

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
MESTRADO EM PATOLOGIA

EFEITO DA DESNUTRIÇÃO PÓS-NATAL COM DBR (Dieta Básica Regional) SOBRE A MORFOMETRIA TESTICULAR E O PROCESSO ESPERMATOGÊNICO DE RATOS ADULTOS.

FRANCISCO DE ASSIS MARQUES SANTOS

RECIFE – PE
Julho – 2008

Livros Grátis

<http://www.livrosgratis.com.br>

Milhares de livros grátis para download.

FRANCISCO DE ASSIS MARQUES SANTOS

EFEITO DA DESNUTRIÇÃO PÓS-NATAL COM DBR (Dieta Básica Regional) SOBRE A MORFOMETRIA TESTICULAR E O PROCESSO ESPERMATOGÊNICO DE RATOS ADULTOS.

Dissertação submetida ao Curso de Pós-Graduação em Patologia do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal de Pernambuco como pré-requisito para obtenção do grau de Mestre.

Orientadora: Prof.^a Dr.^a Carol Virgínea Góis Leandro.
Co-Orientadora: Prof.^a Dr.^a Elizabeth da Silveira Neves.

RECIFE – PE
Julho – 2008

Santos, Francisco de Assis Marques

Efeito da desnutrição pós-natal com DBR (Dieta Básica Regional) sobre a morfometria testicular e o processo espermatogênico de ratos adultos / Francisco de Assis Marques Santos. – Recife: O Autor, 2008.

53 folhas: il., fig.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Pernambuco. CCS. Patologia, 2008.

Inclui bibliografia e anexos.

1. Desnutrição 2. Dieta Básica Regional (DBR) I. Título.

613.24

CDU (2.ed.)

UFPE

616.39

CDD (22.ed.)

CCB – 2008- 183

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO

REITOR

Prof. Amaro Henrique Pessoa Lins

VICE-REITOR

Prof. Gilson Edmar Gonçalves e Silva

PRÓ-REITOR PARA ASSUNTOS DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO

Prof. Anísio Brasileiro de Freitas Dourado

DIRETOR DO CENTRO DE CIÊNCIA DA SAÚDE

Prof. José Thadeu Pinheiro

CHEFE DO DEPARTAMENTO DE PATOLOGIA

Prof. Adriana Maria da Silva Telles

COORDENADOR DO MESTRADO EM PATOLOGIA

Prof. Nicodemos Teles de Pontes Filho

VICE-COORDENADOR DO MESTRADO EM PATOLOGIA

Prof. Hilton Justino da Silva

RECIFE

2008



Universidade Federal de Pernambuco
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
CURSO DE MESTRADO EM PATOLOGIA

AUTOR: FRANCISCO DE ASSIS MARQUES SANTOS
ÁREA DE CONCENTRAÇÃO: MORFOLOGIA APLICADA
NOME DA TESE: “EFEITO DA DESNUTRIÇÃO PÓS-NATAL COM DBR (DIETA BÁSICA REGIONAL) SOBRE A MORFOMETRIA TESTICULAR E NO PROCESSO ESPERMATOGÊNICO DE RATOS ADULTOS”.

ORIENTADOR: PROFA. DOUTORA CAROL VIRGÍNIA GÓIS LEANDRO

TESE DEFENDIDA PARA OBTENÇÃO DO TÍTULO DE MESTRE EM PATOLOGIA

DATA: 27 DE AGOSTO DE 2008.

BANCA EXAMINADORA:

Profa. Dra. Sílvia Regina Arruda de Moraes

Profa. Dra. Sandra Lopes de Souza

Profa. Dra. Elizabeth da Silveira Neves

DEDICO:

A letra “**J**”. **J** de Jacilene: esposa, amante, cúmplice e idealizadora desse sonho que hoje se torna realidade. **J** de Jullyane: filha primogênita, tradutora, incentivadora, massageadora do meu ego. **J** de Jeysa: filha caçula, de sorriso fácil que me ensina a simplicidade das coisas. Como eu não existo sem vocês, logo, esta dissertação também não existiria. Por isso ela lhes pertence.

AGRADECIMENTOS

A **DEUS**, meu criador, meu mantenedor, que abriu todas as portas necessárias para que eu chegasse até aqui.

A minha esposa e minhas duas filhas, que se tornaram um comigo, enfrentando as mesmas lutas, sonhando os mesmos sonhos e vencendo as mesmas vitórias.

A professora, Dra. Elizabeth da Silveira Neves, que mais que uma co-orientadora, foi determinante, para a concretização desse trabalho. É de uma generosidade ímpar. Sempre conjugando o verbo no plural, me mostrou que o “nós” é mais importante do que o “eu”.

A professora, Dra. Carol Virgínea Góis Leandro que, gentilmente, me aceitou como seu orientando e a professora Dra. Sandra Lopes de Souza que iniciou a orientação. A confiança de vocês foi fundamental.

A Coordenadora do Curso de Pós-Graduação em Patologia, Dra. Sílvia Regina Arruda de Moraes, pela sua austeridade e disponibilidade para esclarecer qualquer dúvida ao longo do curso.

Ao Departamento de Anatomia e Mestrado de Patologia, pela disponibilidade de todo equipamento de pesquisa, do biotério, de todos os seus professores, funcionários e a toda equipe de pesquisa, em especial a: Silvânia e Sidcley, Teresa, Paulo de Tarso, Edinalda e Ana, Olávio, Marcondes, Michele, Carol, Andressa, Fernanda e Amanda. Sem vocês nada do que foi feito teria se concretizado.

Ao veterinário, Sr. França, que cedeu e orientou como tratar os animais deste experimento, e ao técnico em laboratório, Sr. Amilton, que preparou a DBR, ambos em nome do Departamento de Nutrição, da UFPE.

A todos os meus alunos. Vocês são, a melhor provocação para vencermos desafios.

“É melhor lançar-se à luta em busca de triunfo, mesmo expondo-se ao insucesso, do que fazer fila com os pobres de espírito, que por viverem nessa penumbra cinzenta, nem sofrem muito nem gozam muito e, não conhecem vitória nem derrota.”

Franklin Delano Roosevelt.

RESUMO

Objetivamos investigar o efeito da desnutrição materna durante a lactação, com a Dieta Básica Regional (DBR), no testículo de ratos, através de análises quantitativa e qualitativas. Ratas Wistar acasaladas aos 3 meses de idade receberam ração normoprotéica até o nascimento dos seus filhotes. Os filhotes foram divididos em dois grupos: controle – C (n=6), com água e dieta normoprotéica; e desnutrido – D (n=6), com água e dieta multicarencial (DBR); dada às mães, lactantes. Após o desmame, os grupos foram mantidos com água e dieta padrão do biotério (Labina-Purina), “*ad libitum*” até a eutanásia aos 3 meses de vida quando foram pesados, anestesiados, perfundidos com paraformaldeído a 4% em tampão fosfato (0,05M - pH 7,4) e orquiectomizados. O índice gonadossomático (IGS) foi estabelecido a partir da razão entre os pesos testiculares e corporal, obtidos no dia da eutanásia. Os testículos foram incluídos em parafina, processados histologicamente e corados com hematoxilina e eosina, depois analisados em microscópio de campo claro. Os pesos corporal (PC) e testicular (PT) do grupo desnutrido (324 ± 6 g; $1,67 \pm 0,05$ g) não diferiram dos pesos corporal e testicular do grupo controle (303 ± 10 g; $1,67 \pm 0,03$ g). Já o índice gonadossomático (IGS) do grupo desnutrido (1,11%) foi significativamente maior ($p=0,021$) do que o IGS do grupo controle (1,04%). O diâmetro tubular (DT) do grupo desnutrido ($300 \pm 3 \mu\text{m}$) foi semelhante ao grupo controle ($295 \pm 2 \mu\text{m}$), da mesma forma o comprimento do túbulo seminífero por testículo (CTS) do grupo desnutrido ($16,9 \pm 0,7$ m) foi próximo do CTS do grupo controle ($18 \pm 1,7$ m), ou seja, não houve diferença estatística significativa ($p > 0,05$). Entretanto a altura do epitélio seminífero (AES) do grupo desnutrido ($74 \pm 2 \mu\text{m}$) foi estatisticamente menor ($p < 0,05$) do que a AES do grupo controle ($82 \pm 3 \mu\text{m}$). A proporção de túbulos seminíferos foi menor ($p < 0,05$) no D(84,0%) em relação ao C(81,7%). Houve redução de 48,8% no número de células de Sertoli por testículo do D ($2,1 \pm 0,3 \times 10^7$) em relação ao C($4,1 \pm 0,8 \times 10^7$) ($p < 0,05$). Os resultados sugerem que a desnutrição pós-natal com DBR em ratos adultos jovens, promoveu modificações significativas nos testículos, com ênfase na programação do número de células de Sertoli, no animal adulto, o que pode levar a alteração no processo espermatogênico e na produção espermática.

Termos descritivos: desnutrição, Dieta Básica Regional (DBR), células de Sertoli, espermatogênese.

ABSTRACT

Aimed at investigating the effect of maternal malnutrition during lactation, with the Diet Basic Fund (DBR) in the testis of rats, through quantitative and qualitative analysis. Wistar rats mated to 3 months of age received normal diet until the birth of their baby. The pups were divided into two groups: control - C (n = 6), with water and normal diet diet, and malnourishment - D (n = 6), with water and diet multicarenal (DBR); given to mothers, infants. After weaning, the groups were kept in water and diet pattern of the vivarium (Labini-Purina), "ad libitum" to euthanasia at 3 months of life when they were weighed, anesthetized, perfused with paraformaldehyde to 4% in phosphate buffer (0,05M - pH 7.4) and orquitectomizados. The gonadosomatic index (IGS) was established on the basis of the ratio between body weight and testis, obtained on the day of euthanasia. The testes were included in paraffin, processed and histologically stained with hematoxylin and eosin, then analyzed by microscope of clear field. The body weights (PC) and testicular (PT) of the malnourished group (324 ± 6 ; 1.67 ± 0.05 g) did not differ from testicular and body weights of the control group (303 ± 10 ; 1.67 ± 0.03 g). Already the gonadosomatic index (GSI) of the malnourished group (1.11%) was significantly higher ($p = 0.021$) than the IGS of the control group (1.04%). The diameter tubular (DT) of the malnourished group ($300 \pm 3\mu\text{m}$) was similar to the control group ($295 \pm 2\mu\text{m}$), the same way the length of the seminiferous tubule of testis (CTS) of the malnourished group (16.9 ± 0.7 m) CTS was close to the control group (18 ± 1.7 m), ie there was no statistically significant difference ($p > 0.05$). Meanwhile the height of the seminiferous epithelium (AES) of the malnourished group ($74 \pm 2\mu\text{m}$) was statistically lower ($p < 0.05$) than the control group AES ($82 \pm 3\mu\text{m}$). The proportion of seminiferous tubules was lower ($p < 0.05$) in D (84.0%) compared to C (81.7%). There was a reduction of 48.8% in the number of Sertoli cells per testis of D ($2.1 \pm 0.3 \times 10^7$) compared to C ($4.1 \pm 0.8 \times 10^7$) ($p < 0.05$). The results suggest that malnutrition postnatal mice with DBR in young adults, promoted significant changes in the testicles, with an emphasis on programming the number of Sertoli cells in the adult animal, which can lead to changes in the process to produce sperm and spermatogenic.

Descriptive terms: malnutrition, Diet Basic Fund (DBR), Sertoli cells, spermatogenesis.

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AES - Altura do Epitélio Seminífero

CCB - Centro de Ciências Biológicas

CEEA - Comitê de Ética em Experimentação Animal

CES - Ciclo do Epitélio Seminífero

CTS - Comprimento Total dos Túbulos Seminíferos

DBR - Dieta Básica Regional

DL - Diâmetro do Lume

DN - Diâmetro Nucleolar Médio

DTS - Diâmetro de Túbulos Seminíferos

EC - Espessura do Corte em Micrômetros

FAO – Food and Agriculture Organization (Organização das Nações Unidas para a Agricultura e a Alimentação)

FBSAN - Fórum Brasileiro de Segurança Alimentar e Nutricional

IGS - Índice Gonadossomático

IPEA - Instituto de Pesquisa Econômica Aplicada

NC - Número Corrigido de Nucléolos

OMS – Organização Mundial da Saúde

ONU – Organização das Nações Unidas

PC - Peso Corporal

PT - Peso Testicular

SRY – Sex – determining Region Y.

UFPE - Universidade Federal de Pernambuco

VTS - Volume Total do Túbulo Seminífero

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	11
2 OBJETIVOS	14
2.1 Objetivo geral	14
2.2 Objetivos específicos	14
3 REVISÃO DE LITERATURA	15
3.1 Desnutrição	15
3.2 Tireóide e a função testicular	17
3.3 Morfologia testicular	20
3.3.1 Células de Sertoli	22
4. METODOLOGIA	25
4.1 Grupos de animais	25
4.2 Dieta Básica Regional (DBR)	25
4.3 Colheita dos testículos	26
4.4 Cálculo do Índice Gonadossomático (IGS)	27
4.5 Processamento histológico	27
4.6 Análise histológica dos testículos	27
4.7 Análise morfométrica dos testículos	27
4.7.1 Proporções volumétricas (%)	27
4.7.2 Túbulo seminífero: diâmetro, altura do epitélio seminífero	28
4.7.3 Comprimento dos túbulos seminíferos	28
4.7.4 Número de células de Sertoli por testículo	28
4.8 Análise estatística	29
5 RESULTADOS	30
5.1 Curva ponderal	30
5.2 Pesos corporais, testiculares e índice gonadossomático (IGS)	30
5.3 Identificação dos compartimentos testiculares	31
5.4 Morfologia das células da linhagem espermatogênica e das células de Sertoli	32
5.5 Dados morfométricos do túbulo seminífero	34
5.6 Proporção volumétrica dos componentes testiculares	35
5.7 Número de células de Sertoli por testículo	37

6 DISCUSSÃO	38
6.1 Curva ponderal	38
6.2 Análise testicular: morfologia e morfometria	39
6.3 Número de células de Sertoli	41
7 CONCLUSÃO	44
8.PERSPECTIVAS	45
9 REFERÊNCIAS	46
10 ANEXOS: aprovação do comitê de ética	54

1 INTRODUÇÃO

No Brasil, o Mapa da Fome, elaborado pelo IPEA (Instituto de Pesquisa Econômica Aplicada) em 1993, revelou a fome e a indigência de 32 milhões de brasileiros (algo próximo à população total do Canadá ou da Argentina). Nesse estudo, considerou-se como indigente a pessoa cuja renda familiar mensal correspondesse, no mínimo, ao valor de aquisição de uma cesta básica de alimentos que atendesse aos requerimentos nutricionais recomendados pela FAO/ONU (Food and Agriculture Organization/Organização das Nações Unidas) e OMS (Organização Mundial da Saúde). O Nordeste brasileiro apresentou o mais alto índice, com 40% de sua população em estado de indigência (FÓRUM BRASILEIRO DE SEGURANÇA ALIMENTAR E NUTRICIONAL, 2003).

A preocupação com a efetivação do direito à alimentação cresce, ainda que lentamente, ao longo da evolução da sociedade brasileira. Especialmente após a queda da ditadura militar começaram a despontar programas de combate à fome e à miséria no país. Em 1993, surgiu Herbert de Souza, o Betinho, que lançou a primeira campanha em nível nacional de combate à fome e à miséria (A PREOCUPAÇÃO..., 2003).

O projeto do governo federal, Fome Zero, é citado por representar um marco no processo de superação do problema da fome e da pobreza no Brasil. A coordenação do Fome Zero afirma que 27,05% da população, o equivalente a 46 milhões de pessoas que dispõem de menos de 1 U\$\$ por dia para sobreviver, passam fome. Já no terceiro mês de sua implantação como política governamental, que ocorreu em dezembro de 2003, foi alvo de críticas diárias. Economistas, sociólogos, especialistas em questões sociais, jornalistas, têm apontado para diversas falhas tanto no seu plano estrutural, quanto no seu plano de execução, muitas delas cruciais para que se obtenha o êxito esperado deste que vem a ser o maior projeto de combate à fome já realizado no Brasil (INDEFINIDO..., 2003).

