09	1,08	14	1,0921	1,83	1,08	22	1,0205	1,67	1,09
7	1,1064	1,82	1,13	1,11	15	1,1855	1,85	1,11	23	0,8660	1,65	0,99
8	0,9879	1,76	1,08	1,06	16	1,0374	1,79	1,06	24	0,7656	1,66	1,02
$\bar{x}$	1,1215	1,81	1,11	1,05	$\bar{x}$	0,9743	1,74	1,05	$\bar{x}$	1,0222	1,74	1,07
EPM	0402	0,0362	0,010	0,021	EPM	0,0588	0,042	0,021	EPM	0,050	0,030	0,015

$\bar{x}$ - Medida dos grupos,

EPM - Erro padrão da média.

TABELA 10 - Peso em miligramas, e medidas em milímetros, dos testículos esquerdos dos ratos NO, SI e NP do grupo B.

Ratos NO nº	Peso	DIMENSÕES		Ratos SI nº	Peso	DIMENSÕES		Ratos NP nº	Peso	DIMENSÕES	
		Long.	Transv.			Long.	Transv.			Long.	Transv.
1	0,9796	1,81	1,07	9	0,3912	1,33	0,78	17	0,7105	1,54	0,96
2	0,8820	1,69	1,05	10	0,8570	1,69	0,93	18	0,8254	1,72	0,96
3	0,9584	1,75	1,06	11	0,9319	1,74	1,02	19	0,8264	1,65	0,96
4	1,0585	1,87	1,08	12	0,7380	1,58	0,95	20	0,8996	1,75	1,01
5	0,9576	1,78	1,04	13	-	-	-	21	-	-	-
6	0,8045	1,66	1,02	14	0,6839	1,47	0,95	22	0,9680	1,72	1,01
7	0,8436	1,63	0,96	15	0,5851	1,51	0,87	23	0,7502	1,51	0,93
8	0,9300	1,71	1,05	16	0,8592	1,68	0,99	24	0,9432	1,65	1,01
$\bar{x}$	0,9268	1,75	1,04	$\bar{x}$	0,7209	1,57	0,93	$\bar{x}$	0,8461	1,65	0,98
EPM	0,0286	0,0286	0,013	EPM	0,0708	0,054	0,030	EPM	0,0363	0,0347	0,0120

$\bar{x}$ = Média do grupo

PM. = Erro padrão da média

QUADRO 3 - PESOS E DIMENSÕES TESTICULARES

a) Análise de variância relativa aos pesos testiculares entre os Grupos A e B.

Causas de Variação	GL	SQ	QM	F
Grupo	1	0.4762	0.4762	21.22
Resíduo	44	0.9874	0.0224	
Total	45	1.4636		

b) Análise de variância relativa aos pesos testiculares entre os tratamentos NO ($NO_A \times NO_B$)

Causas de Variação	GL	SQ	QM	F
Grupo	1	0.15161	0.15161	15.53
Resíduo	14	0.13670	0.00976	
Total	15	0.28831		

c) Análise de variância relativa aos pesos testiculares entre os tratamentos SI ($SI_A \times SI_B$).

Causas de Variação	GL	SQ	QM	F
Grupo	1	0.2396	0.2396	7.69
Resíduo	13	0.4050	0.0312	
Total	14	0.6446		

d) Análise de variância relativa aos pesos testiculares entre os tratamentos NP ($NP_A \times NP_B$).

Causas de Variação	GL	SQ	QM	F
Grupo	1	0.1157	0.1157	7.67
Resíduo	13	0.1961	0.0151	
Total	14	0.3119		

QUADRO 3.1 - PESOS E DIMENSÕES TESTICULARES

a) Análise de variância relativa aos pesos testiculares entre os tratamentos do Grupo A.

Causas de Variação	GL	SQ	QM	F
Tratamentos	2	0.0902	0.0451	2.23
Resíduo	21	0.4253	0.0203	
Total	23	0.5155		

b) Análise de variância relativa aos pesos testiculares entre os tratamentos do Grupo B.

Causas de Variação	GL	SQ	QM	F
Tratamentos	2	0.1594	0.0797	4.85
Resíduo	19	0.3125	0.0164	
Total	21	0.4719		

c) Teste de Tukey para comparação dos contrastes entre os grupos.

	NO	SI	NP	A
NO	**	-	-	
SI	-	*	-	
NP	-	-	*	
B				**

d) CONT.

d) Teste de Tukey para comparações dos contrastes entre os tratamentos do Grupo A(d_1) e entre os tratamentos do Grupo B(d_2)

d_1		
	SI	NP
NO	NS	NS
SI	-	NS

d_2		
	SI	NP
NO	*	NS
SI	-	NS

** - diferença significativa a 1%

* - diferença significativa a 5%

NS - diferença não significativa a 5%.

CONT.

d) Análise de variância relativa às dimensões longitudinais testiculares entre os tratamentos NP ($NP_A \times NP_B$).

Causas de Variação	GL	SQ	QM	F
Grupo	1	0.03294	0.03294	4.08
Resíduo	13	0.10484	0.00806	
Total	14	0.13777		

CONT.

d) Teste de Tukey para comparação dos contrastes entre os tratamentos do Grupo A (d_1) e os tratamentos do Grupo B (d_2)

d_1)

	SI	NP
NO	NS	NS
SI	-	NS

d_2)

	SI	NP
NO	*	NS
SI	-	NS

** - diferença significativa a 1%

* - diferença significativa a 5%

NS - diferença não significativa a 5%

QUADRO 3.3 - PESOS E DIMENSÕES TESTICULARES

a) Análise de variância relativa às dimensões longitudinais testiculares entre os tratamentos do Grupo A.

Causas de Variação	GL	SQ	QM	F
Tratamentos	2	0.0239	0.0119	1.09
Resíduo	21	0.2299	0.0109	
Total	23	0.2539		

b) Análise de variância relativa às dimensões longitudinais testiculares entre os tratamentos do Grupo B.

Causas de Variação	GL	SQ	QM	F
Tratamentos	1	0.1171	0.0585	4.95
Resíduo	19	0.2247	0.0118	
Total	21	0.3418		

c) Teste de Tukey para comparação dos contrastes entre os grupos.

	NO	SI	NP	A
NO	NS	-	-	
SI	-	*	-	
NP	-	-	NS	
B				**

QUADRO 3.4 - PESOS E DIMENSÕES TESTICULARES

a) Análise de variância relativa às dimensões transversais testiculares entre os grupos A e B.

Causas de Variação	GL	SQ	QM	F
Grupo	1	0.09134	0.09134	24.11
Resíduo	44	0.16671	0.00379	
Total	45	0.25805		

b) Análise de variância relativa às dimensões transversais testiculares entre os tratamentos NO ($NO_A \times NO_B$)

Causas de Variação	GL	SQ	QM	F
Grupo	1	0.01822	0.01822	15.21
Resíduo	14	0.01677	0.00120	
Total	15	0.03500		

c) Análise de variância relativa às dimensões transversais testiculares entre os tratamentos SI ($SI_A \times SI_B$).

Causas de Variação	GL	SQ	QM	F
Grupo	1	0.05186	0.05186	10.51
Resíduo	13	0.06414	0.00493	
Total	14	0.11600		

CONT.

d) Análise de variância relativa às dimensões transversais testiculares entre os tratamentos $NP(NP_A \times NP_B)$.

Causas de Variação	GL	SQ	QM	F
Grupo	1	0.03048	0.03048	19.92
Resíduo	13	0.01989	0.00153	
Total	14	0.05037		

QUADRO 3.5. PESOS E DIMENSÕES TESTICULARES

- a) Análise de variância relativa às dimensões transversais entre os tratamentos do Grupo A.

Causas de Variação	GL	SQ	QM	F
Tratamento	2	0.01672	0.00836	3.81
Resíduo	21	0.04604	0.00219	
Total	23	0.06276		

- b) Análise de variância relativa às dimensões transversais entre os tratamentos do Grupo B.

Causas de Variação	GL	SQ	QM	F
Tratamento	2	0.0417	0.02459	8.5
Resíduo	19	0.05477	0.002883	
Total	21	0.10395		

- c) Teste de Tukey para comparação dos contrastes entre os grupos.

	NO	SI	NP	A
NO	**	—	—	
SI	—	**	—	
NP	—	—	**	
B				**

CONT.

d) Teste de Tukey para comparação dos contrastes entre os tratamentos do Grupo A (d_1) e os tratamentos do Grupo B.

d_1)

	SI	NP
NO	*	NS
SI	-	NS

d_2)

	SI	NP
NO	**	NS
SI	-	NS

** - diferença significativa a 1%

* - diferença significativa a 5%

NS - diferença não significativa a 5%.

HISTOLOGIA

Dieta 17,5% proteína

Em todos os tratamentos observa-se aspectos de normalidade do material examinado. Nos túbulos seminíferos a espermatogênese apresenta estadiamento característico para a espécie e compatível com a idade, notando-se frequentemente os estádios I e II, VII, VIII e XIV (Figs 1, 2 e 3).

Na luz dos túbulos epididimários nota-se numerosos espermatozóides (Figs 4, 5 e 6).

As células de Leydig apresentam-se qualitativamente normais.

Dieta 10% proteína

TRATAMENTO (NO)

O epitélio seminífero apresenta aspectos que variam desde a normalidade, normalidade com atraso da espermatogênese e, raramente, alterações qualitativas moderadas (Fig. 7).

No epidídimo, a luz dos túbulos, mostra-se repleto de espermatozóides (Fig.12).

As células de Leydig apresentam-se qualitativamente normais.

TRATAMENTO (SI)

O epitélio germinativo apresenta estadiamento alterado, revelando atraso da espermatogênese além de alterações celulares, tais como, hipercromatose, picnose, apagamento dos limites celulares e células bi ou multinucleadas (Fig. 8, 9).

No epidídimo nota-se raros espermatozóides, material amorfo e grande quantidade de células degeneradas, descamadas do epitélio seminífero (Fig. 13).

As células de Leydig apresentam aparente hipertrofia.

TRATAMENTO (NP)

O estudo histológico do material deste tratamento mostra alterações celulares semelhantes às encontradas no tratamento SI. Nota-se hipercromatose, picnose e células bi ou multinucleadas.

São vistos raros espermatozóides nos túbulos epididimários, além de células germinativas imaturas.

As células de Leydig apresentam aspectos de normalidade.

