

ESTUDO MORFOMÉTRICO DAS ALTERAÇÕES PRESENTES NO EPITÉLIO DO PALATO DURO DE FETOS DE RATOS, DETERMINADAS PELO EXERCÍCIO FÍSICO MATERNO*

Amadeu Rodrigues da SILVA JÚNIOR**
Ruberval Armando LOPES**
Miguel Angel SALA**
Suzie Aparecida Lacerda do VALE**
Marisa SEMPRINI***
Geraldo MAIA CAMPOS**
Ii-Sei WATANABE****

- **RESUMO:** O objetivo do presente trabalho foi estudar morfometricamente as alterações presentes no epitélio do palato duro de fetos de ratas submetidas a exercício físico (natação). Os resultados mostraram que o esforço físico determinado pela natação durante a prenhez em ratos pode resultar em fetos de menor tamanho, com atrofia do epitélio do palato duro, provavelmente causada por restrição calórica (protéica), hipoxia e redução no comprimento do cordão umbilical.
- **PALAVRAS-CHAVE:** Desenvolvimento fetal; gravidez; exercício; palato.

Introdução

O exercício físico forçado em ratas durante a gestação provoca no feto diminuição do peso,^{22, 28} aumento do índice de mortalidade da ninhada,³³ hiperplasia epitelial na face dorsal da língua e hipotrofia na ventral,²² epiderme mais delgada com núcleos de menor volume²⁴ e glândulas submandibulares menos diferenciadas.²⁹ Provoca, também, alterações no desenvolvimento fetal do camundongo,²⁶ da cobaia^{8, 19} e da cabra.⁵

O objetivo do presente trabalho é estudar estereologicamente as alterações provocadas no epitélio palatino de fetos de ratas submetidas ao exercício forçado.

* Trabalho subvencionado pelo CNPq (Processo n.300.535/90-92).

** Departamento de Estomatologia – Faculdade de Odontologia – USP – 14040-904 – Ribeirão Preto – SP.

*** Departamento de Ciências Morfológicas – Faculdade de Odontologia – USP – 14040-904 – Ribeirão Preto – SP.

**** Departamento de Anatomia – Instituto de Ciências Biomédicas – USP – 05508-900 – São Paulo – SP.

Material e método

Foram utilizadas ratas Wistar, pesando em torno de 170 gramas, mantidas em gaiolas individuais, recebendo ração comercial e água *ad libitum*.

Após um período de 2 meses de treinamento em natação, durante 2 horas diárias, as ratas foram acasaladas. A partir do segundo dia da prenhez, os animais foram forçados a nadar por 1 hora/dia, durante o restante da gestação.

No 21º dia de gestação, as ratas foram sacrificadas e os fetos colhidos e imediatamente imersos em solução fixadora de álcool 80% – 85 ml, formalina – 10 ml e ácido acético – 10 ml, durante 24 horas. Assim, foram obtidos 29 fetos de ratas controles e 41 fetos de ratas submetidas ao exercício forçado. Os fetos e as placentas foram pesados em balança de precisão Mettler e o cordão umbilical medido com uma escala milimetrada.

As cabeças de 5 animais controles e de 5 tratados foram separadas dos corpos, cortadas longitudinalmente, submetidas aos procedimentos laboratoriais de rotina e incluídas em parafina. Os cortes seriados, de 6 mm de espessura, foram corados com hematoxilina e eosina.

Com a finalidade de se obter o volume dos núcleos da camada basal e espinhosa do epitélio do palato, os cortes eram focalizados ao microscópio óptico (Jenamed – Jena) com objetiva de imersão (100X), munido de uma câmara clara (Carl Zeiss, Jena).

Os núcleos eram projetados sobre papel, com aumento final de 1.000X. Foram obtidas 50 imagens nucleares de cada camada, para cada animal dos grupos estudados. As imagens eram contornadas com lápis, tomando-se o cuidado de considerar somente as imagens elípticas. Para obtenção dos volumes nucleares, mediram-se os eixos maior e menor dessas imagens, aplicando-se a fórmula do elipsóide, preconizada por Valeri et al.:³⁰

$$V = 6^{-1} \cdot \pi \cdot D_1 \cdot D_2 \cdot (D_1 \cdot D_2)^{1/2}$$

onde D_1 e D_2 representam os eixos maior e menor, respectivamente.

Para a avaliação estereológica, utilizou-se uma grade idealizada por Merz,¹³ impressa sobre papel. A grade Merz consiste em um quadro que limita a área teste e que contém um sistema de pontos marcados sobre uma linha sinuosa, formada por uma sucessão de semicírculos encadeados.