A fome pode ser definida como a carência de alimentos que forneçam as calorias e os elementos nutritivos necessários à vida e à saúde do organismo por um período prolongado de tempo, gerando, assim, a subnutrição. De acordo com Adas (1988), a fome global, igualmente chamada de energética ou calórica, está caracterizada pela insuficiência de calorias adquiridas dos alimentos ingeridos diariamente. O organismo transforma os alimentos ingeridos em energia, a qual constitui o mecanismo propulsor para o desempenho das atividades diárias. Assim, é

indispensável que a alimentação seja suficiente para fornecer o equivalente em energia a ser desprendida nos trabalhos realizados (ADAS, 1988).

Nos estados carenciais, sobretudo crônicos, a ausência de determinados substratos mais que outros, repercutem intensamente sobre o equilíbrio dinâmico normal, demonstrando com isso, uma hierarquia bioquímica, imperceptível quando o organismo se mantém em homeostase. Dentro dessa hierarquia, destacam-se as proteínas, cujo significado devido à sua importante participação nas estruturas de órgãos e tecidos e de sua atuação na síntese enzimática assim como de hormônios protéicos, os quais colocam em movimento a quase totalidade das reações metabólicas (TRINDADE; NÓBREGA; TONETE, 1986).

Alterações metabólicas, endócrinas e comportamentais, em seres humanos e outros mamíferos, mostram-se amplamente descritas e discutidas na literatura. Modificações drásticas na dieta, ocasionando baixa ingestão calórica ou de baixo valor biológico nos primeiros anos de vida, proporcionarão alterações no desenvolvimento do organismo desnutrido (GOBATTO, 1993). Têm sido relatadas adaptações metabólicas ocorridas em função da desnutrição e suas implicações sobre diversas situações (BIORVEL, 1985). Demonstrou-se, também, que restrição severa na ingestão protéica durante toda ou parte da gestação afeta o curso da mesma em porcos e ratos (BIORVEL, 1985; MELLO *et al.*, 1987).

Reprodução, nutrição e longevidade são fenômenos relacionados na forma evolutiva das criaturas vivas, inclusive o homem. Por exemplo, se a nutrição está comprometida, a capacidade reprodutiva é diminuída para não ameaçar a vida do mamífero fêmea e seu feto por fome potencial durante gravidez (NILSSON, 2001). O impacto da desnutrição fetal em risco futuro de perturbações biológicas inclui risco aumentado de doença cardiovascular, envelhecimento prematuro e cessação de capacidade reprodutiva (NILSSON, 2001).

A restrição alimentar pode inibir tanto a manutenção como o início da capacidade reprodutiva (DESJARDINS; LOPES, 1983; NELSON *et al.*, 1992). A fase da vida do indivíduo na qual foi submetido a desnutrição alimentar, desencadeia efeitos que comprometem a reprodução de forma variável. Em ratos machos, sujeitos a desnutrição, foi observado interrupção do processo espermatogênico (SAID *et al.*, 1976) e mudança estrutural do testículo (RAMOS *et al.*, 2006), o que desencadeia cessação da capacidade reprodutiva em machos.

Não encontramos na literatura estudos sobre o efeito da desnutrição materna no período da lactação seguido do restabelecimento alimentar através de uma dieta balanceada, sobre o testículo e espermatogênese de ratos machos adultos. Sabendo que quanto mais precocemente se inicia a desnutrição, maior é a repercussão na massa corpórea e dos órgãos (DUNN; MURPHY; ROCKLAND, 1947); que diferenciação gonadal ocorre em fetos de ratos com 13,5 dias pós-concepção; e ainda que as células de Sertoli de ratos iniciam sua proliferação aos 16 dias pós-concepção e cessam sua divisão entre 10 e 16 dias de idade (ORTH, 1993), é pertinente estudar o efeito da desnutrição pós-natal em ratos adultos, visando analisar a morfometria testicular e o processo espermatogênico.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Investigar o efeito da desnutrição durante o período da lactação sobre o processo espermatogênico através da análise quantitativa e qualitativa do testículo na vida adulta.

2.2 Objetivos específicos

Análise do efeito da desnutrição pós-natal no testículo de ratos adultos, com ênfase nos seguintes aspectos:

1. Biometria e morfometria dos testículos;
2. Proporções volumétricas (%) entre os diferentes componentes do parênquima testicular;
3. Diâmetro do túbulo seminífero, altura do epitélio seminífero e comprimento total dos túbulos seminíferos;
4. Morfologia das células da linhagem espermatogênica e das células de Sertoli utilizando microscopia de campo claro;
5. Estimativa do número de células de Sertoli por testículo e por grama de testículo.

3 REVISÃO DE LITERATURA

3.1 Desnutrição

A desnutrição continua a ser uma das causas de morbidade e mortalidade mais comuns entre crianças de todo o mundo. No Brasil, embora a prevalência da desnutrição na infância tenha caído nas últimas décadas, o percentual de óbitos por desnutrição grave em nível hospitalar, se mantém em torno de 20%, muito acima dos valores recomendados pela OMS (inferiores a 5%) (BRASIL, 2005). A conseqüência mais comum da fome é a desnutrição. Se esta não atua diretamente em suas vítimas, debilita o organismo, tornando-o suscetível ao aparecimento de outras moléstias que, por sua vez, podem culminar na morte do indivíduo (ADAS, 1988).

A desnutrição pode ser apresentada em vários graus. A desnutrição leve e moderada, de primeiro e segundo grau respectivamente, que diminui a resistência do organismo, tornando-o vulnerável ao aparecimento de outras doenças; e a desnutrição grave, de terceiro grau, que exige hospitalização para seu tratamento. São exemplos o kwashiorkor e o marasmo (ADAS, 1988).

O kwashiorkor caracteriza-se por apresentar: inchaço do ventre, dando aspecto de balofo; lesões na pele; parada do crescimento; retardamento mental, às vezes irreversível; lesões no fígado, com degeneração gordurosa; descolorimento dos cabelos; comportamento apático, triste, retraído. As crianças chegam a atingir dois ou três anos de idade indiferentes ao mundo que as rodeia. Não engatinham nem andam, e geralmente morrem de doenças como a coqueluche, rubéola, sarampo e outras mais, que numa criança bem alimentada raramente causam a morte (ADAS, 1988).

O marasmo caracteriza-se por emagrecimento, parada no crescimento longitudinal e extrema debilidade. A criança chega a ter seu peso 60% inferior do normal (ADAS, 1988).

Não há um número exato de calorias diárias necessárias para prevenir a desnutrição. Esse fator varia de um indivíduo ao outro. Alguns especialistas admitem 3.000 calorias. Outros, argumentando que a vida moderna, devido à mecanização do trabalho e outras facilidades, exigem menor dispêndio de energia, afirmam que seriam necessárias apenas 2.200 calorias. No entanto, estima-se que nas sociedades industrializadas se consomem de 4.000 a 5.000 calorias por dia (ADAS, 1988). Conforme dados constantes no *site* do IBASE (Instituto Brasileiro de Análises

Sociais e Econômicas), no Brasil, a média é de 1.650 calorias diárias necessárias. No Brasil, estima-se que um terço da população é mal nutrida, e 9% das crianças morrem antes de completar um ano de vida (NO BRASIL..., 2003).

Josué de Castro aponta pelo menos cinco regiões alimentares, cada qual com sua dieta alimentar característica. Destas, destaca três delas como sendo áreas de fome: área Amazônica, área da Zona da Mata e área do Sertão Nordestino, que exibem marcas inconfundíveis de fome coletiva (CASTRO, 2001). Acrescenta ainda que o Brasil possui qualidades nutritivas precárias e padrões dietéticos incompletos e desarmônicos nas diferentes regiões do país. “Numas regiões, os erros e defeitos são mais graves e vive-se num estado de fome crônica; noutras, são mais discretos e tem-se a subnutrição” (CASTRO, 2001).

Neves (1993) sugere que quanto mais precocemente inicia-se a desnutrição, maior a probabilidade de óbitos em camundongos, devido provavelmente ao fato destes animais estarem em fase de crescimento e desenvolvimento, por conseguinte atividade metabólica intensa, necessitando portanto de nutrientes essenciais a constituição orgânica (DUNN; MURPHY; ROCKLAND, 1947) também relatam que a precocidade da desnutrição apresenta maior repercussão na massa corpórea e dos órgãos, pois o acentuado metabolismo desta fase é atributo essencial para levar ao crescimento e desenvolvimento.

Na carência protéica, inicialmente, o organismo lança mão de aminoácidos intra e extracelulares disponíveis, o que promove redução do *pool* interno de aminoácidos, ou seja, diminui a disponibilidade de matéria prima para a síntese protéica, o que acarreta em interrupção dos fenômenos de incorporação destinados ao crescimento, preservando a fisiologia e o metabolismo protéico básico à custa da interrupção do impulso anabólico. Posteriormente, inicia-se o desgaste das reservas funcionais e estruturais, pela metabolização protéica da massa muscular, a qual representa a maior reserva protéica, seguindo-se pela diminuição de aminoácidos às matrizes ribossômicas para a síntese protéica, sendo todos os órgãos prejudicados (MARCONDES, 1976).

Segundo Winick e Noble (1965), cada tecido do corpo, passam por estágios de desenvolvimento, cujo período varia de órgão para órgão. De 0 (zero) a 21 (vinte e um) dias de idade, ocorre hiperplasia celular em todo organismo do rato; do desmame aos 42 dias de idade, a hiperplasia celular é contínua, com exceção do

cérebro e pulmões; e dos 65 dias aos 86 dias de idade, ocorre hipertrofia celular em todos os órgãos, com exceção do tecido linfóide.

Embora não tenhamos encontrado relatos na literatura, supomos que a desnutrição pós-natal repercute negativamente na produção espermática, mesmo havendo uma posterior recuperação nutricional, uma vez que o desenvolvimento embrionário do testículo do rato inicia-se aos 13,5 dias pós-concepção e estende-se até o 10-16 dias de idade (ORTH, 1993).

3.2 Tireóide e a função testicular

A função da tireóide é a de produzir hormônios que aumentam a atividade metabólica em praticamente todos os tecidos (GAYTON, 2002). O recém-nascido tem nível elevado de tiroxina (T_4) logo após o nascimento – em média $10,8\mu\text{g/dl}$, que pode atingir $20\mu\text{g/dl}$ no sangue de cordão, como resposta à elevação abrupta do TSH hipofisário (KNOBEL, 2002; MANEBO, 1986). No terceiro dia de vida, momento preferencial para o rastreamento precoce do hipotireoidismo neonatal, os valores de T_4 , encontram-se em torno de $16\mu\text{g/dl}$ e não ultrapassam $20\mu\text{g/dl}$. Recém-nascidos prematuros apresentam níveis menores de T_4 , diretamente relacionados à idade gestacional, que geralmente não superam a concentração de $13\mu\text{g/dl}$.

Algumas doenças da tireóide são reconhecidas no período neonatal: o hipotireoidismo congênito, o hipotireoidismo transitório e o hipertireoidismo. O hipotireoidismo congênito é o estado clínico resultante da menor produção dos hormônios tireoidianos, eventualmente de uma ação inadequada destes ao nível celular. É geralmente diagnosticado pela dosagem de T_4 sérico em concentração 10 a 20% maiores do que 20U/ml . A maioria destes casos de hipotireoidismo é determinada por disgenesia glandular (SETIAN, 2002).

O hipotireoidismo transitório é detectado em áreas carentes de iodo, mais freqüentemente em prematuros, que apresentam hipotiroxinemia com duração, até, de 2 a 3 meses (SETIAN, 2002).

O hipertireoidismo neonatal é doença rara, que resulta da passagem transplacentária de imunoglobulinas estimuladoras da tireóide em gestante com doença de Graves (maioria) ou com tireoidite de Hashimoto (raro). Pode haver sintomas neonatais transitórios até o clareamento dos anticorpos maternos presentes no sangue do recém-nascido. Entretanto, existe uma forma mais rara de hipertireoidismo que resulta de mutação no receptor de TSH. O quadro é persistente,

ocorre na ausência de anticorpos maternos na circulação fetal e tem herança genética do tipo dominante (ARAÚJO *et al.*, 2003).

O papel dos hormônios tireoidianos na morfologia testicular tem sido discutido na literatura desde que estudos iniciais sugeriram que os testículos de animais adultos eram metabolicamente refratários aos hormônios da tireóide (OPPENHEIMER, 1974). Estudos das últimas décadas, porém demonstraram que a disfunção da tireóide está associada não somente com anormalidades da morfologia e função testicular, mas também com diminuição da fertilidade e alterações da atividade sexual em homens (KRASSAS, 2003; KRASSAS, 2002; CARANI, 2005).

A falência tireoidiana pré-puberal em homens pode ocorrer em associação com aumento do volume testicular e alterações e alterações nos hormônios sexuais (JANNINI, 1995).

Alterações morfológicas são verificadas nos testículos de homens com hipotireoidismo crônico, sendo observada redução do número de células de Sertoli e Leydig, redução do diâmetro tubular, edema intersticial e espessamento da membrana basal dos túbulos seminíferos (MENDIS-HANDAGAMA, 2005).

Os efeitos do *status* tireoidiano sobre a qualidade do sêmen tem sido objeto de alguns estudos. Observações iniciais descreveram oligospermia e diminuição da mobilidade dos espermatozóides em homens hipertireoidianos (CLYDE, 1976). Estudos mais recentes realizados em pacientes hipertireoideos também descreveram alterações significativas na densidade do esperma, acompanhadas de uma redução na mobilidade dos espermatozóides quando comparado a controles, achados que podem comprometer a fertilidade (KRASSAS, 2003; KRASSAS, 2002). Após a restauração do eutireoidismo a mobilidade e densidade foram reconstituídas, mas a morfologia dos espermatozóides permaneceu afetada (KRASSAS, 2002).

Estudos clínicos avaliaram 34 pacientes com hipertireoidismo e 14 com hipotireoidismo, ambos de início na fase adulta, e demonstraram que 12,8% desses homens apresentavam deterioração da função sexual (CARANI, 2005). O sintoma mais referido por pacientes hipertireoideos foi ejaculação precoce, enquanto os pacientes hipotireoideos relatavam um maior número de queixas clínicas como disfunção erétil, atraso na ejaculação, perda de libido e impotência. As alterações na função sexual foram corrigidas com a restauração da função tireoidiana (CARANI, 2005).

Modificações no status tireoidiano, quando ocorrem muito cedo no desenvolvimento do animal, podem afetar o funcionamento testicular (JANNINI, 1999; MAIA, 1990; PALMERO, 1989). Foi demonstrado que ratos imaturos que entravam em hipotireoidismo apresentavam um aumento relativo no peso do testículo e cauda do epidídimo, sem apresentarem alterações dos níveis séricos de testosterona e FSH (MAIA, 1990). Estudo mais recente confirma os achados anteriores mostrando que ratos com hipotireoidismo desde o período pós-natal apresentam não somente um declínio na capacidade de locomoção dos espermatozoides, mas também anormalidades na maturação das células germinativas no período da espermatogênese (WEISS, 1988). Essas alterações são corrigidas com a restauração da função tireoidiana (JANNINI, 1990).

Quanto maior o tempo de duração do hipotireoidismo no período de desenvolvimento, no qual as células testiculares mostram uma dependência maior aos hormônios tireoidianos, maior parece ser o grau de dano testicular (CHOWDHURY, 1984). Contudo, nenhuma alteração foi encontrada quando o hipotireoidismo foi induzido em animais adultos, o que corrobora a idéia de que possa existir uma janela específica durante o período de desenvolvimento em que a falta do hormônio é mais nociva (MAIA, 1990; JANNINI, 1990).

Alguns estudos demonstram que o período gestacional e/ou o período de aleitamento, em camundongos, é um período crítico para as mudanças nutricionais e hormonais da prole, uma relação que tem sido chamada de programação. Muitos desses estudos estabelecem que haja uma relação entre o tipo de dieta dada às mães e as possíveis alterações, de diversas naturezas, ocorridas no recém-nascido (LUCAS, 1994; MOURA; PASSOS, 2005).