FIGURAS 1, 2, 3. Testículo de ratos NO (1), SI (2) e NP (3), do Grupo A. Túbulos seminíferos apresentam do epitélio germinativo normal. Estádios I (seta A), VII-VIII (seta B) e XIV (seta C), mais características da espermatogênese da espécie presentes (HE - 200x).

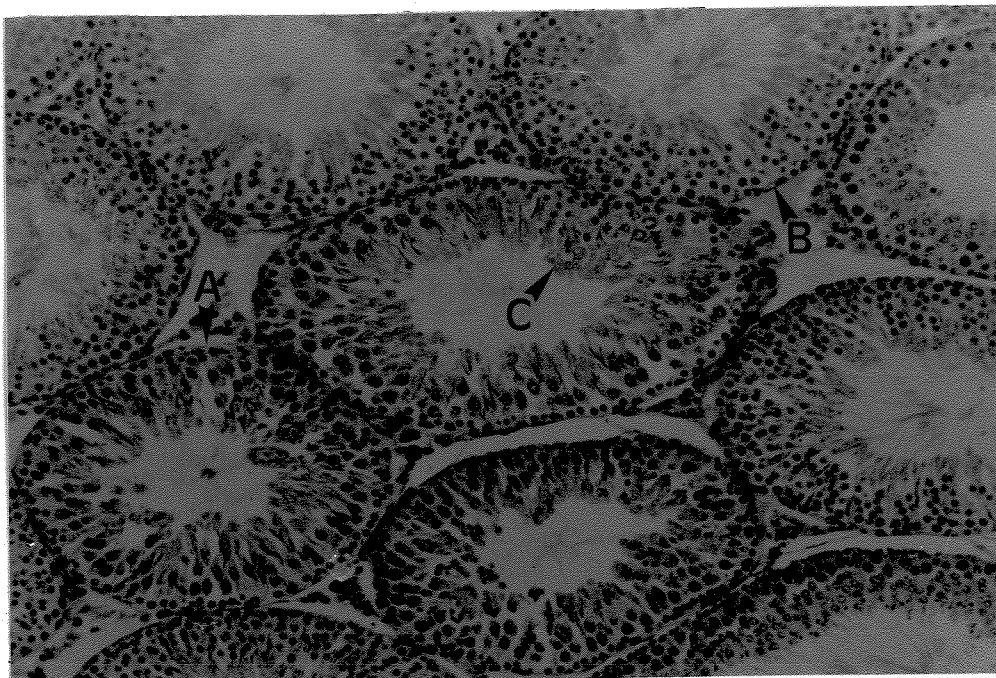


FIG. 01

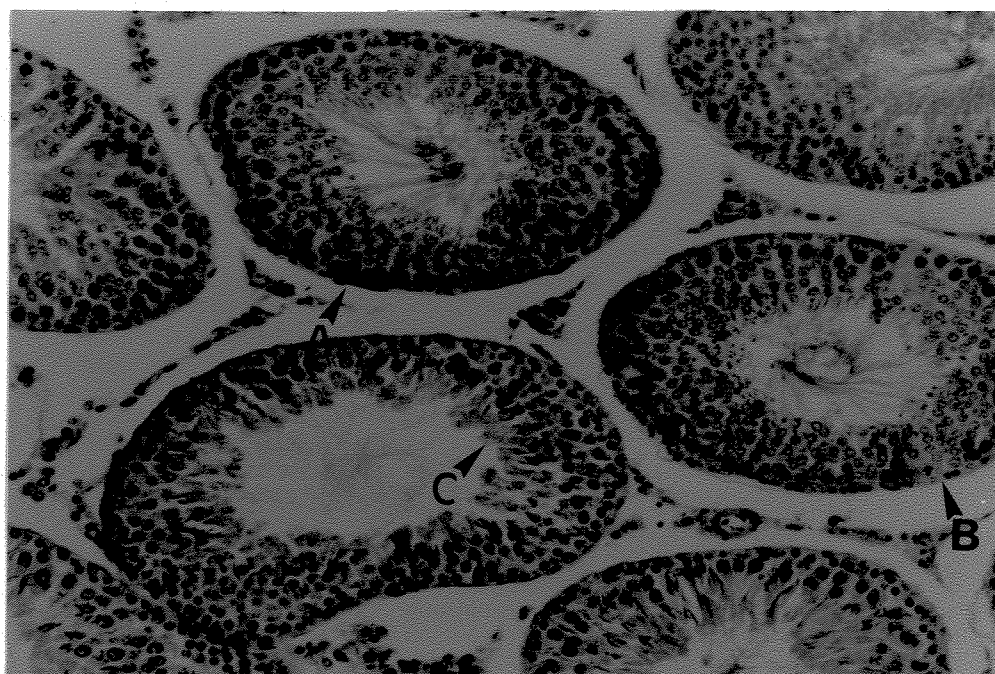


FIG. 02

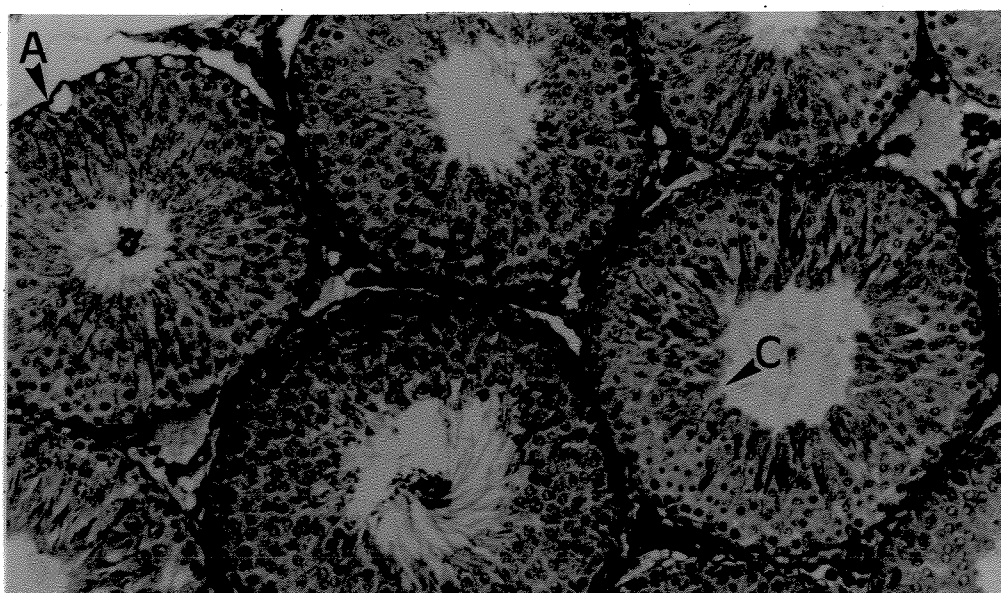


FIG. 03

FIGURAS 4, 5 e 6. Epidídimo de ratos NO (4), SI (5) e NP (3), do grupo A. Túbulos epididimários em vários planos de corte repletos com massas de espermatozóides. (HE - 200x).