O sistema destina-se à contagem dos pontos que recaem sobre determinados elementos tissulares e à contagem de intersecções das linhas com as estruturas a serem estudadas.

Para estimar a relação núcleo-citoplasma, os volumes citoplasmático e da célula epitelial “média”; a densidade numérica das células epiteliais médias; a relação entre a lâmina basal e a superfície livre; a densidade de superfície e a espessura total do epitélio dos animais de ambos os grupos estudados foram utilizados os métodos descritos por Sala et al.²³ Com essa finalidade, foram efetuadas as contagens de 2.000 pontos por animal, correspondentes ao produto de 20 campos microscópicos por 100

pontos da grade, e do número de intersecções, de acordo com as exigências da equação estereológica correspondente à relação estudada.

A relação núcleo-citoplasma (N/C) é dada pela relação entre os volumes relativos do núcleo e do citoplasma:

$$N/C = V_{Vn}/V_{Vcit}$$

Os volumes relativos foram determinados pela fração representada pelo número de pontos que recaem sobre a estrutura considerada em relação ao número total de pontos contidos na área-teste.³¹

Na verdade, o valor assim obtido é um valor sobrestimado acima do real, graças ao chamado "efeito Holmes",³¹ decorrente do uso de cortes histológicos de espessura finita. Esse valor sobrestimado pode ser corrigido, levando-se em consideração o tamanho da estrutura envolvida e a espessura do corte histológico. Assim, Hennig⁹ propôs a seguinte equação para a correção do efeito Holmes, considerando-se os núcleos como esferas de diâmetro médio D e sendo t a espessura do corte histológico:

$$V_{Vc} = V_{Vn}/(1+3.t/2.D)$$

onde V_{Vc} é a fração volumétrica dos núcleos corrigida e V_{Vn} é a fração volumétrica observada. A fração volumétrica corrigida é calculada dividindo-se o número de pontos que incidem sobre os núcleos pelo número total de pontos que recaem sobre o núcleo e o citoplasma, e o valor do diâmetro médio (D) é o mesmo já determinado pela cariometria.

A relação núcleo-citoplasma corrigida (RNC*) será, então:

$$RNC^* = V_{Vc}/(1-V_{Vc})$$

onde $1-V_{Vc}$ é a fração volumétrica citoplasmática corrigida.

Conhecidos o volume nuclear (VN), obtido pela cariometria, e a relação núcleo-citoplasma, é possível estimar os volumes do citoplasma (V_{cit}) e da célula "média" (V_c), de acordo com o método de Sala et al.:²³

$$\begin{aligned} V_{cit} &= V_N/RNC^* \\ V_C &= V_N + V_{cit} \end{aligned}$$

A densidade numérica das células epiteliais "médias" (N/mm³) foi estimada pelo método de Sala et al.:²³

$$N/mm^3 = 10^9/V_C$$

A relação entre a superfície livre e a superfície basal do epitélio (RS) está dada pelo quociente entre os números das intersecções nas interfaces epitélio-ceratina (I_k) e epitélio-conjuntivo (I_c), respectivamente:

$$RS = I_k/I_c$$

A densidade de superfície representa a superfície de um componente tecidual por unidade de volume de tecido. Este parâmetro foi estimado pelo método de Tom-

keieff,²⁷ segundo o qual a densidade de superfície de um componente (S_e) é proporcional ao número de intersecções (I_e) das linhas-teste com a superfície estimada e inversamente proporcional ao comprimento total das linhas-teste (L_t):

$$S_e = 2.I_e/L_t$$

A espessura média das camadas epiteliais (E) foi estimada aplicando-se o método de Weibel:³¹

$$E = (P.L_t)/[2.(I_k+I_e)]$$

onde P é o número de pontos que ficam sobre o epitélio.

Os resultados foram comparados estatisticamente mediante o teste não-paramétrico de Mann-Whitney.

Resultado

O peso corporal médio das ratas controles durante o período de treinamento variou entre 197,4 gramas (1ª semana de experimentação) e 260,2 gramas (8ª semana), com um ganho médio de 62,8 gramas durante todo o período de estudo. O peso corporal médio das ratas submetidas ao treinamento variou entre 201,2 gramas (1ª semana) e 277,0 gramas (8ª semana), com um ganho médio de 75,8 gramas.

O peso corporal médio das ratas entre os dias 1 e 21 de gestação variou entre 262,0 gramas e 315,4 gramas no grupo controle e entre 272,0 gramas e 365,7 gramas no grupo submetido ao exercício forçado. O ganho de peso médio durante a gestação foi de 53,4 gramas nas ratas controles e 92,9 gramas nas submetidas ao exercício físico.

O peso corporal médio dos fetos utilizados neste trabalho foi igual a 4,66 gramas para o grupo controle e a 2,45 gramas para o exercitado (Tabela 1).