Durante o período de desenvolvimento os hormônios e seus receptores exercem marcantes efeitos tecido-específico e idade-específico (DAUNCEY *et al.*, 2001). Como exemplo tem o efeito dos hormônios tireoidianos que desempenham importante papel em basicamente todas as funções do organismo, tais como o crescimento e desenvolvimento somático e neural, a termogênese, o metabolismo intermediário e a função sexual (FISHER *et al.*, 1977; BARRADAS *et al.*, 2000; MOURA *et al.*, 2002).

Uma dieta com baixo teor protéico administrada a mães no período gestacional provoca má formação dos folículos tireoidianos, retardo na área glandular e diminuição do número de folículos da tireóide dos fetos e recém-

nascidos (SHRADER *et al.*, 1977), e foi detectado também redução nos níveis de T_3 fetal como conseqüência da inibição da estimulação tireoidiana pelos baixos níveis de TSH, em fetos ou recém-nascidos em fase de aleitamento (FRIEDMAN; ZEMAN, 1979).

O aumento dos níveis de T_3 na circulação materna, decorrente da desnutrição, é transferido para o feto através da circulação placentária. De fato, a desnutrição materna, eleva os níveis de T_3 dos fetos, passando assim a ter também um alto nível desse hormônio proveniente das mães (PASSOS *et al.*, 2001).

A desnutrição protéica, no período de aleitamento, está associada com a disfunção tireoidiana, analisados nos primeiros 60 dias (RAMOS *et al.*, 1997) ou 180 dias de vida dos filhotes (PASSOS *et al.*, 2002). Essas mudanças, possivelmente, são conseqüência de uma alta concentração de T_3 na prole em amamentação, devido ao hipertireoidismo materno durante a desnutrição (RAMOS *et al.*, 2000; LISBOA *et al.*, 2003). A alta concentração do T_3 no soro materno é transmitida para o leite materno, o qual é transferido para o filhote (PASSOS *et al.*, 2001).

Animais desnutridos, durante a vida neonatal, apresentam um hipotireoidismo na fase adulta. Diversas alterações são constatadas, em conseqüência desse hipotireoidismo, como a diminuição na produção dos hormônio hipotalâmicos (TRH) e hipofisários (TSH) (JOLIN; LAMAS, 1984) que conseqüentemente interfere no metabolismo tireoidiano, alterando assim a produção de T_3 e T_4 (MOURA *et al.*, 1987; HARRIS *et al.*, 1978). Mudanças semelhantes foram constatadas em humanos adultos (RASTOGI *et al.*, 1974) e animais (ROSTOM DE MELLO *et al.*, 1989).

3.3 Morfologia testicular

A análise da morfofisiologia testicular, especialmente daqueles aspectos relacionados com a atividade espermatogênica, é fundamental para propiciar uma visão dos efeitos de um determinado fator (substância química, situação nutricional, extratos vegetais, atividade física, ambiente, entre outros) sobre a função reprodutiva da espécie. De acordo com Amann e Schanbacher (1983), a biometria testicular deve ser parte integrante de qualquer exame andrológico ou de experimentos que envolvam a função reprodutiva masculina, possibilitando, assim, a verificação da normalidade dos testículos e o estabelecimento do potencial de produção de espermatozoides, dentre outros parâmetros. Normalmente existe

correlação positiva entre o diâmetro tubular e a atividade espermatogênica do testículo (FRANÇA; RUSSELL, 1998). A obtenção da proporção volumétrica entre os diversos componentes do testículo e do epitélio seminífero, também fornece importantes dados para se avaliar a função testicular (RUSSELL *et al.*, 1990b; FRANÇA, 1991).

A espermatogênese é um complexo processo que ocorre nos túbulos seminíferos e perdura por cerca de 40 a 60 dias nos mamíferos domésticos (STANBENFELD; EDQVUIT, 1996; FRANÇA; RUSSELL, 1998). Baseado em considerações funcionais este processo pode ser dividido em três fases (RUSSELL *et al.*, 1990a): 1) Fase proliferativa (espermatogônias), na qual as células sofrem rápidas e sucessivas divisões mitóticas, formando várias gerações celulares cujo número é espécie-específico; 2) Fase meiótica (espermatócitos), na qual o material genético é duplicado, recombinado e segregado, sendo esta fase muito importante para a diversidade biológica entre membros da mesma espécie; 3) Fase espermiogênica ou de diferenciação (espermátides), onde as espermátides se transformam em células extremamente especializadas e estruturalmente equipadas para alcançar e fertilizar os ovócitos.

Nos túbulos seminíferos de animais sexualmente maduros, as células espermatogênicas não estão arranjadas ao acaso, mas sim organizadas numa série bem definida de associações celulares ou estádios. Estes estádios se sucedem numa determinada área do epitélio seminífero, com o decorrer do tempo. Esta seqüência, assim ordenada, constitui o processo denominado Ciclo do Epitélio Seminífero (LEBLOND; CLERMONT, 1952; SWIERSTRA, 1968; ORTAVANT *et al.*, 1977; RUSSELL *et al.*, 1990a; O'DONNELL *et al.*, 2001). Em todos os mamíferos domésticos investigados o arranjo dos estádios é segmentado e, usualmente, ocorre somente um estádio por secção transversal de túbulo seminífero. Entre os métodos utilizados para se estudar os estádios do ciclo do epitélio seminífero, o mais empregado nos animais domésticos é aquele baseado na forma e na localização dos núcleos das espermátides e na presença de figuras de divisões meióticas (ROOSEN-RUNGE; GIESEL Jr., 1950; COUROT *et al.*, 1970; ORTAVANT *et al.*, 1977; GUERRA, 1983; FRANÇA, 1991), método este designado como da morfologia tubular por Berndtson (1977), que classifica 8 estádios do ciclo do epitélio seminífero. Outro critério utilizado para a identificação dos estádios do ciclo baseia-se nas características morfológicas das espermátides, em particular de seus núcleos

e do desenvolvimento do sistema acrossômico. Com este método, no qual os estádios são arbitrariamente designados, o número de estádios é relativamente variado (RUSSELL *et al.*, 1990a).

O desenvolvimento e a função do epitélio germinativo estão intimamente relacionados com o desenvolvimento das células somáticas do testículo (HOCHEREAU *et al.*, 1987). Assim, as células somáticas são fundamentais para a função normal do sistema reprodutivo no macho (RUSSELL *et al.*, 1994). Por exemplo, as células de Leydig produzem testosterona e os receptores para este hormônio estão localizados nas próprias células de Leydig, células peritubulares e células de Sertoli.

Nos testículos normais de animais adultos as células de Sertoli são essenciais para o desenvolvimento do processo espermatogênico (ORTH *et al.* 1988; RUSSELL, 1993). Quando o desenvolvimento das células germinativas se completa, as espermátides maduras são liberadas pelas células de Sertoli dentro do lúmen, e passam por um sistema de duto coletor, conhecido como rede testicular antes de entrarem no epidídimo pelos ductos eferentes (O'DONNELL *et al.*, 2001).

3.3.1 Células de Sertoli

Existe uma série de interações complexas locais entre as células de Sertoli e de Leydig. Essas interações servem para dois propósitos: coordenar as funções dos três compartimentos testiculares (túbulos seminíferos, interstícios e vasos) e controle de uma complexa, mas ordenada, seqüência de eventos que constitui o ciclo espermatogênico (SHARPEL, 1986).

A célula de Sertoli é importante para o controle das células germinativas, tanto a respeito da função nutritiva como da reguladora (STANBENFELD; EDQVIST, 1996; JOHNSON, 1991). As células de Sertoli são grandes, tem nucléolos evidentes e estão situadas basalmente dentro do túbulo. Estas células têm longos processos que contornam os espermatócitos e espermátides e provém uma estreita interação com as células germinativas durante todo o seu desenvolvimento (STANBENFELD; EDQVIST, 1996; JOHNSON, 1996).

As células de Sertoli são interconectadas por "*tight junctions*" localizadas em regiões basais dos túbulos seminíferos, formando uma barreira hemato-testicular funcional, delimitando assim dois compartimentos anatômicos e funcionais nos túbulos seminíferos: um compartimento basal contendo espermatogônias e

espermátocitos no estágio de pré-leptóteno e um compartimento adluminal preenchido por espermátocitos primários em estágios posteriores, espermátocitos secundários e espermátides arredondadas e alongadas (DADOUNE; DEMOULIN, 1993; AMANN, 1983). Durante o processo de maturação os espermátocitos que se originam das espermatogônias no compartimento basal do túbulo, deslocam-se através de “*tight junctions*” e terminam seu desenvolvimento no compartimento adluminal do túbulo (STANBENFELD; EDQVIST, 1996; AMANN, 1983).

As células de Sertoli têm como função (RUSSELL *et al.*, 1990a; SHARPE, 1994): controle da maturação e da migração das células germinativas; estão envolvidas na síntese de proteínas e esteróides (DADOUNE; DEMOULIN, 1993); fagocitam células germinativas em degeneração (DADOUNE; DEMOULIN, 1993; AMANN, 1983) bem como, corpos citoplasmáticos residuais deixados por espermátides adultas quando na espermatogênese (JOHNSON, 1991; AMANN, 1983); estão envolvidas no controle das secreções entre os compartimentos tubular e intersticial (DADOUNE; DEMOULIN, 1993).

A atividade secretória da célula de Sertoli é controlada pelo FSH. Os receptores de membrana para FSH e os receptores nucleares e citoplasmáticos para os andrógenos estão presentes nas células de Sertoli (STANBENFELD; EDQVIST, 1996). Uma vez que as células germinativas não possuem receptores para FSH e testosterona, os sinais hormonais são traduzidos pelas células de Sertoli e células peritubulares (KRETZER *et al.*, 1998). Ela converte a testosterona produzida pela célula de Leydig em estrogênios. Os estrogênios vão tanto para dentro do compartimento adluminal quanto do compartimento basal dos testículos. A partir deste último compartimento, os estrógenos podem ir para o sistema vascular sanguíneo (STANBENFELD; EDQVIST, 1996).

A célula de Sertoli converte a testosterona em desidrotestosterona, um androgênio de maior potência biológica que a testosterona; a testosterona também se desloca através da célula de Sertoli para o compartimento adluminal sem ser transformada (STANBENFELD; EDQVIST, 1996). Apesar do FSH não ser essencial à espermatogênese, ele é essencial para uma espermatogênese normal quanto à quantidade e fertilidade. Em termos da regulação endócrina da espermatogênese por FSH, LH e andrógenos, sabe-se que o início e manutenção da espermatogênese quantitativamente normal, portanto para a fertilidade, existe um delicado balanço do eixo hipotalâmico-hipofisário-testicular (O`DONNEL *et al.*, 2001).

O número de células de Sertoli no testículo estabelece o limite superior de produção espermática porque cada célula de Sertoli suporta um número relativamente fixo de células germinativas (RUSSELL; PETERSON, 1984; SINHA-HIKIM *et al.*, 1989; HOLSBERGER *et al.*, 2003; COOKE, 1991).

A regulação da proliferação de células de Sertoli e os fatores que controlam o estabelecimento da população no adulto são importantes (HOLSBERGER *et al.*, 2003; COOKE, 1991). Dentre estes fatores temos o gene SRY (MACKAY, 2000), o hormônio folículo estimulante (FSH), os hormônios tireoidianos (HOLSBERGER *et al.*, 2003; COOKE, 1991), entre outros.

Na gônada indiferenciada, o gene SRY inicia a diferenciação das células somáticas gonadais em célula de Sertoli. Estas células proliferam ativamente pelo resto da vida fetal e por um período pós-natal. Quando cessa a proliferação, a população de células de Sertoli da fase adulta está estabelecida, e não ocorre mais mitoses nestas células. As células de Sertoli de ratos iniciam sua proliferação aos 16 dias pós-concepção (ORTH, 1993), e em ratos e camundongos cessam sua divisão entre 10 e 16 dias de idade (MACKAY, 2000; SHARPE *et al.*, 2000).

O número de células de Sertoli propicia base para o estudo de alterações no processo espermatogênico, em decorrência de fatores patológicos e terapêuticos (ROWLEY; HELLER, 1971; RUSSELL; CLERMONT, 1977; KUMI-DIAKA *et al.*, 1983; SINHA-HIKIM *et al.*, 1985; RUSSELL *et al.*, 1990b), dentre outros.

Tendo o conhecimento que a desnutrição desencadeia distúrbios tireoideanos e ainda que doenças na tireóide prejudiquem a fisiologia testicular, é propósito deste trabalho averiguar o efeito da desnutrição de ratos na fase pós-natal sobre o seus testículos na fase adulta.

4 METODOLOGIA

4.1 Grupos de animais

Ratas Wistar foram mantidas em biotério com temperatura estável ($23\pm 1^{\circ}\text{C}$) e ciclo diário de 12 horas de claro e 12 horas de escuro, controlados. Aos 3 (três) meses de idade estes animais foram acasalados na proporção de 2 (duas) fêmeas para 1 (um) macho, recebendo dieta padrão “labina” (Purina do Brasil), até o nascimento dos filhotes, quando foram divididos em 2 grupos de estudo:

1- Controle (C): mães com livre acesso a água e dieta padrão “Labina” (Purina do Brasil), cuja composição é demonstrada na tabela 1.

2- Desnutrido (D): mães com livre acesso a água e dieta multicarencial (Dieta Básica Regional – DBR), de acordo com Teodósio *et al.*, 1990 (Tabela 2).

A dieta multicarencial foi administrada as mães a partir do dia do nascimento dos filhotes, quando a ninhada foi ajustada em número de 6 filhotes por fêmea. Este número de filhote foi escolhido porque, segundo Fishbeck e Rasmussen (1987), parece ser este o número de animais que confere o maior potencial lactotrófico. O peso corporal dos lactantes foi aferido diariamente até a eutanásia dos mesmos.

Aos 21 dias de nascidos os filhotes foram desmamados e nutridos com dieta padrão “labina” até os 94 dias de idade, quando foi realizado a eutanásia.

Para a manutenção dos animais utilizou-se o biotério do Anexo do Departamento de Anatomia, CCB – UFPE. Este protocolo foi submetido ao Comitê de Ética em Experimentação Animal (CEEA) da UFPE, sob número 015701 / 2006 - 69 e foi aprovado em 14/12/2006 (Anexo 1).

4.2 Dieta Básica Regional (DBR)

A DBR foi preparada e cedida pelo Departamento de Nutrição da Universidade Federal de Pernambuco. Esta dieta tem a forma de um *pellet* constituído de: feijão mulatinho (*Phaseolus vulgaris*), charque, batata doce (*Iponea batatas*) e farinha de mandioca (*Manihot esculenta*). Este *pellet* apresenta um teor deficitário de proteínas, calorias, gorduras, vitaminas e sais minerais (TEODÓSIO *et al.*, 1990), especificado na tabela 2.

Tabela 1. Composição da dieta padrão “Labina” (Purina do Brasil), utilizada na alimentação do grupo controle(C).

ENRIQUECIMENTO (Kg de ração) *		NÍVEIS DE GARANTIA *	
Vitamina A	20000 UI	Umidade (Max.)	13%
Vitamina D ₃	6000 UI	Proteína (mín.)	23%
Vitamina E	30 UI	Extrato Etéreo (mín.)	2,5%
Vitamina K	6 mg	Matéria Fibrosa (Max.)	9,0%
Vitamina B ₁₂	10 µg	Matéria Mineral (Max.)	8,0%
Vitamina B ₂	8 mg	Cálcio (máx.)	1,8%
Pantotenato de Cálcio	24 mg	Fósforo (mín.)	0,0%
Niacina	95 mg		
Tiamina	4 mg		
Colina	2000 mg		
Piridoxina	6 mg		
Biotina	0,1 mg		
Ácido Fólico	0,5 mg		
Manganês	50 mg		
Iodo	2 mg		
Ferro	65 mg		
Zinco	35 mg		
Cobre	26 mg		
Antioxidante	100 mg		

* COMPOSIÇÃO BÁSICA: Milho, farelo de trigo, farelo de soja, farinha de carne, farelo de arroz cru, carboneto de cálcio, fosfato bicálcico, sal, pré-mix. (*). Segundo Purina do Brasil.

Tabela 2. Composição centesimal da Dieta Básica Regional (DBR).