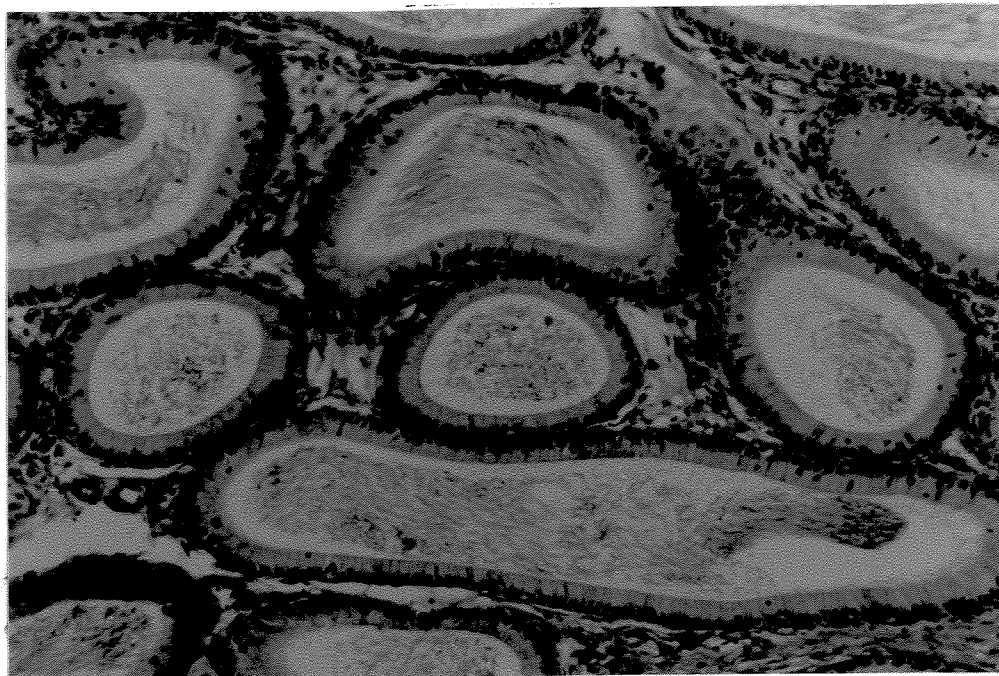


FIG. 04

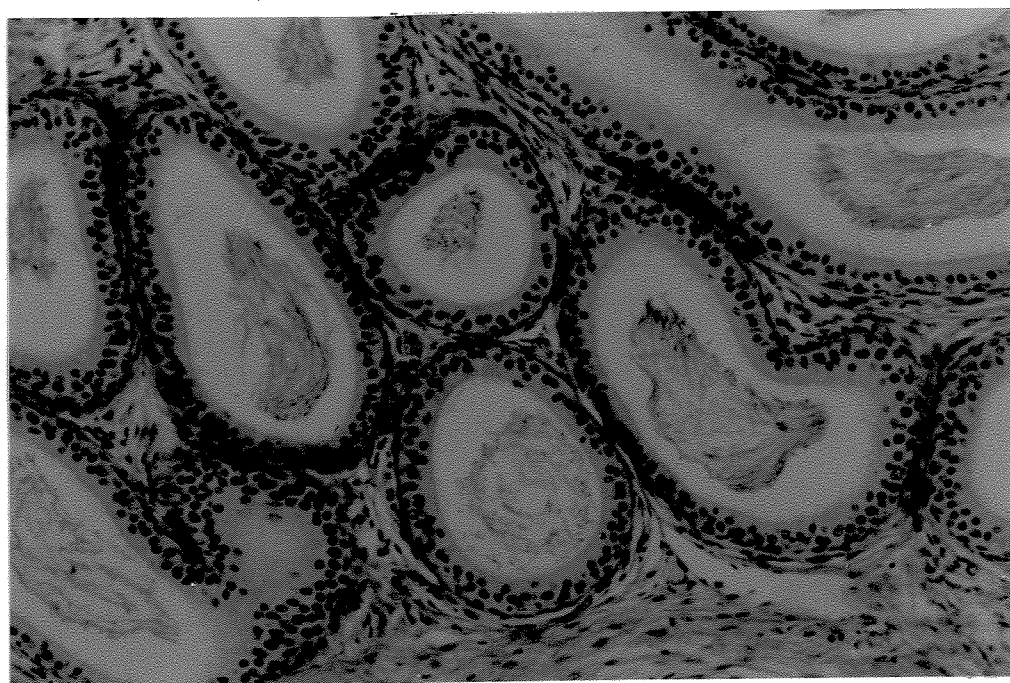


FIG. 05

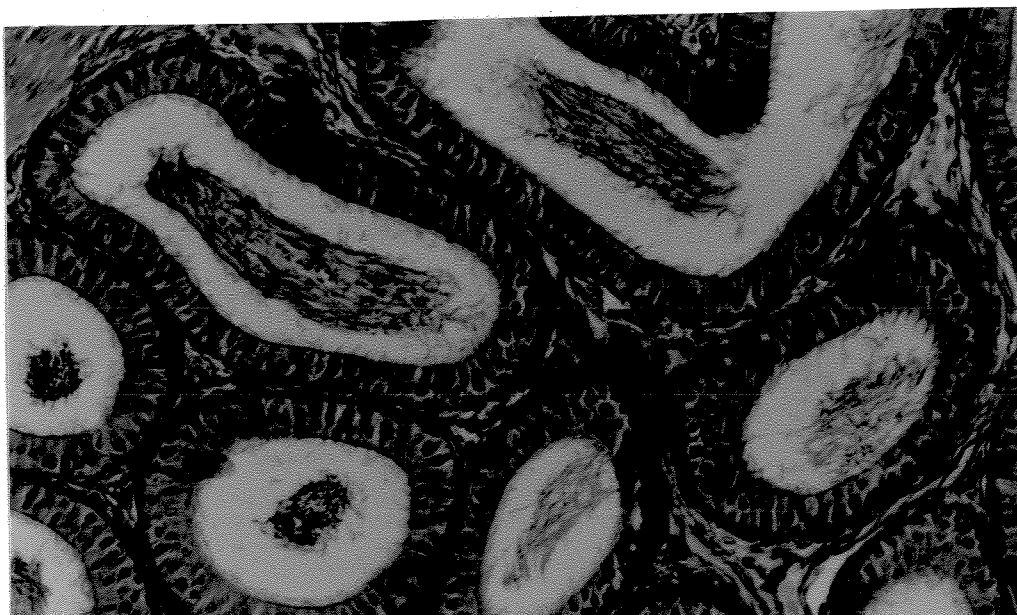


FIG. 06

FIGURA 7. Testículos de ratos NO do Grupo B. Túbulos seminíferos com aparente atraso de espermatogênese, traduzido por ausência dos estádios I e VII-VIII. Estádio XIV presente (seta) (HE - 200x).

FIGURA 8. Testículos de ratos SI do Grupo B. Túbulos seminíferos com aparente atraso da espermatogênese traduzido por ausência dos estádios I e VII-VIII. Estádio XIV presente (seta A) e células hipercromáticas (seta B). (HE 200x).

FIGURA 9. Testículos de ratos SI do Grupo B com células hipercromáticas (seta A) e células multinucleadas (seta B). (HE 500x).

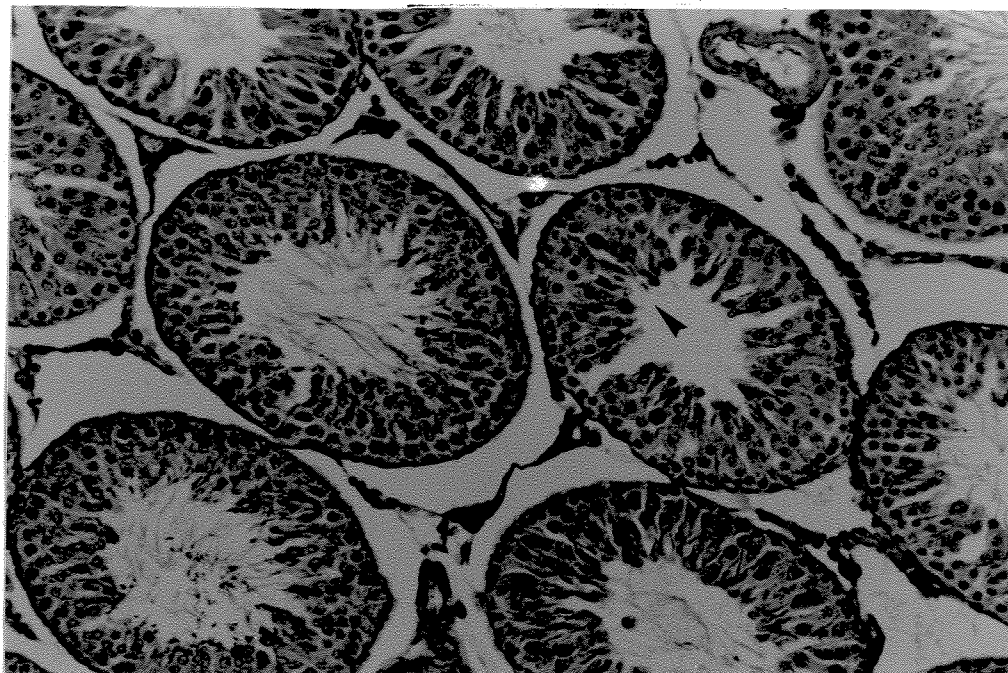


FIG. 07

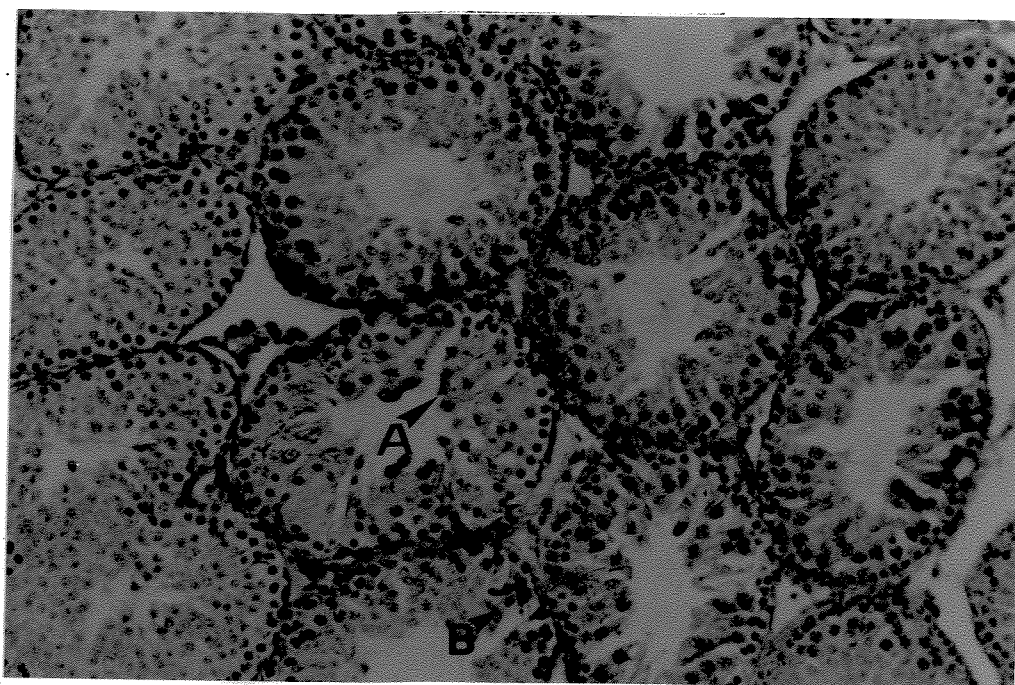


FIG. 08

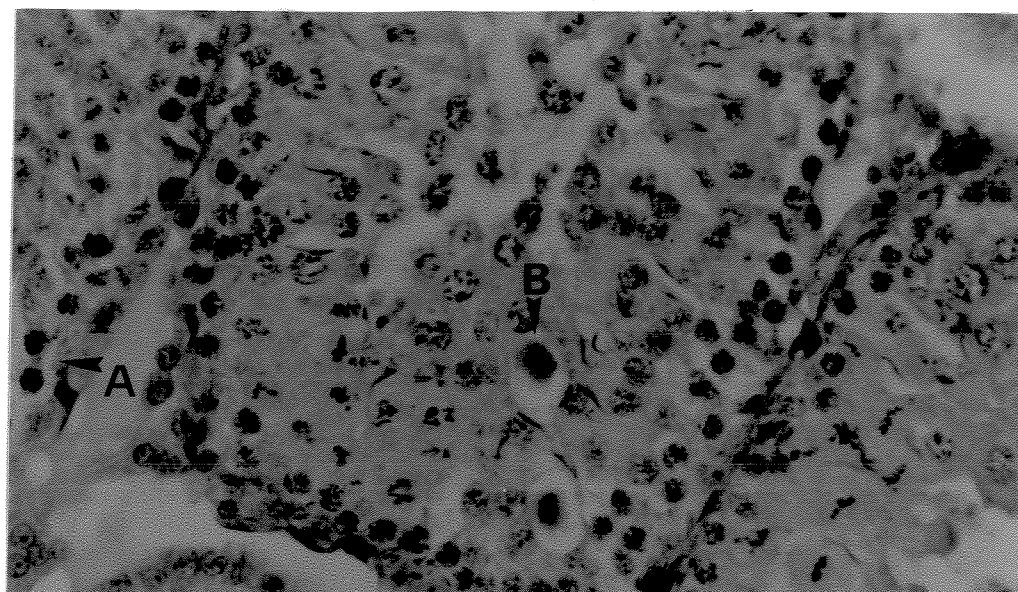


FIG. 09

FIGURA 10. Testículos de ratos NP do Grupo B. Túbulos seminíferos com aparente atraso da espermatogênese traduzido por ausência dos estádios I e VII-VIII. Estádios XIV presente (seta A) e células hipercromáticas (seta B). (HE 200x).

FIGURA 11. Testículos de ratos NP do Grupo B com células hipercromáticas (seta A) e células multinucleadas (seta B). (HE 500x).