Tabela 1 – Médias do peso corporal e da placenta e do comprimento do cordão umbilical de fetos de ratas controles e submetidas ao exercício físico. Teste de Mann-Whitney

Parâmetros	Controle	Tratado	Ucalc	p[U]
Peso corporal (g)	4,66	2,45	0	0,004*
Peso da placenta (mg)	536,42	335,06	0	0,004*
Comprimento do cordão (cm)	2,44	1,56	0	0,004*

* Estatisticamente significativa para $\alpha = 0,01$.

O peso das placentas das ratas controles era maior (536,42 mg) que as das exercitadas (335,06 mg), diferença essa estatisticamente significativa (Tabela 1).

Observando a Tabela 1, verifica-se que o comprimento do cordão umbilical dos fetos cujas mães foram submetidas ao exercício forçado era significativamente menor (1,56 cm) que o do controle (2,44 cm).

Histologicamente, o epitélio da mucosa do palato duro dos fetos do grupo exercitado evidenciou maior número de células, essas eram menores e os seus núcleos de menor volume.

Os resultados do estudo morfométrico (Tabela 2) permitem observar que o epitélio do palato duro dos fetos cujas mães foram exercitadas mostrou maior densidade numérica das células epiteliais que o do grupo controle. A diminuição dos volumes nuclear e citoplasmático e, conseqüentemente, do volume celular, nas camadas basal e espinhosa do grupo exercitado, leva a que um número maior de células ocupe o mesmo volume de tecido, aumentando assim a densidade numérica celular. A diminuição paralela e proporcional dos volumes nuclear e citoplasmático permite manter inalterada a relação núcleo-citoplasma, demonstrando que as células reduzem uniformemente o seu volume. A espessura do epitélio, por sua vez, foi menor no grupo dos animais exercitados, mostrando que o aumento do número de células não é suficiente para compensar a diminuição do volume celular. Por outro lado, a densidade superficial maior nos animais do grupo tratado, contribui para o diagnóstico de atrofia epitelial no palato duro. O quadro apresentado pelo epitélio do palato duro ao mesmo tempo demonstra a existência de uma hipotrofia celular e de uma hiperplasia epitelial. No entanto, a atrofia do epitélio resulta da insuficiência da hiperplasia para compensar a hipotrofia das células epiteliais.

Tabela 2 – Médias dos diversos parâmetros morfométricos do epitélio do palato duro de fetos dos grupos controle e tratado. Teste de Mann-Whitney

Parâmetros	Controle	Tratado	Ucalc	p[U]
Camada basal				
Volume nuclear (μm^3)	216,67	95,84	1	0,008*
Volume citoplasma (μm^3)	999,20	292,88	0	0,004*
Volume celular (μm^3)	1.215,87	388,73	0	0,004*
Relação núcleo-citoplasma	0,2147	0,3301	0	0,004*
Camada espinhosa				
Volume nuclear (μm^3)	201,97	81,20	0,5	0,006*
Volume citoplasma (μm^3)	2.513,92	512,00	0	0,004*
Volume celular (μm^3)	2.715,86	593,20	0	0,004*
Relação núcleo-citoplasma	0,2346	0,1724	0	0,004*
Epitélio total				
Densidade de superfície (mm^2/mm^3)	3,26	5,76	0	0,004*
Espessura do epitélio (μm^3)	29,66	15,33	0	0,004*
Rel. superfície livre-superfície basal	0,979	1,029	8	0,210 ^{ns}
Densidade numérica (N/mm^3)	524.500	2.093.319	0	0,004*

* = Estatisticamente significante para $\alpha = 0,01$.

ns = Não significante.

Discussão

O ganho médio de peso corporal durante todo o período experimental, assim como durante a gestação, foi maior nas ratas submetidas ao exercício físico (natação) que nas ratas controles.

Wilson & Gisolfi³³ observaram que as ratas submetidas ao exercício forçado (corrida) durante toda a gestação ganharam menos peso que as controles, e a diferença ponderal diminuída foi igual a 47 gramas. Terada²⁶ observou um ganho de peso menor nas camundongas submetidas ao exercício, atribuindo este fato a uma alteração do aproveitamento calórico graças a uma diminuição do consumo de alimentos e água. Mottola et al.¹⁸ chegaram às mesmas conclusões utilizando ratas.