Ingredientes	Composição Centesimal						Kcal %
	G%	Proteínas	Carboidrato	Lipídios	Cinzas	Fibras	
Feijão cozido e seco	18,34	3,99	10,66	0,24	0,57	1,09	60,67
Farinha de mandioca	64,81	0,84	48,59	0,12	0,43	5,64	198,80
Carne seca salgada	3,74	2,74	-	0,06	0,06	-	11,50
Gordura da carne seca salgada	0,35	-	-	0,35	-	-	3,15
Batata doce	12,76	0,30	9,99	0,03	0,20	0,48	41,43
TOTAL	100,00	7,78	69,24	0,80	1,26	7,21	315,64

Teodósio *et al.*, 1990.

4.3 Colheita dos testículos

Aos 94 dias de idade, os animais dos grupos controle (n=6) e desnutrido (n=6) foram pesados e anestesiados, via subcutânea, com uma associação de duas substâncias anestésico-sedativas: 0,5ml de cloridrato de xilazina (2,3g/100ml) e 1,75ml de cloridrato de ketamina (50,0 mg/1ml), por quilo de peso corporal. Após a anestesia os ratos foram afixados em decúbito dorsal em mesa cirúrgica, e uma incisão longitudinal mediana no escroto foi realizada para a orquiectomia (remoção cirúrgica do testículo). Após este procedimento, cada testículo foi pesado, fixado por imersão em solução de paraformaldeído a 4% em tampão fosfato (0,05M – pH 7,4), e direcionado para processamento histológico.

4.4 Cálculo do índice gonadossomático (IGS)

Com a obtenção dos pesos corporal e testicular no dia do sacrifício, calculamos o IGS, o qual corresponde à relação percentual entre a massa testicular e o peso corporal para todos os ratos dos dois grupos experimentais.

4.5 Processamento histológico

Para as análises microscópicas os fragmentos colhidos dos testículos fixados, foram desidratados em série crescentes de álcool etílico (70% a 100%) e incluídos em parafina, segundo técnica rotineira. Posteriormente, foram seccionados em micrótomo, para obtenção de cortes histológicos com 4 μ m de espessura, os quais foram corados pela técnica de hematoxilina-eosina (HE). Após coloração, os cortes foram montados e analisados em microscópio de campo claro, com aumentos de 100x a 1000x. As análises histológicas e morfométricas foram feitas de acordo com França (1991) e Neves (2001), e realizadas nos Laboratórios do Anexo do Departamento de Anatomia, CCB-UFPE.

4.6 Análise histológica dos testículos

Ao microscópio de campo claro, foi analisado o aspecto morfológico do parênquima testicular dos ratos dos grupos controle e desnutrido para identificação das regiões de túbulos seminíferos (túnica própria, epitélio seminífero e lume tubular) e intertúbulo, e ainda os seus constituintes celulares: 1) células da linhagem germinativa; 2) células de Sertoli; e 3) células de Leydig.

4.7 Análise morfométrica do testículo

4.7.1 Proporções volumétricas (%)

As proporções volumétricas entre os diferentes componentes do parênquima testicular (túnica própria, epitélio seminífero, células de Leydig, células e fibras do tecido conjuntivo, vasos sanguíneos e espaço linfáticos) foram estimadas utilizando-se um retículo com 441 intersecções (pontos) associado a ocular, em aumento de 400x. Para cada animal foram analisados 15 campos, escolhidos ao acaso, perfazendo um total de 6615 pontos.

4.7.2 Túbulo seminífero: diâmetro, altura do epitélio seminífero.

O diâmetro do túbulo seminífero (DT) e a altura do epitélio seminífero (AE) foram medidos através do perfil transversal de 30 túbulos diferentes, escolhidos aleatoriamente, sendo completamente circulares, ou os mais circulares possíveis. As 30 secções obtidas foram capturadas pelo sistema de captura de imagem constituído por microscópio (OLYMPUS BX50), acoplado a uma microcâmara SANSUNG (Modelo SHC 410 NAD HL), conectado a um computador (PENTIUM II DE 2000Mhz) contendo placa de captura de imagem e software para morfometria (Power VCR II). Com o programa Scion Image for Windows, Beta 4.0.2, foram realizadas as medições de DT e AE, sendo cada medida resultante da média obtida de 2 medidas diametralmente opostas. Os valores medidos para DT e AE foram corrigidos para o valor de retração de 15% decorrente do processamento histológico em parafina (FRANÇA, 1991).

4.7.3 Comprimento dos túbulos seminíferos (CTS)

O comprimento total dos túbulos seminíferos (CTS) por testículo, expresso em metros, foi obtido pela divisão do volume do túbulo seminífero (VTS) pelo resultado da multiplicação do quadrado do raio do túbulo seminífero e o valor de π (ATTAL; COUROT, 1963; DORST; SAJONSKI, 1974). O VTS (mL) para os grupos controle e desnutrido foram estimado a partir do conhecimento do percentual ocupado pelo túbulo seminífero no testículo e do conhecimento do volume líquido do testículo. Como a densidade do testículo é igual a 1,04g/mL (densidade = massa/volume) (FRANÇA, 1991), o peso do testículo foi considerado igual ao seu volume.

O comprimento de túbulo seminífero por grama de testículo corresponde à razão entre o comprimento tubular total e o peso líquido do testículo.

4.7.4 Número de células de Sertoli por testículo

Os números de células de Sertoli obtidos por animal e por grupo foram corrigidos para o diâmetro nucleolar e espessura do corte histológico, para isso, foram contadas somente células de Sertoli com nucléolos visíveis, esta correção foi realizada utilizando-se a fórmula de Abercrombie (1946), modificada por Amann (1962), conforme segue:

$$N^{\circ} \text{ corrigido} = \text{contagem obtida} \times \frac{\text{Espessura do corte}}{\text{Espessura do corte} + \sqrt{(\text{DN}/2)^2 - (\text{DN}/4)^2}}$$

O diâmetro nucleolar médio (DN) representa a média das medidas dos diâmetros de 10 nucléolos de células de Sertoli para cada animal dos grupos experimentais (controle e desnutrido).

Os 10 nucléolos de células de Sertoli obtidos foram capturadas pelo sistema de captura de imagem constituído por microscópio (OLYMPUS BX50), acoplado a uma microcâmara SANSUNG (Modelo SHC 410 NAD HL), conectado a um computador (PENTIUM II DE 2000Mhz) contendo placa de captura de imagem e software para morfometria (Power VCR II). Com o programa Scion Image for Windows, Beta 4.0.2, foram realizadas as medições desses diâmetros nucleolares nas imagens capturadas. Os valores medidos para diâmetro nucleolar de célula de Sertoli foram corrigidos para o valor de retração de 15% decorrente do processamento histológico em parafina (FRANÇA, 1991).

4.8 Análise estatística

Os resultados obtidos foram analisados com auxílio do programa “Excel for Windows”, tendo sido estimadas as médias, desvios padrões e erros padrões da média (EPM). Os dados foram representados em média \pm erro padrão. O teste *t* de Student foi aplicado usando o programa SIGMASTAT do Windows versão 2.0. Os valores de $p < 0,05$ foram considerados significantes (SAMPALHO, 1998).

5 RESULTADOS

5.1 Curva ponderal

A curva ponderal ilustrada na figura 1 demonstra que a partir do 15º dia de vida, iniciou-se um aumento diferenciado do peso corporal de ambos os grupos, de tal forma que os valores para o grupo desnutrido permaneceram significativamente ($p < 0,05$) inferiores até o 74º dia de vida, quando pesavam aproximadamente, 280 gramas. Já o controle aos 74º dias de vida pesava, aproximadamente, 300 gramas. A partir dos 74 dias de idade os ratos dos dois grupos experimentais apresentaram os pesos corporais semelhantes até o 94º dia de vida quando foram sacrificados.

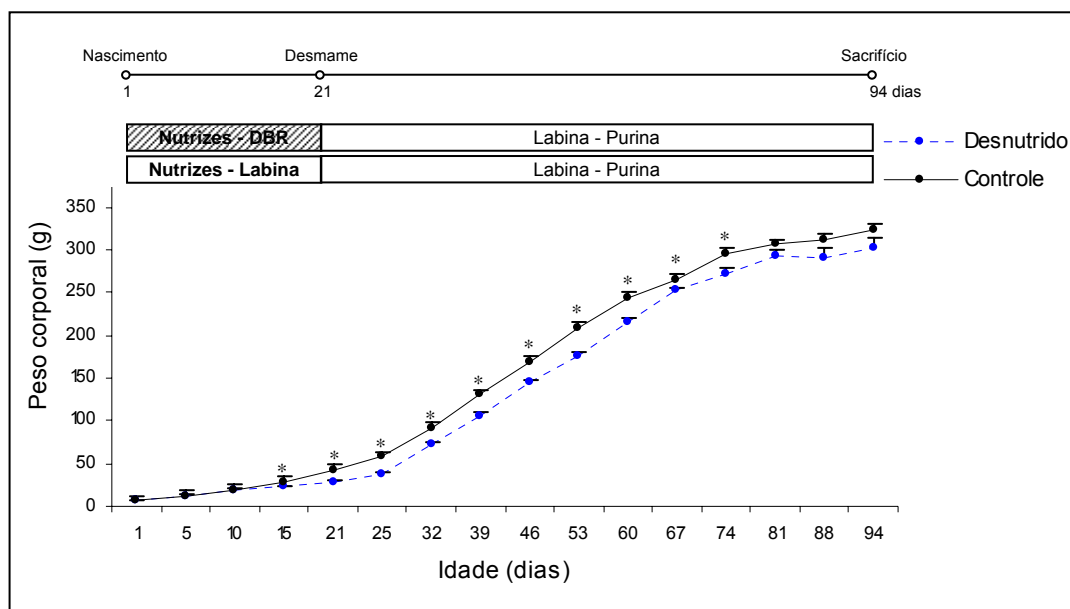


Figura 1. Curva ponderal comparando os pesos corporais dos grupos controle e desnutrido de ratos Wistar, do nascimento ao sacrifício (94º dia). Ratos Wistar foram acasaladas e receberam ração comercial (Labina-Purina) até o nascimento dos filhotes, quando foram divididos em dois grupos: controle ($n = 6$) cuja mãe continuou recebendo a mesma ração comercial até o desmame (21º dia) e desnutrido ($n = 6$) cuja mãe passou a receber DBR até o 21º dia, quando também foram desmamados. As proles dos grupos desnutrido e controle, após o desmame, foram submetidos à ingestão de Labina-Purina. Resultados expressos com média±erro padrão. Significância estatística (testes t). * $p < 0,05$.

5.2 Pesos corporais, testiculares e índice gonadossomático (IGS)

Os pesos corporal (PC) e testicular (PT) do grupo controle ($324 \pm 6g$; $1,67 \pm 0,05g$) não diferiram dos pesos corporal e testicular do grupo desnutrido ($303 \pm 10g$; $1,67 \pm 0,03g$). Já o índice gonadossomático (IGS) do grupo desnutrido

(1,11%) foi significativamente maior ($p=0,021$) do que o IGS do grupo controle (1,04%) (Figura 2).

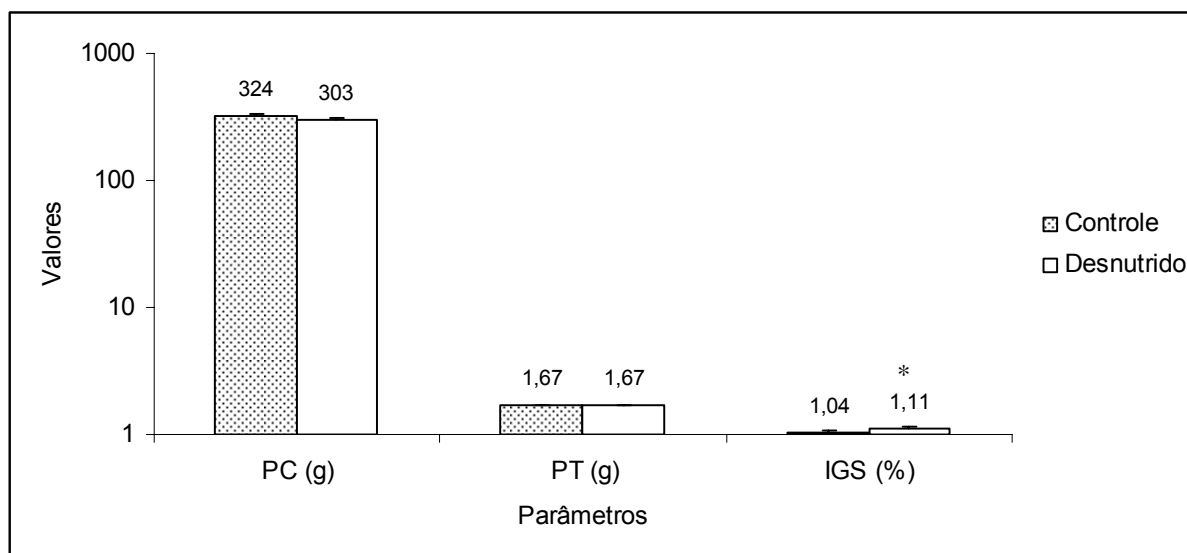


Figura 2. Pesos corporais (PC), testiculares (PT) e índices gonadossomáticos (IGS) de ratos adultos (94 dias) submetidos à desnutrição pós-natal com DBR, e ratos controle. Ratos Wistar foram acasaladas e receberam ração comercial (Labina-Purina) até o nascimento dos filhotes, quando foram divididos em dois grupos: controle ($n = 6$) cuja mãe continuou recebendo a mesma ração comercial até o desmame (21º dia) e desnutrido ($n = 6$) cuja mãe passou a receber DBR até o 21º dia, quando também foram desmamados. As proles dos grupos desnutrido e controle, após o desmame, foram submetidos à ingestão de Labina-Purina. Resultados expressos como média \pm erro padrão. Significância estatística (teste t) * $p < 0,05$.

5.3 Identificação dos compartimentos testiculares

Foi observado nos 2 (dois) grupos de estudo, controle e desnutrido, que o testículo encontrava-se envolvido por uma cápsula fibrosa, e exibia 2 (dois) compartimentos maiores, o compartimento intertubular ou intersticial e o compartimento de túbulos seminíferos, como descrito na literatura (RUSSELL *et al.*, 1990a; NEVES, 2001). O compartimento intersticial contendo vasos sanguíneos e espaços linfáticos, células de Leydig como o tipo celular mais freqüente, além de células e fibras do conjuntivo (Figura 3A e 3B).

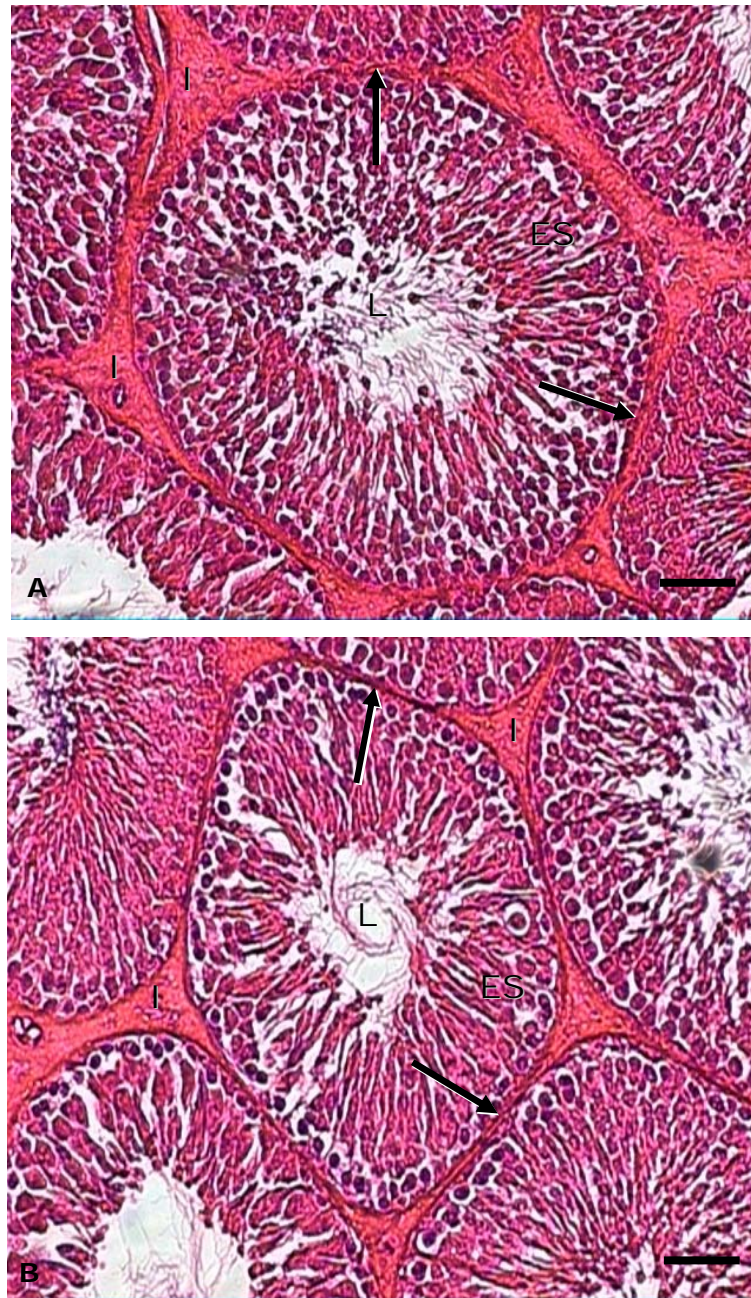


Figura 3. Fotomicrografia da secção transversal dos testículos de ratos controle (A) e desnutrido (B), com região tubular (Epitélio seminífero – ES), lume tubular(L), túnica própria (→) e região intertubular (I) bem diferenciada. Hematoxilina - Eosina, barra = 54 μ m.