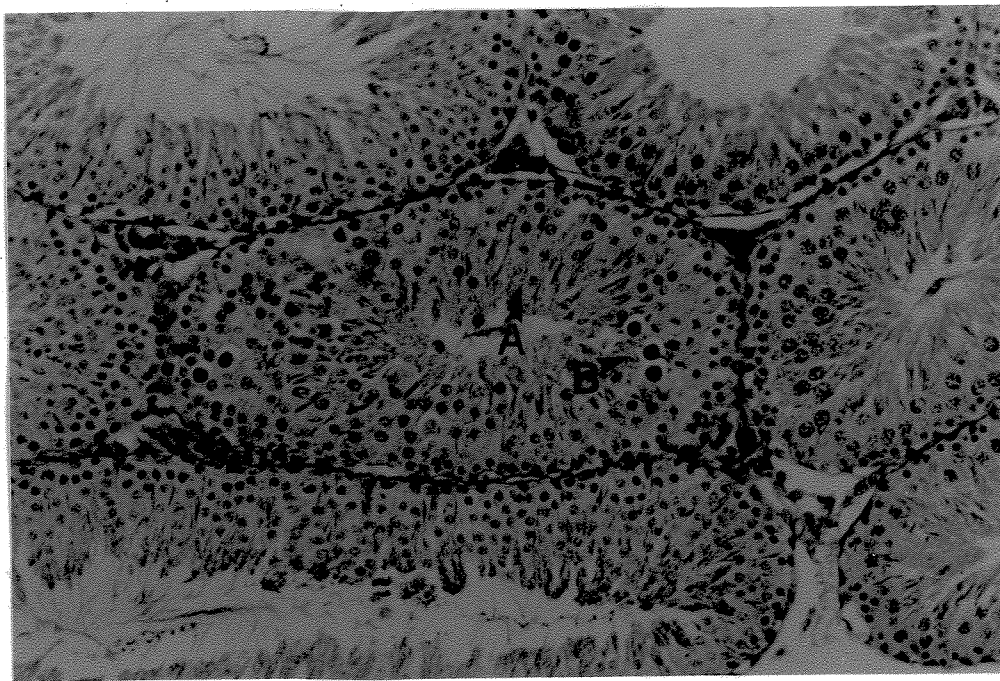


FIG. 10

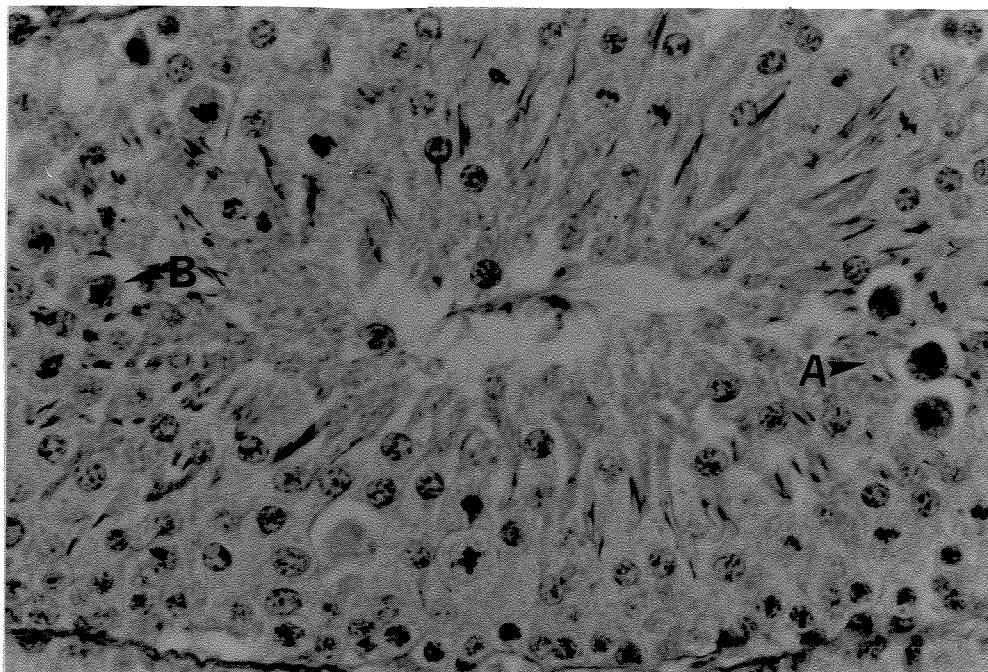


FIG. 11

FIGURA 12. Corte histológico de epidídimo de ratos NO do Grupo B com 54 dias de idade. Túbulos epididimários em vários planos repletos com massas de espermatozóides. (HE 200x).

FIGURA 13. Corte histológico de epidídimo de ratos SI do Grupo B com 54 dias de idade. Túbulos epididimários em vários planos de corte apresentando ausência de massas de espermatozóides e com células imaturas descamadas (HE 200x).

FIGURA 14. Corte histológico de epidídimo de ratos NP do Grupo B com 54 dias de idade. Túbulos epididimários em vários planos de corte apresentando ausência de massas de espermatozóides e com células imaturas descamadas. (HE 200x).

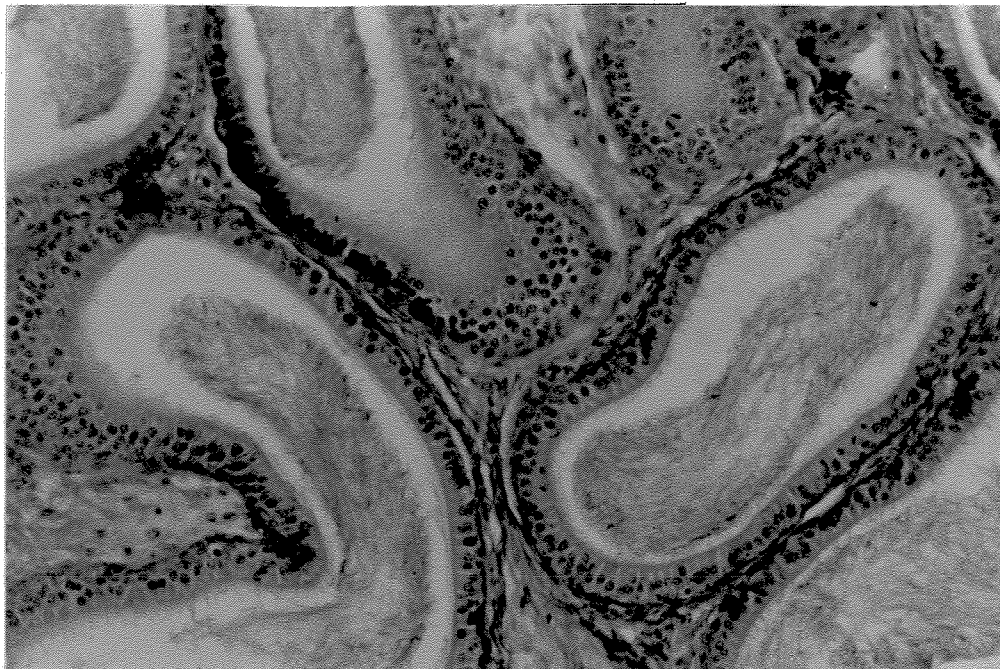


FIG. 12

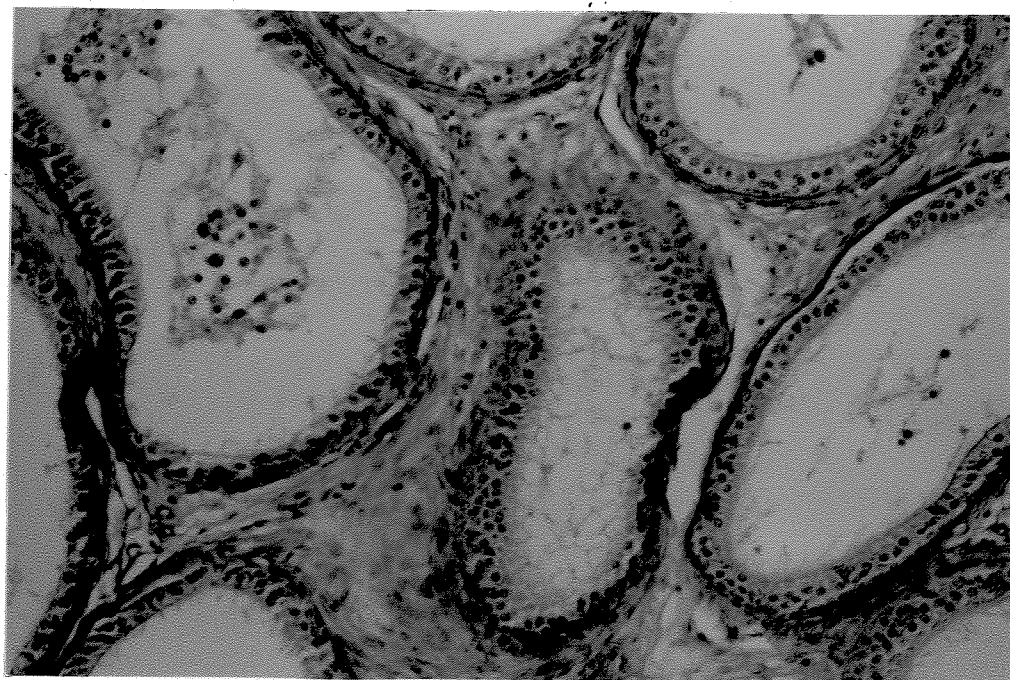


FIG. 13

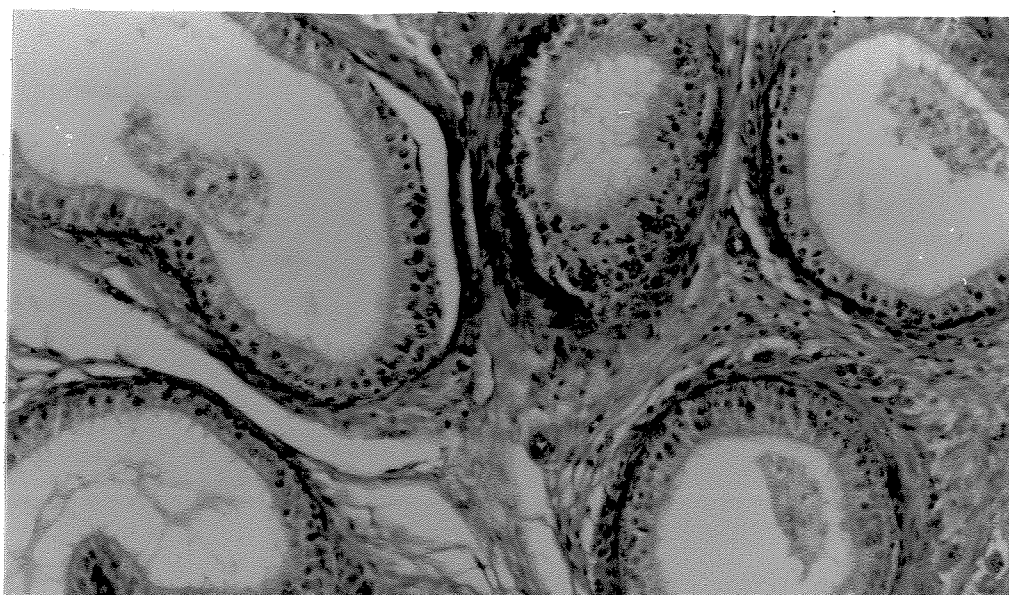


FIG. 14

DISCUSSÃO

A análise dos resultados referentes aos ganhos de peso corporal total, ou seja as diferenças entre os pesos do último dia de observação em gaiolas metabólicas e os pesos do início do experimento, revela que os grupos A e B foram estatisticamente diferentes entre si e que em ambos os grupos, os animais SI e NP tiveram ganho de peso inferior aquele dos NO.