5.4 Morfologia das células da linhagem espermatogênica e das células de Sertoli

Nos grupos controle e desnutrido foram encontrados, no interior do túbulo seminífero, o epitélio seminífero e o lume tubular, circunscrito pela túnica própria

(Figura 3). No epitélio seminífero observamos células da linhagem germinativa, as células espermatogênicas, e células somáticas, as células de Sertoli. As células espermatogênicas são as espermatogônias, espermatócitos primários e secundários, e as espermatídes arredondadas e alongadas (Figura 4). As espermatogônias residem no compartimento basal, geralmente com uma superfície aplainada ao longo da membrana limitante e outra superfície arredondada. Os espermatócitos primários são os tipos celulares mais observados no epitélio seminífero, por ser uma fase celular excepcionalmente demorada, apresentando uma grande variação no volume nuclear. Os espermatócitos secundários só são observados nos túbulos seminíferos na fase meiótica, e tem seu núcleo com morfologia muito próxima das espermatídes arredondadas em fase inicial, só diferindo porque esta última tem menor tamanho. As espermatídes alongadas apresentam seu núcleo com o formato alongado, estando localizadas nas criptas das células de Sertoli (indo de criptas profundas a criptas apicais). As espermatogônias, espermatócitos e espermatídes arredondadas são observadas sucessivamente, indo da base em direção ao lume tubular. As espermatídes alongando e alongadas ocupam as criptas das células de Sertoli, e por isso parece estar entre os outros tipos de células espermatogênicas. As células de Sertoli estendem-se da base do túbulo seminífero ao seu lume, estando em contato com todos os tipos de células espermatogênicas.



Figura 4. Fotomicrografia da secção transversal de túbulo seminífero com células espermatogênicas (espermatogônias (A), espermatócitos primários (E), e as espermatídes arredondadas (Ar) e alongadas (Al)) e células de Sertoli (CS). Hematoxilina - Eosina, barra = 26 µm.

5.5 Dados morfométricos do túbulo seminífero

O diâmetro tubular e a altura do epitélio seminífero podem variar em decorrência de uma série de fatores. Desta forma, os mesmos são parâmetros classicamente utilizados como indicadores de atividade espermatogênica em investigações envolvendo função testicular (NEVES, 2001; HESS *et al.*, 1993). O diâmetro tubular (DT) do grupo controle ($295\pm 2\mu\text{m}$) foi muito semelhante ao grupo desnutrido ($300\pm 3\mu\text{m}$), da mesma forma o comprimento do túbulo seminífero por testículo (CTS) do grupo controle ($18\pm 1,7\text{m}$) foi muito próximo do CTS do grupo desnutrido ($16,9\pm 0,7\text{m}$), ou seja, não houve diferença estatística significativa ($p>0,05$). Entretanto a altura do epitélio seminífero (AES) do grupo desnutrido ($74\pm 2\mu\text{m}$) foi estatisticamente menor ($p<0,05$) do que a AES do grupo controle ($82\pm 3\mu\text{m}$) (Figura 5). Os valores medidos para DT e AES foram corrigidos pelo fator de retração linear de 15%, em decorrência da contração tecidual do testículo devido ao processamento histológico para inclusão em parafina (FRANÇA, 1991).

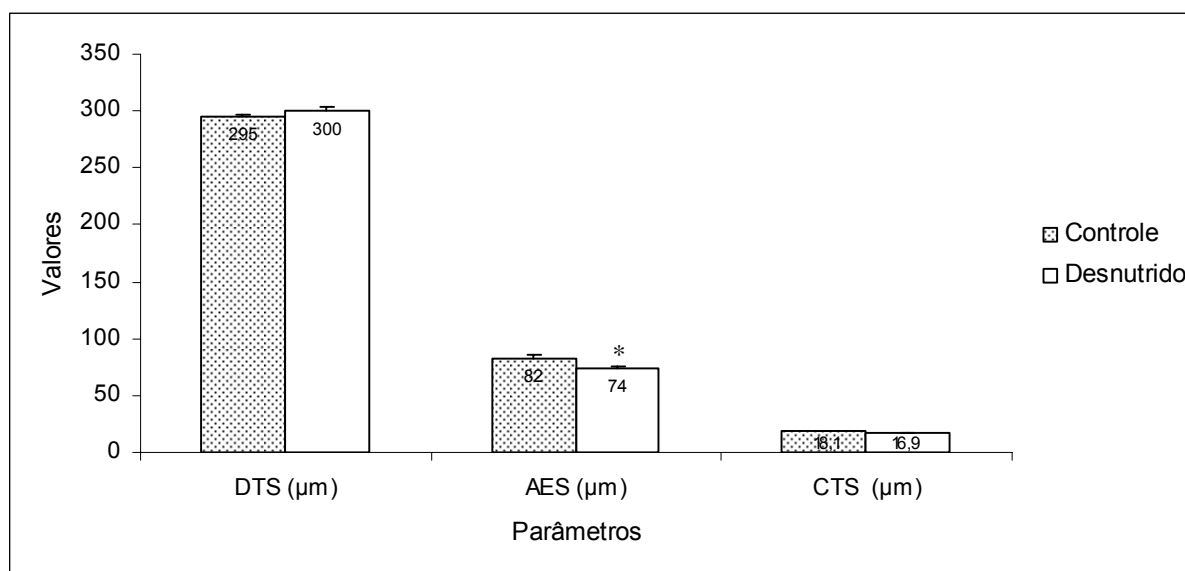


Figura 5. Diâmetro do túbulo seminífero (DTS - μm), altura do epitélio seminífero (AES - μm) e comprimento total do túbulo seminífero (CTS - μm) de ratos adultos (94 dias) submetidos à desnutrição pós-natal, com DBR e ratos controle. Ratos Wistar foram acasaladas e receberam ração comercial (Labina-Purina) até o nascimento dos filhotes, quando foram divididos em dois grupos: controle ($n = 6$) cuja mãe continuou recebendo a mesma ração comercial até o desmame (21º dia) e desnutrido ($n = 6$) cuja mãe passou a receber DBR até o 21º dia, quando também foram desmamados. As proles dos grupos desnutrido e controle, após o desmame, foram submetidos à ingestão de Labina-Purina. Resultados expressos como média \pm erro padrão. Significância estatística (teste t) * $p<0,05$.

5.6 Proporção volumétrica dos componentes testiculares

A proporção de túbulos seminíferos foi significativamente menor ($p < 0,05$) nos animais do grupo desnutrido (84,0%) em relação ao grupo controle (81,7%) (Figura 6). Neste compartimento apenas o lume tubular teve sua proporção reduzida significativamente ($p < 0,05$) no grupo desnutrido (18,6%), comparado ao grupo controle (21,1%), sem, entretanto, haver alteração significativa nas proporções de epitélio seminífero (C=58,4%; D=57,5%) e túnica própria (C=4,6%; D=5,6%) nestes grupos (Figura 7).

Não foi observada diferença significativa na proporção do compartimento intertubular, ao comparar-se o grupo desnutrido e o grupo controle (Figura 6). Entretanto neste compartimento houve um aumento significativo ($p < 0,05$) na proporção do espaço linfático e de células e fibras do conjuntivo no grupo desnutrido (2,9%; 4,0%) em relação ao grupo controle (1,5%; 2,3%) (Figura 8). A proporção de células de Leydig no espaço intertubular não apresentou diferença decorrente da desnutrição durante o período de aleitamento (C = 9,9%; D = 8,9%).

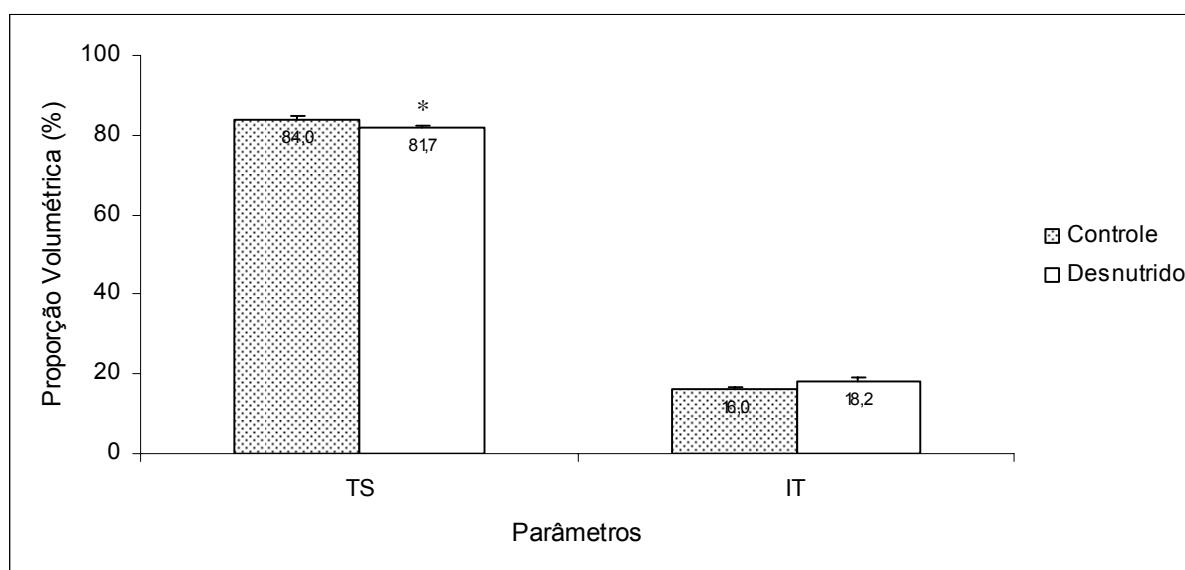


Figura 6. Proporção volumétrica de túbulo seminífero (TS) e região intertubular (IT) de ratos adultos (94 dias) submetidos à desnutrição pós-natal com DBR, e ratos controle. Ratos Wistar foram acasaladas e receberam ração comercial (Labina-Purina) até o nascimento dos filhotes, quando foram divididos em dois grupos: controle (n = 6) cuja mãe continuou recebendo a mesma ração comercial até o desmame (21º dia) e desnutrido (n = 6) cuja mãe passou a receber DBR até o 21º dia, quando também foram desmamados. As proles dos grupos desnutrido e controle, após o desmame, foram submetidos à ingestão de Labina-Purina. Resultados expressos como média \pm erro padrão. Significância estatística (teste t). * $p < 0,05$.

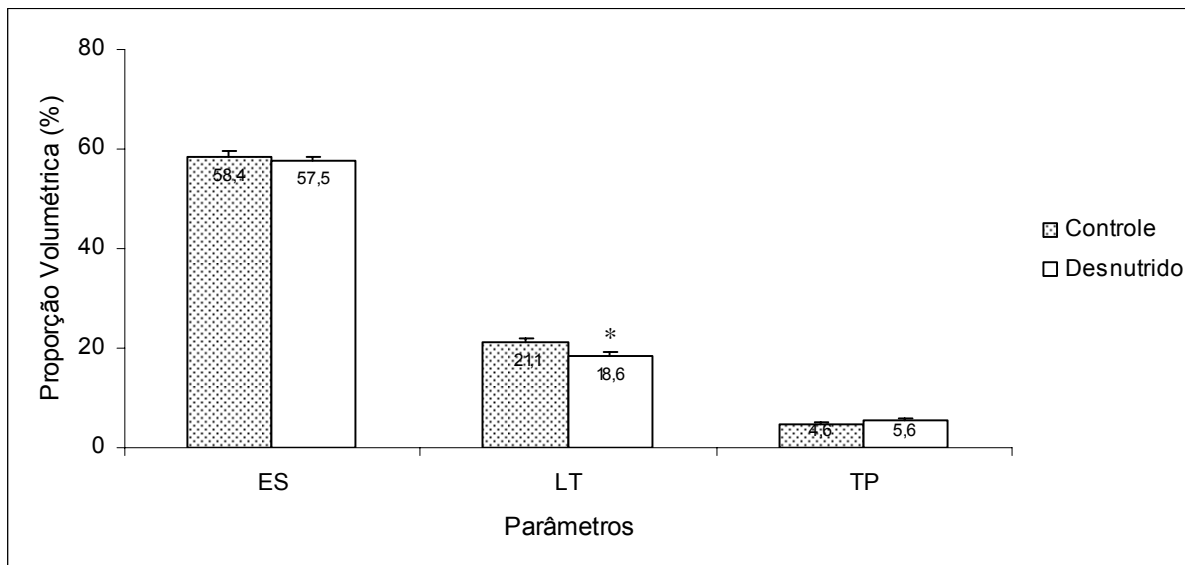


Figura 7. Proporção volumétrica dos constituintes do túbulo seminífero de ratos adultos (94 dias) submetidos à desnutrição pós-natal com DBR e ratos controle. Ratas Wistar foram acasaladas e receberam ração comercial (Labina-Purina) até o nascimento dos filhotes, quando foram divididos em dois grupos: controle (n = 6) cuja mãe continuou recebendo a mesma ração comercial até o desmame (21º dia) e desnutrido (n = 6) cuja mãe passou a receber DBR até o 21º dia, quando também foram desmamados. As proles dos grupos desnutrido e controle, após o desmame, foram submetidos à ingestão de Labina-Purina. Epitélio seminífero – ES; lume tubular – LT; túnica própria – TP. Resultados expressos como média ± erro padrão. Significância estatística (teste t) * p<0,05.