Os nossos resultados demonstraram, portanto, que tanto os tratamentos quanto a dieta tiveram influência sobre o ganho de peso corporal.

A influência da sialoadenectomia em ambos os grupos, foi verificado especialmente no início do período pós-operatório. Posteriormente essa influência diminuiu, mas as diferenças inicialmente estabelecidas permaneceram.

Esses resultados estão de acordo com os de BARTHE et al (1971); RAMALHO (1979); AREAS (1985) que verificaram um desenvolvimento bifásico consequente à sialoadenectomia, que se caracterizou por um período inicial de estagnação após a cirurgia e, posteriormente, por um período de crescimento sem que ocorresse recuperação do atraso inicial.

Da mesma forma, concordamos com as observações de vários autores que verificaram, ao remover as glândulas submandibulares e sublinguais e/ou parótidas, menor ganho de peso corporal dos animais operados em relação aos seus controles (NARASIMHAN et al, 1968; BARTHE et alii, 1970; TEIXEIRA, et alii, 1970a e b; BARTHE et al, 1971; LOUSSOUARN, 1972; RAMALHO, 1979; PAULO, 1980; BASSANI, 1983; AREAS et alii, 1983; AREAS, 1985).

Entretanto, a forma pela qual a remoção das glândulas salivares afeta o desenvolvimento e o crescimento ponderal ainda é objeto de discussão.

Alguns pesquisadores admitem que a ablação das glândulas salivares produz menor crescimento corporal nos animais operados devido a perda de algum fator endócrino presente nessas glândulas (NARASIMHAN et al, 1968; LOUSSOUARN, 1972) ou à modificações na absorção e utilização dos alimentos (BRECHMAN et al, 1964; OSÓRIO et al, 1965) ou ainda a alterações no processo alimentar (PLAGGE, 1938). Outros, verificaram menor crescimento corporal em roedores sialoadenectomizados em diferentes idades e atribuíram esse fato ao menor consumo de dieta pelos animais operados (BARTHE et alii, 1970; EPSTEIN et alii, 1970; BARTHE et al, 1971; VILARINO, 1976; RAMALHO, 1979; AREAS et alii, 1983; AREAS, 1985).

A análise estatística dos nossos resultados referentes a ingestão alimentar, mostra que em ambos os grupos, os ratos SI consumiram menores quantidades de dieta que os NO.

De fato, a influência da restrição alimentar ou da má nutrição sobre o desenvolvimento e ganho de peso corporal foi verificada por diversos autores que observaram um atraso no desenvolvimento dos animais experimentais em relação aos seus controles bem nutridos.

Assim, verificou-se que ratos submetidos a má nutrição, alimentados com dietas deficientes ou em quantidades restritas, apresentaram menor ganho de peso corporal (MONTGOMERY, 1964; WINICK et al, 1966; BOYD, 1970; HOWARTH et al, 1971; LUEN et al, 1975; MYERS et alii, 1983; GLORE &

LAYMAN, 1983; NDUKA et al, 1984).

Comparando-se os nossos resultados referentes ao ganho de peso corporal entre os ratos NP e os SI, em ambos os grupos, observa-se que os animais NP, que receberam a mesma quantidade de dieta consumida pelos SI, apresentaram ganho de peso semelhante a estes, sugerindo que as alterações ponderais são devidas à menor ingestão de alimentos.

Nossos resultados estão de acordo, portanto, com aqueles dos autores que atribuem o menor ganho de peso dos animais sialoadenectomizados ao menor consumo da dieta ou má nutrição.

Além disso, a análise estatística dos nossos resultados referentes a ingestão alimentar, mostrou que os animais do grupo B ingeriram menores quantidades de dieta que os do grupo A.

Diversos investigadores estudando em ratos a influência da composição da dieta sobre a ingestão alimentar, observaram que, independente da idade, os animais reduziram a ingestão de alimentos quando a concentração de proteína na dieta era muito baixa ou muito alta (MERCER, et alii, 1981 ; ROSOVSKI et al, 1984). Observou-se, também a preferência dos animais por dieta contendo 10% de caseína (PENG et alii, 1975).

Os nossos resultados, entretanto, mostraram que embora os ratos do grupo B tivessem sido alimentados, com dieta contendo 11,5% de caseína, apresentaram menor ingestão do que os do grupo A, que receberam dieta contendo 20% de caseína.

A análise estatística dos resultados referentes

aos pesos e as dimensões testiculares revelou diferenças significativas entre os grupos A e B. Comparando-se os tratamentos inter-grupos, observou-se que entre os NO do grupo A e os NO do grupo B, bem como os NP do grupo A e os NP do grupo B, houve diferença significativa entre os resultados referentes aos pesos e dimensões transversais, enquanto as dimensões longitudinais não foram significativamente diferentes. Entre os SI do grupo A e os SI do grupo B esses três parâmetros foram significativamente diferentes.

No grupo A não observou-se diferenças significativas dos pesos e dimensões longitudinais entre os NO e NP, NO e SI e SI e NP, enquanto que as dimensões transversais foram estatisticamente diferentes apenas entre os NO e SI. No grupo B os três parâmetros foram significativamente diferentes apenas entre os NO e SI.

Essa análise demonstra portanto, que as diferentes dietas bem como os tratamentos empregados para os grupos A e B tiveram influência sobre os pesos e dimensões testiculares dos animais estudados.

Quanto ao peso testicular alguns autores constataram que a ablação bilateral das glândulas submandibulares causou aumento dos pesos testiculares, quando comparado aos seus controles (BIXLER et alii, 1955; VIEILLMARINGE, 1968 e 1970). O aumento do peso testicular poderia ser atribuído a liberação precoce de gonatrofina e elaboração mais intensa de hormônios pelos animais operados, não descartando-se a possibilidade das glândulas submandibulares secretarem um fator inibidor da gametogênese, o qual não atuaria face a remoção dessas glândulas, o que resultaria em aumento da atividade gonadal (VIEILLMARINGE, 1968 e 1970). PARON (1975) pro

põe para explicar esse aumento da atividade gonadal, que a remoção das glândulas submandibulares produz hipertrofia compensatória das parótidas e, estas, teriam relação sinérgica com os testículos sendo, portanto, responsável por esse aumento da atividade testicular.

Outros autores, entretando, não encontraram alterações do peso testicular em ratos, após a sialoadenectomia (THOMAS et al, 1967; BARTHE et alii, 1970; LOUSSOUARN, 1972; RAMALHO et alii, 1983 e BASSANI, 1983).

Os nossos resultados do grupo A estão de acordo com as observações desses últimos autores, uma vez que também não verificamos diferenças entre pesos testiculares.

Quanto as dimensões testiculares, observamos no grupo A alterações estatisticamente significativas, apenas com relação ao diâmetro transversal entre os NO e SI.

O crescimento transversal dos túbulos seminíferos tem sido relacionado à produção de testosterona que, no plasma de rato, tem seus níveis aumentados desde a idade de 30 dias até a maturidade (LEE et alii, 1975). O desenvolvimento do diâmetro tubular guarda relação linear com o teor de testosterona testicular na puberdade (ROBERT et alii 1978).

Assim, os menores diâmetros testiculares transversais nos SI do grupo A poderiam estar relacionados com o menor desenvolvimento dos mesmos quando comparados com os NO, uma vez que os animais sialoadenectomizados, embora alimentados com dieta contendo 17% de proteína, tiveram menor ingestão de dieta e apresentaram atraso inicial no crescimento.

Esse atraso de crescimento decorrente da diminuição da ingestão alimentar após a sialoadenectomia, fica me-

lhora evidenciado no grupo B, onde o conteúdo proteico da dieta foi menor e, além do peso corporal, tanto o peso quanto as dimensões testiculares, foram significativamente menores.

É bastante conhecido que na inanição o quadro característico dos testículos é de profunda atrofia.

Assim, MULINOS et al (1941) estudando os efeitos da má nutrição sobre os órgãos reprodutores de ratos machos, observaram uma acentuada atrofia testicular e atribuíram essa atrofia à queda nos níveis séricos de hormônios hipofisários causada pela subnutrição.

Observou-se também, em ratos submetidos a restrição alimentar, uma diminuição no peso absoluto e no diâmetro dos testículos (QUIMBY, 1948; GREWAL, et alii, 1971).

Em ratos submetidos à subnutrição, desde o dia do nascimento até o final do desmame, observou-se menores pesos e diâmetros testiculares que seus controles bem nutridos (BANSAL-RAJBANSHI et al, 1984).

Recentes estudos relacionando os efeitos da má nutrição sobre o tamanho testicular em humanos, revelaram que a mesma promove atrofia testicular, evidenciando que isso ocorre independentemente da idade e de uma variedade de estados patológicos (HANDELSMAN et al, 1985). Como 90% do volume testicular é ocupado por túbulos seminíferos, esses autores propõem que a espermatogênese provavelmente decresce paralelamente ao declínio do tamanho testicular.