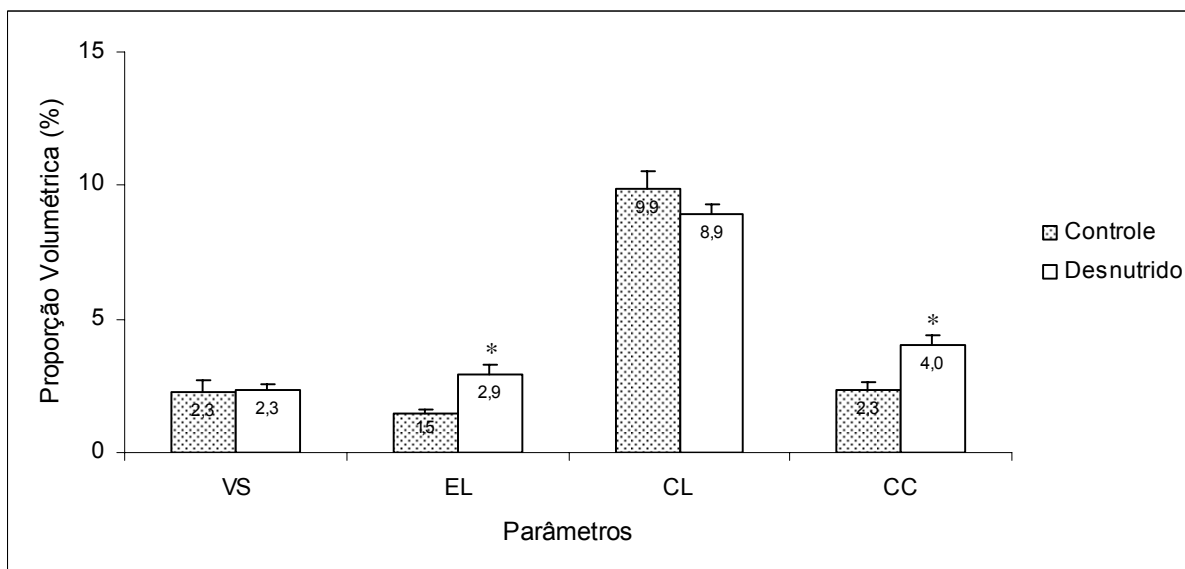


Figura 8. Proporção volumétrica dos constituintes da região intertubular de ratos adultos (94 dias) submetidos à desnutrição pós-natal e ratos controle. Ratas Wistar foram acasaladas e receberam ração comercial (Labina-Purina) até o nascimento dos filhotes, quando foram divididos em dois grupos: controle (n = 6) cuja mãe continuou recebendo a mesma ração comercial até o desmame (21º dia) e desnutrido (n = 6) cuja mãe passou a receber DBR até o 21º dia, quando também foram desmamados. As proles dos grupos desnutrido e controle, após o desmame, foram submetidos à ingestão de Labina-Purina. Vaso sanguíneo – VS; espaço linfático – EL; Células de Leydig – CL; células e fibras do conjuntivo – CC. Resultados expressos como média ± erro padrão. Significância estatística (teste t) * p<0,05.

5.7 Número de células de Sertoli por testículo

Os dados referentes à morfometria das células de Sertoli encontram-se na Figura 9. Observando esta figura 9 podemos notar que: 1) o número obtido de células de Sertoli por secção de 4 μ m (CS-NO) apresentou-se 50,9% menor no grupo desnutrido ($5,6\pm 0,5$), quando comparado ao grupo controle ($11,4\pm 0,7$) ($p < 0,05$); 2) o diâmetro nucleolar da célula de Sertoli (CS-DN) não apresentou diferença significativa entre os grupos desnutrido ($1,0\pm 0,1\mu$ m) e controle ($1,3\pm 0,1\mu$ m); 3) o número corrigido de células de Sertoli por secção de 4 μ m (CS-NC) no grupo desnutrido ($5,0\pm 0,4$) foi 50,5% menor do que no grupo controle ($10,1\pm 0,7$) ($p < 0,05$); 4) o número de células de Sertoli por testículo (CS/T ($\times 10^7$)) no grupo desnutrido ($2,1\pm 0,3 \times 10^7$) foi 48,8% menor do que no grupo controle ($4,1\pm 0,8 \times 10^7$) ($p < 0,05$). O número de células de Sertoli por testículo foi obtido a partir do número corrigido de nucléolos de células de Sertoli por secção transversal de túbulos seminíferos e do comprimento tubular por testículo. Os valores medidos do diâmetro nucleolar da célula de Sertoli foram corrigidos pelo fator de retração linear de 15%, em decorrência da contração tecidual do testículo devido ao processamento histológico para inclusão em parafina (FRANÇA, 1991).

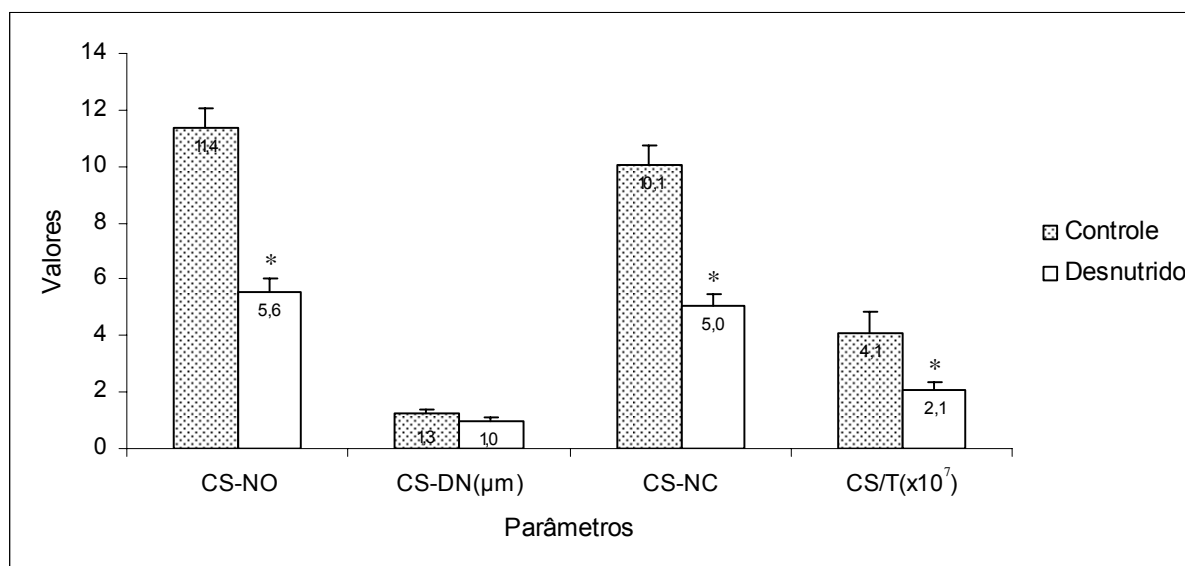


FIGURA 9. Morfometria e número de células de Sertoli de ratos Wistar adultos (94 dias) submetidos à desnutrição pós-natal e ratos controle. Ratos Wistar foram acasaladas e receberam ração comercial (Labina-Purina) até o nascimento dos filhotes, quando foram divididos em dois grupos: controle ($n = 6$) cuja mãe continuou recebendo a mesma ração comercial até o desmame (21^o dia) e desnutrido ($n = 6$) cuja mãe passou a receber DBR até o 21^o dia, quando também foram desmamados. As proles dos grupos desnutrido e controle, após o desmame, foram submetidos à ingestão de Labina-Purina. Número obtido de células de Sertoli por secção de 4 μ m – CS-NO; Diâmetro nucleolar de célula de Sertoli – DN (μ m); Número corrigido de células de Sertoli por secção de 4 μ m – CS-NC; Número de célula de Sertoli por testículo – CS/T($\times 10^7$). Resultados expressos como (média \pm erro padrão). Significância estatística (teste t) * $p < 0,05$.

6 DISCUSSÃO

6.1 Curva ponderal

De acordo com os resultados apresentados, podemos constatar que a partir do 15º dia de vida, apesar de ambos aumentarem o peso, os animais desnutridos apresentaram pesos significativamente inferiores ($p < 0,05$), em relação aos animais controles. Essa redução da massa corpórea indica que a DBR foi eficaz em induzir o estado de desnutrição nos animais do grupo desnutrido.

De acordo com Passos *et al.* (2000), mães submetidas à dieta hipoprotéica (8% de proteína) durante a lactação da prole influenciam o peso corporal dos filhotes, mesmo que ao término da lactação seja realizada a reposição alimentar desta prole com dieta normoprotéica (22% de proteína). Neste experimento de Passos, o peso corporal da prole desnutrida, aferido do nascimento até os 180 dias de idade, apresentou-se mais baixo do que no grupo controle (normoprotéico) (PASSOS *et al.*, 2000), semelhante ao resultado observado no nosso protocolo, embora no nosso experimento, o peso corporal tenha sido aferido, apenas até o 94º dia de idade.

O baixo peso corporal em ratos submetidos à restrição protéica é fenômeno amplamente estudado na literatura (PAIXÃO *et al.*, 2001; AGUILA; MANDARIM-DE-LACERDA, 2003b; SKILTON, 2006; SANTHIAGO *et al.*, 2006; ARAÚJO, 2008) e tem sido associado a alterações funcionais e morfológicas (SANTHIAGO *et al.*, 2006).

O elevado ganho de peso observado em animais desnutridos, foi observado por Santhiago *et al.* (2006) e sugere que a recuperação nutricional dos ratos previamente desnutridos foi parcial, uma vez que o ganho de peso foi maior no grupo desnutrido, porém o peso corpóreo final foi menor em relação ao seu controle. Isso pode ter ocorrido devido ao aumento da ingesta alimentar no grupo desnutrido. Vários estudos anteriores têm mostrado a elevada ingestão alimentar de ratos mantidos com dieta multicarenal (PAPOTI *et al.*, 2003; SANTHIAGO *et al.*, 2006).

Esses resultados sugerem que o estado nutricional na fase de gestação e aleitamento parece interferir na composição corporal do indivíduo adulto. Muitos são os mecanismos que associam baixo peso ao nascer com doenças cardiovasculares. Bebês que são magros ao nascer têm carência de músculo, uma deficiência que pode persistir porque o período crítico para o crescimento muscular é entre a 30ª

semana de vida uterina e até alguns dias após o nascimento. Neste período há pouca replicação celular. Por isso, se eles ganham peso rapidamente na infância, estarão dispostos a ganhar muito mais gordura do que músculo, isto irá provocar uma desproporcionalidade elevada de massa de gordura na vida adulta (ADAIR, 2002). Isso explicaria o fato desses indivíduos apresentarem obesidade na vida adulta e conseqüentemente, todos os problemas a ela relacionada, como diabetes, hipertensão arterial sistêmica e doenças cardiovasculares (AGUILA; MANDARIM-DE-LACERDA, 2003).

Neves (1993) sugere que quanto mais precocemente inicia-se a desnutrição, maior a probabilidade de óbitos em camundongos, devido provavelmente ao fato destes animais estarem em fase de crescimento e desenvolvimento, por conseguinte atividade metabólica intensa, necessitando portanto de nutrientes essenciais a constituição orgânica. Dunn *et al.* (1947) também relatam que a precocidade da desnutrição apresenta maior repercussão na massa corpórea e dos órgãos, pois o acentuado metabolismo desta fase é atributo essencial para levar ao crescimento e desenvolvimento.

Modificações drásticas na dieta, ocasionando baixa ingestão calórica ou de baixo valor biológico nos primeiros anos de vida, proporcionarão alterações no desenvolvimento do organismo desnutrido (GOBATTO, 1993). Têm sido relatadas adaptações metabólicas ocorridas em função da desnutrição e suas implicações sobre diversas situações (BIOEVELL, 1985).

6.2 Análise testicular: morfologia e morfometria

Não observamos diferenças no que diz respeito à organização do testículo, e organização celular nos compartimentos testiculares nos animais do grupo desnutrido em relação aos controles. Nos túbulos seminíferos foram observados todos os tipos celulares característicos da linhagem espermatogênica (espermatogônias, espermatócitos primários e secundários, espermátides arredondadas e alongadas) e células de Sertoli. No interstício foram observados células de Leydig, outras células do conjuntivo, bem como vasos sanguíneos e espaços linfáticos.

Com estes resultados podemos deduzir que o protocolo de desnutrição empregado neste trabalho não afetou a estrutura testicular, bem como as células componentes do testículo, de forma qualitativa. Entretanto Said *et al.* (1976)

observaram, através de exame histológico de testículo de ratos, que a espermatogênese foi interrompida no estágio de espermatogônia em ratos nutridos com dieta sem proteínas, e no estágio de espermatócitos primários e secundários em ratos com dieta hipoprotéica. Estes autores concluíram que desnutrição protéica afeta adversamente a função testicular, e ainda que a natureza e a severidade desses efeitos dependem da duração do estado de deficiência nutricional (SAID *et al.*, 1976).

Embora não tenhamos observado diferença significativa nos pesos testiculares médios absolutos entre os grupos desnutrido e controle, podemos observar através do peso relativo, representado pelo índice gonadossomático (IGS), que a desnutrição durante a lactação aumentou o IGS do grupo desnutrido em relação ao controle. Este resultado revela que o peso testicular em relação ao peso corporal no grupo desnutrido é relativamente maior que no grupo controle. Segundo Baarends e Grootegoed (1999) o tamanho final do testículo de camundongos é também determinado por fatores genéticos, o que explicaria os resultados obtidos neste trabalho com relação a não diferença no peso testicular absoluto dos grupos desnutrido e controle. Esta conclusão de Baarends e Grootegoed (1999) também explicaria a não alteração no diâmetro tubular e comprimento total de túbulo seminífero observado no testículo de ambos os grupos, controle e desnutrido.

No túbulo seminífero observamos ainda que a altura do epitélio seminífero estava significativamente menor no grupo desnutrido quando comparado ao grupo controle. Estes dados são explicados quando Stanbenfeld e Edqvist (1996) e Johnson (1991) relatam que a célula de Sertoli é importante para o controle das células germinativas, tanto a respeito da função nutritiva como da reguladora, e nos sugere concluir que o número de células de Sertoli significativamente reduzido no grupo desnutrido levou a uma redução na altura do epitélio seminífero, visto que este é constituído pelas células de Sertoli associados a um número relativamente fixo de células germinativas.

Com relação às análises morfométricas, os resultados apresentados sugerem que a desnutrição pós-natal seguida de restabelecimento alimentar do rato macho até a fase adulta (94 dias de idade) promoveu modificações significativas em parâmetros testiculares, o que pode levar a alterações no processo espermatogênico e na produção espermática, provavelmente de forma quantitativa.

Ramos *et al.* (2006) relataram que testículo de ratos (21 dias de idade), cujas mães foram submetidas a uma dieta hipoprotéica e hipocalórica durante o período de amamentação, apresentou peso reduzido, bem como redução da área do túbulo seminífero e altura do epitélio seminífero, concluindo que a desnutrição maternal durante a lactação leva a mudança estrutural no testículo do filhote, o qual seria responsável por alterações na fisiologia do órgão no indivíduo adulto.

6.3 Número de células de Sertoli

A desnutrição durante amamentação da prole, seguido da reposição alimentar pelos filhotes, desencadeou uma redução no número de células de Sertoli no testículo, quando comparado ao grupo controle.

A célula de Sertoli, presente no interior do túbulo seminífero, e tendo como função primordial o suporte do processo espermatogênico até a liberação do espermatozóide no lume, apresenta um processo regulatório muito complexo. Esta regulação engloba: 1. Diferenciação das células somáticas gonadais primordiais (embriologia) em células de Sertoli primordiais; 2. Divisão meiótica das células de Sertoli, que ocorrem no período embrionário até, aproximadamente, os 16 dias de idade em ratos e camundongos (HOLSBERG; COOKE, 2005), e em outras espécies pode continuar por mais alguns anos pós-natal (SHARPE *et al.*, 2000; HOLSBERG; COOKE, 2005); 3. Controle do funcionamento da célula de Sertoli no desempenho de suas funções como célula suporte da espermatogênese (RUSSELL, 1993).

O estabelecimento da população de células de Sertoli no testículo ocorre na fase de divisão mitótica. Nesta fase vários fatores podem interferir nesta divisão, tais como: hormônios tireoidianos, desnutrição, entre outros.

Holsberg e Cooke (2005) em artigo de revisão afirmam que numerosos laboratórios têm demonstrado que a triiodotironina (T_3), é a chave para ativação do desenvolvimento das células de Sertoli e, finalmente, para estabilizar o efeito da população de células de Sertoli e da magnitude da produção espermática no adulto. Afirma ainda que o T_3 tem efeito inibitório direto sobre a proliferação das células de Sertoli, e concomitantemente, efeito estimulatório sobre a diferenciação das mesmas células e formação da barreira de célula de Sertoli (*tight junctions*). Outros artigos corroboram com esta informação afirmando que o hipotireoidismo transitório em roedores neonatais prolonga o período de proliferação das células de Sertoli, levando a um aumento significativo do número destas células, da produção

espermática diária e do peso testicular (COOKE, *et al.*, 1991; VAN HAASTER, *et al.*, 1992; JOYCE, *et al.*, 1993).

Holsberger *et al.* (2005) informam que a indução do hipertireoidismo através de injeção exógena de triiodotironina (T_3), resulta na cessação prematura das mitoses das células de Sertoli e na canalização precoce dos túbulos seminíferos.