A análise histológica dos testículos e epidídimos dos animais do grupo A, mostrou que não houve diferença qualitativa entre os tratamentos. Entretanto, no grupo B, o exame microscópico revelou nítidas e profundas diferenças entre os NO, SI e NP. Comparando-se os resultados histolôgi -

cos referentes ao grupo A obtidos no presente trabalho com os descritos na literatura, concordamos com BIXLER et alii, (1955b); PARMON et alii, (1957) e VIEILLEMARINGE (1968 e 1970) que também não encontraram em ratos e camundongos, al terações histológicas testiculares após a ablação das glândulas salivares e sublinguais. Da mesma forma, concordamos com RAMALHO et alii (1983) que observaram que a extirpação bilateral das glândulas submandibulares e sublinguais em ratos jovens, não produziu alterações na histologia testicular após trinta dias de experimento, uma vez que esses animais foram alimentados adequadamente.

Entretanto, os resultados obtidos no grupo B mos traram que além dos pesos e dimensões testiculares terem si do significativamente diferentes entre os ratos NO e SI, estes, juntamente com os NP, apresentaram significativas alte rações histológicas testiculares.

Resultados semelhantes tem sido registrados em inúmeros estudos tanto com relação a extirpação das glândulas salivares submandibulares quanto das parótidas.

Assim, diversos autores observaram em ratos sia-loadenectomizados ou dessalivados, atraso no crescimento , regressão dos testículos e/ou diminuição da atividade se xual desses animais (THOMAS et al, 1967; MARASIMHAN et al , 1968; JOHNSON et alii, 1970; AONUMA et alii, 1970a e b ; CASTRO et al, 1973; DOTTAVIANO et alii, 1974; PAULO, 1980 ; BASSANI, 1983).

O modo pelo qual a remoção das glândulas salivares afeta os órgãos reprodutores tem sido bastante discutida.

Alguns autores atribuem as alterações gonadais observadas nos animais que sofreram ablação das glândulas submandibulares e sublinguais e/ou parótidas a distúrbios endócrinos enquanto outros imputaram essas alterações primariamente a fatores de ordem nutricional.

Assim, SHAFER et al. (1953) sugeriram, ao observarem menor crescimento dos animais sialoadenectomizados, que essa alteração pode ser causada, parcial ou totalmente, pela menor ingestão alimentar porém, a possibilidade da perda de algum fator desconhecido, presente no tecido glandular, não pode ser descartada. Dessa forma, as demonstrações das relações das glândulas salivares com os hormônios sexuais, ovários, testículos, útero e outros órgãos, sugerem que essas glândulas podem desempenhar funções endócrinas.

SUDDICK (1960) sugeriu que a remoção das glândulas salivares causou inibição dos hormônios gonadotróficos da adenohipófise, o que foi importante para retardar o desenvolvimento dos órgãos reprodutores. O autor conclui que o efeito não foi inteiramente nutricional, já que os animais alimentados em pares com os operados não mostraram alterações.

THOMAS et al (1967) observaram redução no nível de frutose, sensível indicador da produção de hormônios masculinos, em ratos sialoadenectomizados, não relacionando esse fato ao estado nutricional, porque o ganho de peso corporal dos animais operados e normais foram os mesmos, concluindo que o mecanismo pelo qual as glândulas salivares exercem ação sobre a atividade gonadal, permaneceu por ser descoberto.

NARASIMHAN et al (1968) observaram que a ligadu-

ra dos ductos das glândulas submandibulares de camundongos machos com consequente bloqueio da secreção salivar exócrina, não produziu alterações testiculares, enquanto que os animais submetidos a sialoadenectomia mostraram atrofia das gonâdas e paragônadas. Segundo esses autores, a função das glândulas salivares submandibulares em controlar o crescimento gonadal assemelha-se a uma atividade endócrina.

JOHNSON et alii (1970) ao promoverem ablação das glândulas submaxilares evidenciaram uma nítida regressão dos testículos acompanhada de diminuição da atividade sexual e propõem que as alterações vistas militam a favor de uma atividade endócrina das glândulas salivares.

LOUSSOUARN (1972) observando que a presença de um quarto de glândula compensa as perturbações causadas pela extirpação total das glândulas submaxilares, não descarta a possibilidade dessas alterações não dever-se, apenas, a uma deficiência da secreção salivar.

COLETTI et alii (1978) atribuem as alterações observadas nos testículos de ratos submetidos a sialoadenectomia, a alterações no aporte dietético, já que as glândulas salivares, nos roedores, tem papel importante na nutrição e digestão dos alimentos porém, não descarta a possibilidade de uma interação hormonal entre essa glândula e o testículo.

Por outro lado, BIXLER et alii (1955a) reportam que desde que os pesos testiculares respondem variavelmente à dessalivação os resultados parecem indicar que fatores nutricionais estão mais envolvidos que algum desbalanceamento endócrino. Os mesmos autores (1955b) ao verificarem menor ingestão alimentar em ratas sialoadenectomizadas, e, como resulta

do, parcial inanição, sugeriram que a atrofia dos testículos, ovários e útero, observados nesses animais, deveu-se à deficiente de alimentos.

De fato, RAMALHO (1979), estudando em ratos a influência da sialoadenectomia sobre os testículos observou que apenas os animais operados, de um grupo alimentado com dieta deficiente em alguns dos seus constituintes apresentaram alterações no peso, dimensões e histologia testicular.

Posteriormente, RAMALHO et alii (1983), alimentando ratos sialoadenectomizados com dieta contendo teores adequados de todos os seus constituintes não encontraram diferenças significativas nos testículos dos animais operados em relação aos seus controles.

É bastante conhecido que os níveis de manganês, cobre, ferro, vitamina E e proteína na dieta são importantes para o desenvolvimento, maturação e manutenção dos testículos.

Ratos machos criados com dieta carente em manganês mostram degeneração testicular que resulta em completa esterilidade (ORENT et al, 1931). Da mesma forma, recomenda-se o uso de 0,05 a 0,10 mg de cobre e 5,00 mg de ferro diariamente para que se processe adequadamente a reprodução e lactação em ratos (Mc COY, 1967).

A deficiência de vitamina E, em ratos machos, causa degeneração do epitélio germinativo, tornado-os estéreis (NELSON et al, 1939).

Nas alterações testiculares em ratos com avitaminose E, as células mais lesadas são as mais diferenciadas, ou seja, em ordem decrescente de comprometimento: espermatozoides, espermátides, espermatócitos e espermátogônias, en-

quanto as células de Sertolli, do contrário, são mais resistentes (MASON, 1926).

Em ratos alimentados com dieta deficiente em vitamina E por 24 semanas, observou-se alterações degenerativas testiculares macroscópicas e histológicas, que somadas à marcada diminuição da capacidade dos testículos em sintetizarem citrato, constituem, a manifestação precoce da degeneração testicular (YONOSZAI et alii, 1975).

A deficiência de proteína causa atraso no desenvolvimento de diversos órgãos.

Assim, BOYD (1970) estudando ratos machos alimentados por 28 dias com dietas deficientes em proteína, observou que os pesos testiculares foram menores a medida em que a dieta continha menor percentagem de proteína. Além disso, o exame histopatológico revelou profundas alterações na estrutura dos túbulos seminíferos.

Recentes estudos sobre o desenvolvimento testicular em ratos alimentados com dieta deficiente proteico-calórica revelaram uma diminuição no peso testicular e na secreção de testosterona (NDUKA et al, 1984).

Em nosso trabalho, desde que a única variação entre os animais SI e NP do grupo A, que não apresentaram alterações histológicas testiculares e os SI e NP do grupo B onde as alterações são evidentes, foi o teor de proteína das dietas parecer-nos lidimo admitir que a causa determinante dessas alterações foi o menor teor proteico da dieta.

RESUMO E CONCLUSÕES

O presente trabalho foi realizado com o objetivo de estudar as possíveis alterações testiculares decorrentes da extirpação bilateral das glândulas salivares submandibulares e sublinguais de ratos jovens, alimentados com dietas contendo diferentes teores de proteína.

Foram utilizados 48 ratos (*Rattus norvergicus*, albinos, Wistar), machos com 20 dias de idade, distribuídos em 2 grupos experimentais, alimentados com dieta com teores de proteína diferentes (Grupo A = 17,5% de proteína; Grupo B = 10% de proteína). Em cada grupo um terço dos ratos foram submetidos à extirpação bilateral das glândulas submandibulares-sublinguais e os dois terços restantes sofreram apenas anestesia, incisão cervical e sutura.

Em seguida, tanto no grupo A quanto no B, foram redistribuídos em 3 subgrupos, de forma que cada um deles ficou constituído de 8 animais normais, (NO) 8 sialoadenectomizados (SI) e 8 normais com alimentação pareada (NP). Todos os animais foram mantidos em gaiolas metabólicas individuais durante os 24 dias de experimentação.

Ao final de cada período de 4 dias, verificou-se o peso dos ratos sempre à mesma hora. Anotou-se a ingestão diária de dieta bem como após cada período de 4 dias.

Após 24 dias de observação, os animais foram sacrificados por decapitação e, na necrópsia, os testículos e epidídimos esquerdos foram retirados por via abdominal. Os testículos foram separados dos epidídimos e pesados a fresco, medidos em suas maiores dimensões longitudinais e trans

versais e processados para exame histológico juntamente com os epidídimos.

Os resultados referentes aos ganhos de peso corporal, ingestão de dieta, bem como pesos e dimensões testiculares foram avaliados estatisticamente pela análise de variância e teste de Tukey.

Os resultados obtidos mostraram:

1. Com relação à variação do peso e ganho de peso corporal , a análise estatística revelou diferença significativa entre o grupo A e o grupo B e que em ambos os grupos os animais SI e NP tiveram ganho de peso inferiores aquele dos NO demonstrando portanto que tanto a sialoadenectomia quanto as dietas tiveram influência sobre o ganho de peso corporal;
2. As diferenças de ganho de peso corporal entre os tratamentos experimentais em ambos os grupos estabelecidos nos primeiros 8 dias de pós operatório, não foram compensados;
3. Os animais SI, em ambos os grupos, apresentaram menos ingestão de dieta demonstrando que a sialoadenectomia afetou a ingestão alimentar;
4. Os animais do grupo B apresentaram menores pesos e dimensões testiculares que os do grupo A, demonstrando que o baixo teor de proteína da dieta influenciou esses parâmetros;
5. Em ambos os grupos os animais SI e NP apresentaram menores pesos e dimensões transversais testiculares, o que

mostra a influência do tratamento nessas alterações;

6. No grupo A, não houve diferença histológica entre os testículos e epidídimos dos ratos NO, SI e NP, o que demonstra que não houve influência da sialoadenectomia nem da dieta sobre a histologia testicular nesse grupo.
7. No grupo B os animais SI e NP, apresentaram alterações profundas dos testículos e epidídimos. Os ratos normais apresentaram aspectos variando desde a normalidade até alterações qualitativas moderadas. Nesse grupo a sialoadenectomia atuou como causa predisponente pois as alterações testiculares e epididimárias foram determinadas pela menor ingestão de dieta com baixo teor de proteína, uma vez que, os animais NP que receberam a mesma quantidade de dieta que os operados apresentaram o mesmo quadro histológico.