Conforme Mackay (2000) e Sharpe *et al.* (2000) as células de Sertoli em ratos e camundongos proliferam até aproximadamente o 16º dia pós-natal. Gondos e Berndston (1993) afirmam que durante o período pós-natal as células de Sertoli sofrem extensas mudanças tanto na estrutura quanto na função. Estas mudanças são críticas para o estabelecimento da espermatogênese e desenvolvimento do padrão adulto da função testicular.

Ramos *et al.* (1997) informam que mudanças na secreção da glândula tireóide e no metabolismo são observadas em animais alimentados com dieta deficiente em proteínas. Estas mudanças são observadas em homens e animais. Quando esta restrição protéica ocorre em mães lactantes provoca um aumento de sua produção de T_3 e um aumento na conversão de T_4 a T_3 (LISBOA *et al.*, 2003). Esta alteração é refletida no leite materno que terá em sua composição um aumento significativo destes hormônios tireoidianos, os quais serão transferidos para sua prole através da amamentação (PASSOS *et al.*, 2001). Este fato desencadeia um aumento nos níveis de hormônios tireoidianos no filhote lactante desencadeando alteração metabólica dos mesmos. Esta mudança no metabolismo do lactante desencadeia processos que podem ser expressos nesta fase de desenvolvimento, ou em idades subseqüentes, inclusive na fase adultas, “marcando” o indivíduo metabolicamente, conduzindo, portanto a uma “programação” metabólica.

O nosso protocolo de desnutrição com DBR realizada nos primeiros 21 dias de vida foi determinante para “programar” os animais para um processo espermatogênico deficiente porque o desenvolvimento embrionário do testículo do rato inicia-se aos 13,5 dias pós-concepção e estende-se até o 10-16 dias de idade e células de Sertoli de ratos iniciam sua proliferação aos 16 dias pós-concepção e cessam sua divisão entre 10 e 16 dias de idade (ORTH, 1993). Como a célula de Sertoli é importante para o controle das células germinativas, tanto a respeito da função nutritiva como da reguladora (STANBENFELD; EDQVIST. 1996; JOHNSON, 1991) e o número de células de Sertoli no testículo estabelece o limite superior de produção espermática porque cada célula de Sertoli suporta um número

relativamente fixo de células germinativas (RUSSELL; PETERSON, 1984; SINHA-HIKIM *et al.*, 1989; HOLSBERGER; COOKE, 2005) os animais do grupo desnutrido tiveram sua produção espermática seriamente comprometida em consequência da ingestão de DBR.

7 CONCLUSÃO

Em conclusão, os dados inéditos obtidos no desenvolvimento do presente trabalho propiciam avaliar que a desnutrição pós-natal, com DBR, durante a fase de amamentação, seguida de restabelecimento alimentar com dieta normoproteica até a fase adulta (94 dias), promoveram uma “programação” na população de células de Sertoli no rato adulto. O impacto da desnutrição no período pós-natal (nos primeiros 21 dias de vida) foi tão importante, em nosso protocolo experimental que nem a reposição alimentar a partir do 22º dia de vida até o sacrifício (no 94º dia) permitiu que os animais desnutridos recuperassem o número normal de células de Sertoli, o que nos leva a hipotetizar redução no potencial espermatogênico, já que o mesmo depende diretamente do número de células de Sertoli.

8 PERSPECTIVAS

A determinação do número de células de Sertoli foi o primeiro passo de nosso experimento. As células de Sertoli iniciam o processo espermatogênico, portanto, o fato de ter havido uma redução em torno de 50% no número de células de Sertoli, nos animais submetidos a uma desnutrição pós-natal, mesmo com reposição alimentar na fase adulta, nos leva a estabelecer as seguintes perspectivas:

4.1 Determinar a produção espermática, dos animais desnutrido, baseado no número de células de Sertoli, por animal.

4.2 Pesquisar os fatores que levaram a uma redução no número de espaços linfáticos (EL) e células e fibras do conjuntivo (CC), nos animais controle.

9 REFERÊNCIAS

- A PREOCUPAÇÃO com a efetivação do direito à alimentação... Disponível:<<http://www.ibase.br/>>. Acesso em: 21 jan. 2003.
- ABERCROMBIE, M. Estimation of nuclear populations from microtome sections. Anat. Rec., v. 94, p. 238-248, 1946.
- ADAIR, L.S. Filipino children exhibit catch-Up growth from age 2 to 12 years. J Nutr. Jun; v. 129, n.6, p.1140-1148. 2002.
- ADAS, M. A Fome: Crise ou Escândalo. São Paulo: Moderna, 1988.
- AGUILA, M.B.; MANDARIM-DE-LACERDA, C.A. Heart and blood pressure adaptations in Wistar rats fed with different high-fat diets for 18 months. Nutrition. Apr; v.19, n.4, p.347-52. 2003.
- AGUILA, M.B.; MANDARIM-DELACERDA, C. A. Aorta wall quantitative alterations due dfferent long-term high-fat diet in rats. Food and Chemical toxicology, v.41, p. 1391-1397, 2003b.
- AMAN, R.P.; ALMQUIST, J.O. Reproductive capacity of dairy bulls. VIII. Direct and indirect measurement of testicular sperm production. J. Dairy Sci. v. 45, p. 774-781, 1962.
- AMANN, R.P. Endocrine changes associated with onset of spermatogenesis in Holstein bulls. J Dairy Sci. Dec, v.66, n. 12, p.2606-2622. Review. 1983.
- AMANN, R.P.; SCHANBACHER, B.D. Physiology of male reproduction. J.Anim. Sci. Suppl., v.57, p. 380-403, 1983.
- ARAÚJO, M.C.K.; SILVA, M.H.P.N.; DINIZ, E.M.A.; VAZ, F.A.C.V. Função tireoidiana em recém-nascidos doentes. Pediatria (São Paulo),25:114-123, 2003.
- ARAÚJO, T.N. Efeitos do treinamento físico aeróbio moderado sobre o crescimento corporal e desenvolvimento cardíaco de ratos adultos submetidos à desnutrição protéica na gestação e lactação. Dissertação de mestrado – Departamento de Nutrição, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2008.
- ATTAL, J.; COUROT, M. Développement testiculaire et établissement de la spermatogenese chez le taureau. Ann. Biol. Anim. Biochim. Biophys., v.8, n.3 p.219-241, 1963.
- BAARENDS, W.M.; GROOTEGOED, J.A. Molecular biology of male gametogenesis. In: Molecular biology in reproductive medicine, FAUSER, B.C.J.M. eds., The Parthenon Publishing Group, New York, USA, pp: 271-295, 1999.
- BARRADAS, PC; FERRAZ, AS; FERREIRA, AA; DAUMAS, RP; MOURA, EG. 2'3'Cyclic nucleotide 3'phosphodiesterase immunohistochemistry shows an impairment on myelin compaction in hypothyroid rats. Int J Dev Neurosci. Dec;v.18, n.8, p.:887-892. 2000.
- BIORVEL, H. R. S. Long term treatment of severe obesity: four vear fallow-up results of combined behavioral modification programme, BMJ, v.291,p. 379-382, 1985.

BRASIL. Ministério da Saúde. Manual de atendimento da criança com desnutrição grave em nível hospitalar. 2005.

CARANI C, Isidori AM, Granata A, Carosa E, Maggi M, Lenzi A, Jannini EA. Multicenter study on the prevalence of sexual symptoms in male hypo- and hyperthyroid patients. J Clin Endocrinol Metab.;90:6472-9. 2005.

CASTRO, Josué de, Geografia da Fome Brasileira, 2001.

CHOWDHURY AR, Gautam AK, Chatterjee BB. Thyroid-testis interrelationship during the development and sexual maturity of the rat. Arch Androl.; 13:233-9. 1984.

CLYDE HR, Walsh PC, English RW. Elevated plasma testosterone and gonadotropin levels in infertile males with hyperthyroidism. Fertil Steril.;27:662-6. 1976.

COOKE, PS. Thyroid hormones and testis development: a model system for increasing testis growth and sperm production. Ann N Y Acad Sci. v.637, p.122-132. Review. 1991.

COOKE, PS; HESS, RA; PORCELLI, J; MEISAMI E. Increased sperm production in adult rats after transient neonatal hypothyroidism. Endocrinology; v.129,p.244-248. 1991.

COUROT, M.; HOCHEREAU-DE-REVIERS, M.T.; ORTAVANT, R. Spermatogenesis. In: JOHSON, A.D., GOMES, W.R., VANDEMARK, N.L. (ed.). The testis. New York: Academic Press, v.1, cap. 6, p.339-432. 1970.

DADOUNE, J.; DEMOULIN, A. *Structure and functions of the testis*. In: Reproduction in mammals and man. Thibault C.; Levasseur M. (eds). RHF Hunter Elipses, Paris, pp. 197-225,1993.

DAUNCEY, M. J.; WHITE, P.; BURTON, K. A.; KATSUMATA, M. Nutrition - hormone receptor-gene interactions; implications for development and disease. Proc. Nutr. Soc.v.60,p.63-72, 2001.

DESJARDINS, C.; LOPES, M.J. Environmental cues evoke defferential responses in pituitary-testicular function in deer mice. Endocrinol, v.112,p. 1398-1406, 1983.

DORST, V. J.; SAJONSKI, H.. Morphometrische Untersuchunhen am Tubulussystem des Schweinehodens während der postnatalen Entwicklug. Monaths Vet Med v.29,p.650-652. 1974.

DUNN, M.S.; MURPHY, E.A.; ROCKLAND, L.B..Optimal growth of the rat. Physiol. Rev., v.27,p.72-94, 1947.

FISHBECK, K.L.; RASMUSSEN, K.M. Effedt of repeated reproductive cycles on maternal nutritional status, lactational performance and litter growth in ad libitum fed and chronically food-restricted rats. J. Nutr., v.117,p.1967-1975, 1987.

FRANÇA, L.R. Análise morfofuncional da espermatogênese de suínos adultos da raça Piau. Belo Horizonte: UFMG, 1991, 180p. Tese (Doutorado em Morfologia). Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Minas Gerais, 1991.

FRIEDMAN, D. J. and ZEMAN, F. Thyroid, pituitary, and hypothalamic

hormone levels in neonatal rat pups following maternal protein deficiency. Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine v.16,p.275-279. 1979.

GAYTON AC, Hall JE. Tratado de fisiologia médica. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; p. 803-12: Os hormônios metabólicos da tireóide. 2002.

GOBATTO, C. A. Alterações metabólicas do treinamento físico em ratos previamente desnutridos e recuperados. Campinas: UNICAMP, 1993.

GONDOS, B., BERNDTSON, W. Postnatal and pubertal development. In: RUSSELL, L.D., GRISWOLD, M.D. (ed.). The Sertoli cell. Clearwater, FL, Cache River Press, cap. 4, p.115-154. 1993.

GUERRA, M.O. Comparação entre dois métodos de determinação da frequência relativa dos estádios do ciclo do epitélio seminífero, em dados da literatura. Rev. Bras. Biol., v.43p.385-394, 1983

HARRIS, A. R.; FANG, S.L.; AZIZI, F.; LPWORTH, L.; VAGENAKIS AG.; BAVERMAN, L. E. Effect of starvation on Hypothalamic-pituitary-thyroid function in the rat. Metabolism v.27,p.1074-1083. 1978.

HESS, R. A.; COOKE, P.S.; BUNICK, D.; KIRBY, J. D. Adult testicular enlargement induced by neonatal hypothyroidism is accompanied by increased Sertoli cell and germ cell number. Endocrinology, v.132,p.2607-2613, 1993.

HOCHEREAU-de-REVIERS, M. T.; MONET-KUNTZ, C.; COUROT, M. Spermatogenesis and Sertoli Cell numbers and function in rams and bulls. J.HOLSBERG DR; JIRAWATNOTAI S; KIYOKAWA H; COOKE PA, Thyroid hormone regulates the cell cycle inhibitor p27 Kipl in postnatal murine Sertoli cells. Endocrinology; v.144,p.3732-3738. 2003.

HOLSBERGER, DR; COOKE PS. Understanding the role of thyroid hormone in Sertoli cell development: a mechanistic hypothesis. Cell Tissue Res. Oct;v.322, n.1, p.133-140. 2005.

HOLSBERGER, DR; KIESEWETTER, SE; COOKE, PS. Regulation of neonatal Sertoli cell development by thyroid hormone receptor alpha1. Biol Reprod. Sep;v.73, n.3, p.:396-403. 2005.

INDEFINIDO, projeto fome zero sai hoje do papel. Folha de São Paulo, Caderno Brasil, p. 6. 30 dez 2003.

JANNINI EA, Carosa E, Rucci N, Screponi E, D'Armiento M. Ontogeny and regulation of variant thyroid hormone receptor isoforms in developing rat testis. J Endocrinol Invest.;22:843-8. 1999.

JANNINI EA, Ulisse S, D'Armiento M. Thyroid hormone and male gonadal function. Endocr Rev.;16:443-59. 1995.

JOHNSON, L. Spermatogenesis. In: CUPPS, P.T. Reproduction in domestic animal. 4a ed. Academic Press, San Diego, CA. p. 173-219, 1991.

JOHNSON, L.; NGUYEN, H.B. Annual cycle of the Sertoli cell population in adult stallions. J. Reprod. Fertil., v.76,p.311-316, 1996.

JOLIN, T.; LAMAS, L. Thyroid function in fasting rats Diabetes. V.33,p.383-

388, 1984.

JOYCE KL; PORCELLI J; COOKE PS. Neonatal goitrogen treatment increases adult testis size and sperm production in the mouse, *J. Androl* v.14,p.448-455, 1993.

KNOBEL E., Medeiros Neto GA. Fisiologia da glândula tireóide no período fetal, na infância e na adolescência. In: nSetian N. Endocrinologia pediátrica: aspectos físicos e metabólicos do recém-nascido ao adolescente. São Paulo: Sarvier; p.255-9. 2002.

KRASSAS GE, P. Thyroid disease and male reproductive function. *J. Endocrinol Invest.*; 26:372-80.2003.

KRASSAS GE, Pontikides N, Deligianni V, Miras K. A prospective controlled study of the impact of hyperthyroidism on reproductive function in males. *J Clin Endocrinol Metab.*;87:3667-71.2002.

KRETZER, D. M.; LOVELAND, K. L.; MEINHARDT, A.; SIMORANGKIR, D;WREFORD, N. Spermatogenesis, Human Reproduction, v. 13, v. Suppl1, p. 1-8, 1998.

KUMI-DIAKA, J.; OSORI, D.I.K.; NJOKU, C.O., OGWLI, D. Quantitative estimation of spermatogenesis in bulls (*Bos indicus*) in a tropical environment of Nigeria. *Vet. Res. Commun.* V.6,p. 215-222,1983.

LEBLOND, C.P.; CLERMONT, Y. Definition of the stages of the cycle of the seminiferous epithelium in the rat. *Ann. N.Y. Acad.Sci.*, v.55,p.548-584, 1952.

LISBOA, P. C.; PASSOS, M. C. F.; DUTRA, S. C. P.; SANTOS, R. S.; BONOMO, I. T.; CABANALAS A. P.; PAZOS-MOURA, C. C.; MOURA, E. G. Increased 5' indothyronine deiodinase activity is a maternal adaptative mechanism in response to protein restriction during lactation. *J. Endocrinol.* V.177,p.261-267, 2003.

LUCAS, A. Role of nutritional programming in determining adult morbidity *Arch. Dis. Child* v.71, n.4, p.288-290. 1994.

MACKAY, S. Gonadal development in mammals at the cellular and molecular levels. *Int Rev Cytol.* V.200,p.47-99. Review. 2000.

MAIA AL, Favaretto AL, Antunes-Rodrigues J, Iazigi N, Lamano-Carvalho TL. Spermatogenic and steroidogenic testicular function in hypothyroid pubertal rats. *Braz J Med Biol Res.*;23:625-8. 1990.

MARCONDES, E. *Desnutrição.* 1ª ed. São Paulo: Sarvier, cap. 5: 127-175: Alterações bioquímicas e funcionais. 1976

MELLO, M.A.R.; CURY, L.; VALLE, L.B.S.; OLIVEIRA FILHO, R.M. Pregnancy young rats: effects of malnutrition. *Nutr. Rep. Int.* v.36, p.527-535, 1987.

MENADO E. Determinação de tirotropina (TSH) e tiroxina (T₄) em sangue total colhido em papel de filtro: metodologia e aplicação em programas de detecção de hipotireoidismo congênito. Dissertação de Mestrado. São Paulo; Escola Paulista de Medicina da Universidade Federal de São Paulo; 1986.

MENDIS-HANDAGAMA SM, Siril Ariyaratne HB. Leydig cells, thyroid hormones and steroidogenesis. Indian J Exp Biol. ;43:939-62. 2005.

MOURA, A. S.; DE FRANCO SA, C. C.; CRUZ, H. G.; COSTA, C. L. Malnutrition during lactation as a metabolic imprinting factor inducing the feeding pattern of offspring rats when adults. The role of insulin and leptin. Braz. J. Med. Biol. Res. v.35, p.617-622, 2002.

MOURA, E. G.; RAMOS, C. F.; NASCIMENTO, C. C. A.; ROSENTHAL, D.; BEREITENBACH, M. M. D. Function in fasting rats: variations in 131I uptake transient decrease in peroxidase activity. Brazil. J. Med. Biol. Res. v.20, p.407-410, 1987.

MOURA, EG; PASSOS, MC. Neonatal programming of body weight regulation and energetic metabolism. Biosci Rep. Jun-Aug;v.25, n. 3-4, p.251-269. Review. 2005.

NELSON, RJ; KITA, M; BLOM, JM; RHYNE-GREY, J. Photoperiod influences the critical caloric intake necessary to maintain reproduction among male deer mice (*Peromyscus maniculatus*). Biol Reprod. Feb;v.46, n. 2, p.226-232. 1992.

NEVES, E.S. Esquistossomose mansoni experimental: importância da desnutrição, avaliação da função tireoideana e efeito do albendazol. Recife: UFPE, 1993, 153p. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas). Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal de Pernambuco, 1993.

NEVES, E.S. Estudo comparativo da estrutura do testículo e do processo espermatogênico em jumentos (*Equus asinus*) e burros (*Equus mulus mulus*). Belo Horizonte: UFMG, 2001, 135p. Tese (Doutorado em Biologia Celular). Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Pernambuco, 2001.

NILSSON, P. The biological triangle: Interaction between nutrition, reproduction and longevity. Lakartidningen, v.98, n. 15, p. 1797-1800, 2001.

No Brasil, estima-se que... Disponível: <http://www.sitedafome.com.br>. Acesso em: 30 mar. 2003.

O'DONNELL, L.; ROBERTSON, K. M.; JONES, M. E.; SIMPSON, E. R. Estrogen and spermatogenesis. Endoc. Rev., v.22, n.3, p.289-318, 2001.

OPPENHEIMER JH, Schwartz HL, Surks MI. Tissue differences in the concentration of triiodothyronine nuclear binding sites in the rat; liver, kidney, pituitary, heart, brain, spleen, and testis. Endocrinology. 95:897-903.21, 1974.

ORTAVANT, R.; COUROT, M.; HOCHEREAU-DE-REVIERS, M.T. Spermatogenesis in domestic mammals. In: COLE, H.H., CUPPS, P.T. (ed.). Reproduction in domestic animals. 3 ed. New York: Academic Press. Cap. 8, p. 203-227, 1977.

ORTH, J.M.. Cell biology of testicular development in the fetus and neonate. In: DESJARDINS, C.; EWING, L.L. (ed.). Cell and molecular biology of the testis. 1 ed. New York: Oxford University Press, Cap. 1, p. 3-42. 1993.

PAIXÃO, A. D. O.; CRISTIANA R. MARCIEL, C.R.; TELES, M.B.B.; FIGUEIREDO-SILVA, J. Regional brazilian diet-induced low birth weight is

correlated with changes in renal hemodynamics and glomerular morphometry in adult age. Biol Neonate, v.80, p. 239-246, 2001.

PALMERO S, de Marchis M, Gallo G, Fugassa E. Thyroid hormone affects the development of Sertoli cell function in the rat. J Endocrinol.;123:105-11. 1989.

PAPOTI, M; ALMEIDA, PBL; PRADA, FJA; ELENO, TG; HERMINI, HÁ; GOBATTO, CA; et al. Máxima fase estável de lactato durante a natação em ratos recuperados de desnutrição protéica. Motriz, Rio Claro;v.9, p.97-103. 2003.

PASSOS, M. C. F.; RAMOS, C. F.; MOUCO, T.; MOURA, E. G. Increase of T₃ secreted through the Milk in protein restricted lactating rats. Nutr. Res. v.21, p.917-924, 2001.

PASSOS, M. C. F.; RAMOS, C. F.; MOURA, E. G. Short and long term effects of malnutrition in rats during lactation on body weight of offspring. Nutr. Res, v.20, p.1603 – 1612, 2000.

PASSOS, M. C. F.; RAMOS, C. R.; DUTRA, S. C. P.; MOUCO, T.; de MOURA, E. G. Long term effects of malnutrition during lactation on the thyroid function of offspring. Norn. Metab. Res. v.34, p.40-43, 2002.

PROJETO FOME ZERO SAI HOJE DO PAPEL. *Folha de São Paulo*, 30 dez. Caderno Brasil, p. 6, 2003.

RAMOS CF; LIMA APS; TEIXEIRA CV; DRITO PD; MOURA EG: Thyroid function in post – weaning rats whose dams were fed a low – protein diet during suckling. Braz J Med Biol Res;v.30, p.133-137, 1997.

RAMOS, C.F.; DA SILVA, A.M.; COSTA, W.S.; SAMPAIO, F.J.B. Stereological evaluation of the seminiferous tubules of rats after maternal undernutrition during the lactation period. Urol. Internac., v.76, p.63-66, 2006.

RAMOS, CF; TEIXEIRA, CV; PASSOS, MC; PAZOS-MOURA, CC; LISBOA, PC; CURTY, FH; DE MOURA, EG. Low-protein diet changes thyroid function in lactating rats. Proc Soc Exp Biol Med. Sep;v.224, n.4, p.256-263. 2000

RASTOGI GK; SAWHNEY RC; PANDA NC; TRIPATHY BB Thyroid hormone levels in adult protein – calorie malnutrition (PCM). Hormone and Metabolic Research, v.6, p.528-529, 1974.

ROOSEN-RUNGE, E. C.; GIESEL Jr., L. O. Quantitative studies on spermatogenesis in the albino rat. Am. J. Anat., v.87, p.1-30, 1950.

ROWLEY, M.J.; HELLER, C.G. Quantitation of the cells of the human testis employing the Sertoli cells as a constant. Z. Zellforsch., v.115, p.461-472, 1971.

RUSSELL, L. D. Form, dimensions, and cytology of mammalian Sertoli cells. In: *The Sertoli cell*, RUSSELL, L. D. & GRISWOLD, M. D. eds., Cache River Press, Clearwater, FL, USA, pp: 1-37, 1993.

RUSSELL, L. D.; PETERSON, R. N. Determination of the elongate spermatid-Sertoli cell ratio in various mammals. J. Reprod. Fert., v.70, p.635-664, 1984.

RUSSELL, L. D.; REN, H. P.; SINHA-HIKIM, I.; SCHULZE, W.; SINHA-HIKIM, A. P. A comparative study in twelve mammalian species of volume densities, volumes, and numerical densities of selected testis components, emphasizing those related to the Sertoli cell. Amer. J. Anat., v.188, p.21-30, 1990b.

RUSSELL, L. D.; SINHA-HIKIM, A. P.; GHOSH, S.; BARTKE, A. Structure-function relationships in somatic cells of the testis and accessory reproductive glands. In: *Function of somatic cells in the testis*, Bartke A ed., Springer-Verlag, New York, pp: 55-83, 1994.

RUSSELL, L.D.; CLERMONT, Y. Degeneration of germ cells in normal, hypophysectomized and hormone treated hypophysectomized rats. Anat. Rec., v.187, p.347-366, 1977.

RUSSELL, L.D.; ETTLIN, R.A.; SINHA HIKIM, A.P.; CLEGG, E.D. Histological and histopathological evaluation of the testis. Clearwater, FL, Cache River Press, 286p.,1990a.

SAID, A.; SAKR , R.; NOSEIN, M.B.; EL-SHOBAKI, F.A.; BOULOS, S.Y. Effect of protein energy malnutrition (PEM) on spermatogenesis in the rat testis. Gaz. Egypt Paediatr., v.24, p.51-58, 1976.

SAMPAIO, I.B. Estatística aplicada à experimentação animal. Belo Horizonte, MG, Fundação de Ensino e Pesquisa em Medicina Veterinária e Zootecnia, 221p., 1998.

SANTHIAGO, V.; SILVA, A.S.R.; GOBATTO, C.A.; MELLO, M.A.R. Treinamento físico durante a recuperação nutricional não afeta o metabolismo muscular da glicose de ratos. Rev. bras. med. esporte;v.12, p.76-80. 2006.

SETIAN E. Endocrinologia pediátrica: aspectos físicos metabólicos do recém-nascido ao adolescente. 2ª ed. São Paulo: Savier; p259-68: Hipotireoidismo congênito; 2002.

SHARPE, R. M. Regulation of spermatogenesis. In: *The Physiology of Reproduction*, KNOBIL, E. & NEIL, J. D. eds., Raven Press, New York, pp: 1363-1434, 1994.

SHARPEL, R. M. Paracrine control of the testis. Clin. Endocrinol Metab, v.15, p.185-207, 1986.

SHRADER, R. E.; FERLATTE, M. L.; HASTING-ROBERTS M. H.; SCHOENBORNE, B.M.; HOERNICKE, C. A.; ZEMAN, F. J. Thyroid function in prenatally protein-deprived rats. J. Nutr. V.107, p.221-229, 1977.

SINHA-HIKIM, A. P.; AMADOR, A. G.; KLEMCKE, H. G.; BARTKE, A.; RUSSELL, L. D. Correlative morphology and endocrinology of Sertoli cells in hamster testes in active and inactive states of spermatogenesis. Endocrinology, v.125, p.1829-1843, 1989.

SINHA-HIKIM, A.P.; CHAKRABORTY, J.; JHUNJHUNWALA, J.S. Germ cell quantitation in human testicular biopsy. Urol. Res., v.13, p.111-115, 1985.

SKILTON, MR; GOSBY, AK; WU, BJ; HO, LM; STOCKER, R; CATERSON, ID; CELERMAJER, DS. Maternal undernutrition reduces aortic wall thickness and elastin content in offspring rats without altering endothelial function.

Clinical science,v.111, p.281-287, 2006.

STANBENFELD, G. H.; EDQVIST, L. Processos reprodutivos do macho. In: SWENSON, M. J.; REECE, W. O. Dukes – fisiologia dos animais domésticos. Rio de Janeiro: ed. Guanabara Koogan S. A. 1996. Cap. 35, p. 603-614.

SWIERSTRA, E.E. Cytology and duration of the cycle of the seminiferous epithelium of the boar; duration of spermatozoan transit through the epididymus. Anat. Rec., v.161, p.171-186, 1968.

TEODÓSIO, N.R.; LAGO, E.S.; ROMANI, S.A.M.; GUEDES, A.C.A.. A regional basic diet from Northeast Brazil as a dietary model of experimental malnutrition. Arch. Latinoamericano Nutric., XL v.4, p. 533-547, 1990.

TRINDADE, C. E. P.; NÓBREGA, F. J. de; & TONETE, S. S. Q. Repercussões metabólicas da desnutrição protéico-calórica. In: *Desnutrição: intra-uterina e pós-natal*. NÓBREGA, F. J. de. (Ed.). Panamed Editorial, São Paulo, 1986.

VAN HAASTER, LH; DE JONG, FH; DOCTER, R; DE ROOIJ, DG. The effect of hypothyroidism on Sertoli cell proliferation and differentiation and hormone levels during testicular development in the rat. Endocrinology;v.131, p.1574-1576, 1992.

WEISS SR, Burns JM. The effect of acute treatment with two goitrogens on plasma thyroid hormones, testosterone and testicular morphology in adult male rats. Comp Biochem Physiol A.;90:449-52. 1988.

WINICK, M.; NOBLE, A. Quantitative changes in DNA, RNA and protein during prenatal and postnatal growth in the rat. Develop. Biol., v.12, p.451, 1965.

Universidade Federal de Pernambuco
Centro de Ciências Biológicas

Av. Prof. Nelson Chaves, s/n
50670-420 / Recife - PE - Brasil
fones: (55 81) 2126 8840 | 2126 8351
fax: (55 81) 2126 8350
www.ccb.ufpe.br



Ofício nº 73/06

Recife, 14 de dezembro de 2006

Da Comissão de Ética em Experimentação Animal (CEEA) da UFPE
Para: **Profa. Elizabeth da Silveira Neves**
Departamento de Anatomia – UFPE
Processo nº 015701/2006-69

Os membros da Comissão de Ética em Experimentação Animal do Centro de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Pernambuco (CEEA-UFPE) avaliaram a resposta de V. Sa. referente ao primeiro parecer da CEEA sobre o projeto de pesquisa intitulado “EFEITO DA DESNUTRIÇÃO PÓS-NATAL COM DBR (Dieta Básica Regional) NA MORFOMETRIA TESTICULAR E NO PROCESSO ESPERMATOGÊNICOS DE RATOS ADULTOS”.

Concluimos que os procedimentos descritos para a utilização experimental dos animais encontram-se de acordo com as normas sugeridas pelo Colégio Brasileiro para Experimentação Animal e com as normas internacionais estabelecidas pelo National Institute of Health Guide for Care and Use of Laboratory Animals as quais são adotadas como critérios de avaliação e julgamento pela CEEA-UFPE.

Encontra-se de acordo com as normas vigentes no Brasil, especialmente a Lei 9.605 – art. 32 e Decreto 3.179-art 17, de 21/09/1999, que trata da questão do uso de animais para fins científicos.

Diante do exposto, emitimos **parecer favorável** aos protocolos experimentais realizados.

Atenciosamente,


Prof. Silene Carneiro do Nascimento
 Presidente CEEA

Livros Grátis

(<http://www.livrosgratis.com.br>)

Milhares de Livros para Download:

[Baixar livros de Administração](#)

[Baixar livros de Agronomia](#)

[Baixar livros de Arquitetura](#)

[Baixar livros de Artes](#)

[Baixar livros de Astronomia](#)

[Baixar livros de Biologia Geral](#)

[Baixar livros de Ciência da Computação](#)

[Baixar livros de Ciência da Informação](#)

[Baixar livros de Ciência Política](#)

[Baixar livros de Ciências da Saúde](#)

[Baixar livros de Comunicação](#)

[Baixar livros do Conselho Nacional de Educação - CNE](#)

[Baixar livros de Defesa civil](#)

[Baixar livros de Direito](#)

[Baixar livros de Direitos humanos](#)

[Baixar livros de Economia](#)

[Baixar livros de Economia Doméstica](#)

[Baixar livros de Educação](#)

[Baixar livros de Educação - Trânsito](#)

[Baixar livros de Educação Física](#)

[Baixar livros de Engenharia Aeroespacial](#)

[Baixar livros de Farmácia](#)

[Baixar livros de Filosofia](#)

[Baixar livros de Física](#)

[Baixar livros de Geociências](#)

[Baixar livros de Geografia](#)

[Baixar livros de História](#)

[Baixar livros de Línguas](#)

[Baixar livros de Literatura](#)
[Baixar livros de Literatura de Cordel](#)
[Baixar livros de Literatura Infantil](#)
[Baixar livros de Matemática](#)
[Baixar livros de Medicina](#)
[Baixar livros de Medicina Veterinária](#)
[Baixar livros de Meio Ambiente](#)
[Baixar livros de Meteorologia](#)
[Baixar Monografias e TCC](#)
[Baixar livros Multidisciplinar](#)
[Baixar livros de Música](#)
[Baixar livros de Psicologia](#)
[Baixar livros de Química](#)
[Baixar livros de Saúde Coletiva](#)
[Baixar livros de Serviço Social](#)
[Baixar livros de Sociologia](#)
[Baixar livros de Teologia](#)
[Baixar livros de Trabalho](#)
[Baixar livros de Turismo](#)