Assim, nas condições experimentais utilizadas e com a metodologia empregada, os nossos resultados permitem inferir que as alterações observadas nos animais SI e NP que receberam dieta contendo 10% de proteína, são primariamente de ordem nutricional uma vez que a menor ingestão alimentar não permitiu ingestão adequada de proteína.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALVAREZ-BUYLLA, R.; DELÉON, I. & ALVAREZ-BUYLLA, E.R. Gonadal function in hypophysectomized dogs with glandular transplante in sella turcica. *Acta Physiol. latinoam.*, 23:75-82, 1973.

ALVAREZ-BUYLLA, R.; MANDOKI, J. & ALVAREZ-BUYLLA, E.R. Survival comparison between totally hypophysectomized dogs and dogs with a transplant of salivary gland in the place of the extirpated hypophysis. *Acta Physiol. latinoam.*, 20(1):24-27, 1970.

ANGELETTI, P.U.; LEVI-MONTALCINI, R. & CALISSANO, P. The nerve growth factor (NGF): chemical properties and metabolic effects. *Adv. Enzymol.*, 31:51-75, 1968.

AONUMA, S.; MAYUMI, T.; NAKASHIMA, T. & SUZUKI, K. Relationship between salivary gland hormone and sexual function. IV Effect of salivary gland hormone on guinea pig semen. *Folia Endocr. jap.*, 46(2):127-138, 1970a.

AONUMA, S.; MAYUMI, T.; NAKASHIMA, T. & SUZUKI, K. Relationship between salivary gland hormone and sexual function. V Effect of salivary gland hormone on hypophysis and of hypophysectomy testectomy on salivary gland hormone content. *Folia Endocr. jap.*, 46(2):139-147, 1970b.

ARCIERI, R.M. & MARTINELLI, C. Influence of salivary gland extirpation on procreation in rats. *Tohoku J. exp. Med.* 121: 105-110, 1977.

AREAS, M.A.; RAMALHO, A.C.; MACIEL, R.E. & MENEGATTO, G. Alterações do ganho de peso e do teor de nitrogênio muscular em ratos sialoadenectomizados. Anais do XVIII Congresso Brasileiro de Fisiologia, realizado em São Lourenço, M.G., 1983.

AREAS, M.A. Influência da sialoadenectomia sobre o ganho de peso e o metabolismo de nitrogênio em ratos jovens. Tese de Mestrado, apresentada ao Instituto de Biologia da UNICAMP, 1985.

ARRANZ, I.L. Correlacion endocrina glandulas salivales-testiculos. *Ann. Esp. Odonto. Estomatol.*, 34(3):215-226, 1975.

BALDI, A. & CHARREAU, E.H. 17-Beta-Hidroxysteroid Dehydrogenase activity in rat submaxillary glands. Its relation to sex and age. *Endocrinology*, 90(6):1643-1646, 1972.

BANSAL-RAJBANSHI, M. & MATHUR, M. Testicular morphology and cell proliferation kinetics of immature germ cells and Sertoli cells in suckling undernourished rats. *Cell. Tissue Kinet.*, 18:183-191, 1985.

BARTHE, D.; CHATELUT, J.; DARNAULT, J.; DUBOSQ, Y.; DAVID, J. F. Effects de l'ablation des glandes sous maxillaires et de l'administration de "Parotine" sur la croissance du jeune. *C.*

r. Séanc. Soc. Biol. Fil., 164:1680-1684, 1970.

BARTHE, D. & DAVID, J.F. Effects de l'ablation des glandes sous-maxillaires et de la destruction de leurs canaux excréteurs sur la survie et la croissance du rat nouveau-né. *C. r. Séanc. Soc. Biol. Fil.*, 165:570-574, 1971.

BASSANI, R.A. Estudo quantitativo do epitélio seminífero de ratos sialoadenectomizados. Tese de Mestrado apresentada ao Instituto de Biologia da UNICAMP, em maio de 1983.

BHoola, K.D.; DOREY, G. & JONES, C.W. The influence of androgens on enzymes (chymotrypsin-and trypsin-like proteases, renin, kallikrein and amylase) and on cellular structure of the mouse submaxillary gland. *J. Physiol., Lond.* 235(2):503-522, 1973.

BIXLER, D.; MUHLER, J.C. & SHAFER, W.G. The effects of castration, sex hormones and desalivation on dental caries in the rat. *J. dent. Res.*, 34:889-894, 1955a.

BIXLER, D.; MUHLER, J.C. & SHAFER, W.G. Effects of desalivation on adrenals, uterus and testis in the rat. *J. dent. Res.*, 34:910-914, 1955b.

BIXLER, D.; WEBSTER, R.C. & MUHLER, J.C. The effects of salivariadenectomy on the reproductive organs of the female rat. *J. dent. Res.*, 36(4):559-565, 1957.

BOOTH, W.D. The occurrence of Testosterone and 5 Alfa - Dehydrotestosterone in the submaxillary salivary gland of the boar. *J. Endocr.*, 55:119-125, 1972.

BOYD, E.M. Clinical and pathological parameters in albino rats fed from weaning on a diet containing no protein. *Can. J. Physiol. Pharmac.*, 48(8):524-532, 1970.

BRECHMAN, H. & BARTELS, H.A. Food and water intake and organ and body weight in the sialoadenectomized rat. *J. dent. Med.*, 19:111-117, 1964.

BUEKER, E.D.; WEIS, P. & SCHENKEIN, I. Sexual dimorphism of mouse submaxillary glands and its relationship to nerve growth stimulating protein. *Proc. Soc. exp. Biol. Med.*, 118:204-207, 1965.

BURDMAN, J.A. & GOLDSTEIN, M.N. Synthesis and storage of nerve growth protein in mouse submandibular glands. *J. exp. Zool.*, 160:183-188, 1965.

BURGEN, A.S.V. & SEEMAN, P. The secretion of iodine in saliva. *Can. Journ. Biochim. Physiol.*, 35:481-489, 1957.

BURINI, R.C. Influência de carência dietética de potássio provocada em ratos adultos jovens, sobre o ganho de peso e o metabolismo de nitrogênio, sódio e potássio. Tese de Doutorado apresentada à Faculdade de Ciências Médicas e Biológicas de Botucatú, SP., 1973.

CASTRO CASTRO, J. Efectos de la hipofunción e hiperfunción de las glândulas salivales sobre los testiculos de conejos. Tese-Oviedo-Espanha, 1973. Apud ARRANZ, I.L.; 1975.

CHEYNE, D. A description of the salivary gland of the rat and a procedure for their extirpation. *J. dent. Res.*, 18:457-468, 1939.

DOINE, A.I. & FAVA DE MORAES, F. Histochemistry of the submandibular salivary gland of castrated male mice treated with androgens and anabolic steroids. *Archs. oral Biol.*, 24(8):569-574, 1979.

DOTTAVIANO, E.J.; RAMALHO, A.C. & NEGREIROS DE PAIVA, C. E. Glândulas salivares e reprodução - Estudo preliminar. VI Reunion ALIRH - Lima, Perú, 1974. (Comunicacion, 100).

EPSTEIN, A.N.; BLASS, E.M.; BATSHAW, M.L. & PARKS, A.D. The vital role of saliva as a mechanical sealant for suckling in the rat. *Physiology and Behavior*, 5: 1395 - 1398, 1970.

GIROD, C. Etude d'un dimorphisme sexuel de la glande sous-maxillaire du Singe *Macacus irus*. F. Cuv. *C. r. Séan. Soc. Biol. Fil.*, 158:752-754, 1964.

GLORE, S.R. & LAYMAN, D.K. Cellular development of skeletal muscle during early periods of nutritional restriction and subsequent rehabilitation. *Pediatr. Res.*, 17(7):

602-605, 1983.

GRAD, B. & LEBLOND, C.P. The necessity of testis and thyroid hormones for the maintenance of the serous tubules of the submaxillary gland in the male rat. *Endocrinology*, 45: 250-256, 1949.

GRENWAL, T.; MICKELSEN, O. & HAFS, H.D. Androgen secretion and spermatogenesis in rats following semistarvation. *Proc. Soc. exp. Biol. Med.*, 138(2): 723-727, 1971.

GRESIK, E.W.; SCHENKEIN, I.; NOEN, H. & BARKA, R. Hormonal regulation of epidermal growth factor and protease in the submandibular gland of the adult mouse. *Endocrinology*, 109: (3): 924-929, 1981.

HANDELLMAN, D.J. & STARAJ, S. Testicular size: The effects of aging, malnutrition, and illness. *J. Androl.*, 6(3): 144-151, 1985.

HEGST, D.M.; MILLS, R.C.; ELVENJEN, C.A. & HART, E.B. Cholina in the nutrition of chicks. *J. Biol. Chem.*, 138: 459-466, 1941.

HIRAMATSU, M.; HATAKEYAMA, K. & MINAMI, N. Male mouse submaxillary gland secretes highly toxic proteins. *Experientia*, 36(8): 940-942, 1980.

HIRATA, Y. & ORTH, D.H. Concentration of epidermal growth factor, nerve growth factor and submandibular gland renin in male and female mouse tissue and fluids. *Endocrinology*, 105(6): 1382-1387, 1979.

- HOSHINO, K. & LIN, C.D. Lethal factor released from submandibular grafts in mice. *Can. J. Physiol. Pharmacol.*, 47: 329-334, 1969.
- HOWARTH, R.E. & BALDWIN, R.L. Concentration of selected enzymes and metabolites in rat skeletal muscle: effects of food restriction. *J. Nutr.*, 101:485-494, 1971.
- ISHII, D.N. & SHOOTER, E.M. Regulation of nerve growth factor synthesis in mouse submaxillary glands by testosterone. *J. Neurochem.*, 25(6):843-851, 1975.
- JACOBY, F. & LESSON, C.R. The postnatal development of rat submaxillary gland. *J. Anat.*, 93:201-216, 1959.
- JOHNSON, G.; KEKEH, J. & YAPI, M. Sur l'activité endocrine des glandes salivaires sous-maxillaires sensu stricto de la souris. *Ann. Endocr. (Paris)*, 31:573-577, 1970.
- JUNQUEIRA, L.C.; FAJER, M.; RABINOVITCH, M. & FRANKENTHAL, L. Biochemical and histochemical observations on the sexual dimorphism of mice submaxillary glands. *J. Cell. comp. Physiol.*, 35:129-158, 1949.
- KATAGIRI, S. & HIGASHIJO, T. Histologische studien über die einflüsse der speicheldrüsenextirpation auf die wirkung des geschlechtshormones. *Trans. Soc. Pathol. Japan*, 30: 252, 1948. Apud SHAFER, W.G. & MUHLER, J.

- C. Endocrine influences upon the salivary glands. *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, 85(1): 215-227, 1960.
- LACASSAGNE, A. Dimorphism sexuel de la glande sous-maxillaire chez la souris. *C.r. Séanc. Soc. Biol. Fil.*, 133: 180-181, 1940.
- LEBLOND, C.P. & CLERMONT, Y. Definition of the stages of the cycle of the seminiferous epithelium in the rat. *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, 55:548-573, 1952.
- LEE, V.W.; DE KRETZER, D.M.; HUDSON, B. & WANG, C. Variations in serum FSH, LH and testosterone levels in male rats from birth to sexual maturity. *J. Reprod. Fert.*, 42(1):121-126, 1975.
- LEVI-MONTALCINI, R. & ANGELETTI, P.U. Growth control of the sympathetic system by a specific protein factor. *Q. Rev. Biol.*, 36(2):99-108, 1961.
- LIN, C.D. & HOSHINO, K. Testosterone dependency of the lethal factor in mouse submandibular gland isografts. *J. Physiol. Pharmacol.*, 47:335-338, 1969.
- LUEN, E.A. & EDOZIEN, J.C. Experimental protein and energy deficiencies in the rat. *J. of Nutr.*, 105(6):631, 1975.
- LOUSSOUARN, D. Effects de l'exérèse des glandes sous-maxillaires sur la croissance du jeune rat mâle. *Revta. Stomatol.*, 73(8):627-631, 1972.

MANNA, L. & HAUGE, S.M. A possible relationship of vitamin B₁₂ to orotic acid. *J. Biol. Chem.*, 202:91-96, 1953.

MANDAL, A.; MAITI, B. & GHOSH, A. Histomorphological studies of the salivary glands in normal male and castrated pigeons. *Anat. Anz.*, 19():428-435, 1971.

MARUYAMA, K. & TSUTSUMI, H. Histological study of age change of the submaxillary gland. *Jap. J. Geriatr.*, 11 (5):312-319, 1974.

MASON, K.E. Testicular degeneration in albino rats fed a purified food ration. *J. exp. Zool.*, 45:159-229, 1926.

MASTRACCIO, A.J. The effect of gonadectomy and propylthiouracil treatment on the submandibular gland of the Mongolian Gerbil, *Meriones unguiculatus*. *J. exp. Zool.*, 180: 393-402, 1972.

MCCOY, R.H. Dietary requirements of the rat. In: FARRIS, E.J. & GRIFFITH, J.G. *The rat in laboratory investigation*, New York, Hafner, 1967, p. 68-103.

MERCER, L.P.; WATSON, D.F. & RAMLET, J.S. Control of food intake in the rat by dietary protein concentrations. *J. Nutr.* 111:1117-1123, 1981.

MONTGOMERY, R.B.; DICKERSON, J.W.T. & McCANCE, R.A. Severe undernutrition in growing and adult animals. The mor-

- phological and chemistry of development and undernutrition in the sartorius muscle of the fowl. *Brit. J. Nutr.*, 18: 587, 1964.
- MUDD, B.D. & WHITE, S.C. Sexual dimorphism in the rat submandibular gland. *J. dent. Res.*, 54(1): 193, 1975.
- MULINOS, M.G. & POMERANTZ, L. The reproductive organs in malnutrition; Effects of chorionic gonadotropin upon atrophic genitalia of underfed male rats. *Endocrinology*, 29:267-275, 1941.
- MYERS, B.A.; DUBICK, M.A.; GERREITS, J.; RUCKER, R.B.; JACKSON, A.C.; REISER, K.M.; WILLIAMS, S.M. & LAST, J.A. Protein deficiency: Effects on lung mechanisms and the accumulation of collagen and elastin in rat lung. *J. Nutr.*, 113(11) : 2308, 1983.
- NAGANO, T. & OKUMURA, K. Fine structural changes of allergic aspermatogenesis in the guinea pig. *Virchows Arch. Abt. B. Zellpath.*, 14:237-245, 1973.
- NARASIMHAN Jr, M.J. & GANLA, V.G. *Curr. Sci.*, 36:266, 1967.
- Apud NARASIMHAN Jr, M.J. & GANLA, V.G. The regulatory influence of the submandibular salivary gland growth. *Annls. Endocr.*, 29(5):513-522, 1968.
- NDUKA, E.U. & DADA, O.A. Inhibition of gonadotropin and prostaglandin stimulation of testicular steroidogenesis in malnourished rats. *Andrologia*, 16(5):406-409, 1984.

NELSON, E.M. & TOOLE, C.D. Fat soluble vitamins. *Ann. Rev. Biochem.*, 8:415-434, 1939.

OLIVER, W.J. & GROSS, F. Effects of testosterone and duct ligation on submaxillary renin-like principle. *Am. J. Physiol.*, 213(2):341-346, 1967.

ORENT, E.R. & MCCOLLUM, E.U. Effects of deprivation of manganese in the rat. *J. Biol. Chem.*, 92:651-678, 1931.

OSÓRIO, J.A. & KRAEMER, A. Stimulative effect of parotin on the body weight of sialoadenectomized rats. *Revta. bras. biol.*, 25(3):233-236, 1965.

PARMON, C.I.; BABES, A.E. & PETREA, I. Endocrinologie des glandes salivaires. *Bibliothèque Médicale Editoria Academiei Republicii populare Romine*, 1957, Apud ARRANZ, I.L., 1975.

PAULO, E. The effect of sialoadenectomy performed at various periods of the postnatal life on the histological picture of testes in male rats. *Acta biol. cracov.*, 22(2):163 - 171, 1980.

PENG, Y.; MELIZA, L.L.; VAVICH, M.G. & KEMMERER, A.R. Effects of aminoacids in balance and protein ontent of diets on food intake and preference of young adult and diabetic rats. *J. Nutr.*, 105:1395-1404, 1975.

PLAGGE, J.C. The vital importance of salivary glands to newborn rats. *Amer. J. Physiol.*, 124:612-619, 1938.

QUIMBY, F.H. Organ weights of rats receiving hormone supplements during recovery from chronic starvation. *Endocrinology*, 42:263-271, 1948.

RAMALHO, A.C. Alterações testiculares em ratos sialoadenectomizados. Tese para obtenção do título de Livre Docente, Instituto de Biologia da UNICAMP, 1979.

RAMALHO, A.C.; AREAS, M.A.; REIS, N.S. & MACIEL, R.E. Sialoadenectomy in immature rats: Relationship between the nutritional state and testicular alterations. *I.R.C.S. Med Sci.*, 11:896-897, 1983.

ROBERT, A.; DJAVAHARI-TEHRANI, K. & DELOST, P. Evolution de tube séminifère chez le cobaye au cours de la puberté. *C.R. Séanc. Soc. Biol.*, 172:912-918, 1978.

ROBERTS, M.L. Testosterone-induced accumulation of epidermal growth factor in the submandibular salivary glands of mice, assessed by radioimmunoassay. *Biochem. Pharmac.*, 23:3302-3308, 1974.

ROZOVSKY, S.J. & TEMKIN, M.E. Protein malnutrition in aged rats: an experimental model. *J. Nutr.*, 114:1199-1203, 1984.

SHAFFER, W.G.; CLARK, P.G. & MUHLER, J.C. The inhibition of hypophysectomy-induced changes in the rat submaxillary glands. *Endocrinology*, 59:516-521, 1956.

SHAFFER, W.G. & MUHLER, S.C. Effect of gonadectomy and sex hormones on the structure of the rat salivary glands. *J. dent. Res.*, 32:262-268, 1953.

SREEBNY, L.M.; MEYER, J.; BACHEM, E. & WEINMANN, J.P. Restoration of enzymatic activity in the submaxillary gland of the hypophysectomized albino rat. *Endocrinology*, 60: 200-204, 1957.

SUDDICK, R.P. Effect of salivariadenectomy and administration of salivary gland homogenate upon the reproductive organs of the female rat. *J. dent. Res.*, 39(3):554-571, 1960.

TEIXEIRA, D.; NEGREIROS DE PAIVA, C.E. & ALMEIDA COSTA, D. A. Glândulas salivares: sua necessidade à sobrevivência de ratos jovens. *Ciênc. Cult.*, São Paulo, 22 (7º Supl.): 344, 1970a.

TEIXEIRA, D.; NEGREIROS DE PAIVA, C.E. & ALMEIDA COSTA, D. A. Efeito do seccionamento dos ductos das glândulas submandibulares e sublinguais em ratos jovens. *Ciênc. Cult.*, São Paulo, 22 (7º Supl.): 344, 1970b.

THOMAS, J. A. & HILL, M.F. Effect of salivariadenectomy upon gonadal activity in male rates. *Archs. oral. Biol.*, 12:921-923. 1967.

VIELLEMARINGE, J. Effects de l'ablation bilaterale de la glande sous-maxillaire chez le souriceau mâle nouveau-né: action sur les testicules. *C. r. Séanc. Soc. Biol. Fil.*, 162(10):1749-1752, 1968.

VIEILLEMARINGE, J. Effects sur les testicules, de l'ablation totale des glandes sous-maxillaires sensu stricto chez des souriceaux males nouveau-nés. *Ann. Endocr.*, (Paris), 31:538-547, 1970.

VILARINO, J.F. Influência das glândulas salivares submandibulares e sublinguais na ingestão láctea em ratos. Tese apresentada ao Instituto de Biologia da UNICAMP em 1976.

WINICK, M. & NOBLE, A. Cellular response in rats during malnutrition of various ages. *J. Nutr.*, 89:300, 1966.

YONOSZAI, R.; DIXIT, P.K. & VATASSERY, G.T. Decreased citrate synthesis: possible indication of early degenerative changes in testes of vitamin E deficient rats. *Proc. Soc. Exp. Biol. and Med.*, 150:441-445, 1975.