O peso corporal médio dos fetos utilizados nesse trabalho foi significativamente menor no grupo exercitado que no grupo controle. Esta diminuição de peso fetal foi observada anteriormente por Terada²⁶ em camundongos e por Treadway & Lederman²⁸ em ratas. Trabalhando com cobaias, Gilbert et al.⁷ não observaram alteração no peso fetal, provavelmente em virtude de o programa de exercício ter sido de pequena intensidade. Sabe-se que a diminuição na ingestão de alimentos durante a gestação, inclusive nas fêmeas obesas, poderá conduzir a alterações no desenvolvimento fetal.^{17, 34} Por outro lado, o gasto de energia ocasionado pelo exercício físico aumenta a mobilização de ácidos graxos do tecido adiposo^{1, 21} e a utilização de triglicérides e de ácidos graxos musculares,³² o que poderia resultar numa diminuição dos depósitos de gordura. Na realidade, esses achados, interessantes como explicação das alterações observadas nos fetos de mães exercitadas, não têm ainda uma sustentação indiscutível.

No presente trabalho, foi observado que o peso da placenta das ratas exercitadas foi significativamente maior que nos animais controles. Tal fato está de acordo com os achados de Gilbert et al.⁸ e de Nelson et al.,¹⁹ que verificaram diminuição do peso placentário paralelamente à diminuição do peso dos próprios fetos. Placentas menores provavelmente apresentam fluxo sanguíneo reduzido, o que provocaria uma significativa hipóxia fetal, levando a um retardo do crescimento intra-uterino. É possível que a maior resposta hemodinâmica ao exercício materno seja a redistribuição seletiva do fluxo sanguíneo para o músculo em exercício, com redução do fluxo sanguíneo para os órgãos esplâncnicos e, potencialmente, para o útero grávido, à placenta e também ao feto.³

Os comprimentos dos cordões umbilicais dos fetos cujas mães foram submetidas ao exercício forçado foram significativamente mais curtos que os dos controles. Foi sugerido que o comprimento do cordão umbilical seria um indicador confiável da movimentação fetal intra-uterino. O comprimento do cordão umbilical é influenciado, pelo menos, por dois fatores: a incidência do movimento fetal e o espaço intra-uterino disponível.^{14, 15, 16} Se houver diminuição do espaço intra-uterino ou se o movimento fetal for bloqueado, haverá uma diminuição no estiramento do cordão umbilical e, conseqüentemente, no seu comprimento. Por exemplo, foram observados cor-

dões umbilicais encurtados em nascituros humanos com defeitos estruturais dos membros que limitavam o movimento fetal.¹⁴ Injetando curare em roedores durante a prenhez, com a finalidade de aumentar a pressão no saco amniótico e suprimir os movimentos fetais, Moessinger et al.¹⁶ e Moessinger¹⁵ observaram diminuição do comprimento dos cordões umbilicais. Também foram observados cordões umbilicais mais curtos em fetos cujas mães foram submetidas à hipervitaminose A,⁴ à ação do metilmercúrio,¹² à restrição protéica¹⁰ e aos efeitos do etanol² e da aguardente de cana.²⁰

Embora não se saiba quanto líquido amniótico seria necessário ao crescimento normal do feto, qualquer redução desse volume (oligoidrâmnios) pode causar anomalias, como palato fissurado e deformidades dos membros em fetos de ratos.²⁵ Ainda que esse fator não tenha sido analisado neste trabalho, a ausência de alterações desse tipo nos fetos sugere que o volume do líquido amniótico esteja dentro dos valores normais.

Placentas menores e cordões umbilicais mais curtos resultam em hipóxia fetal,⁶ com fluxo sanguíneo diminuído durante o exercício,³ tendo como conseqüência uma possível deficiência protéica.

Os achados histológicos e morfométricos permitem demonstrar que, no epitélio da mucosa do palato duro dos fetos do grupo exercitado, há um número maior de células, porém menores e com núcleos de menor volume. O quadro histopatológico observado no epitélio do palato duro nos fetos dos animais submetidos ao exercício físico forçado permite afirmar a ocorrência de uma hipotrofia celular e de uma hiperplasia. No entanto, essa última é insuficiente para compensar a diminuição do volume devido à hipotrofia, resultando numa atrofia epitelial, de modo que a espessura e a densidade superficial do epitélio do palato duro são menores nos animais do grupo tratado.

Em nosso material, foi possível observar um quadro histopatológico da mucosa do palato duro muito semelhante ao observado por Leão et al.,¹¹ em fetos desnutridos, o que vem em apoio à possibilidade de o exercício físico materno provocar desnutrição fetal.

Conclusão

Os resultados obtidos sugerem que o exercício físico forçado durante a prenhez da rata ocasionou:

- peso corporal médio maior nas mães e menor nos fetos;
- peso médio menor da placenta e do cordão umbilical;
- comprimento menor do cordão umbilical;
- presença de um quadro de atrofia no epitélio do palato duro, demonstrada pela análise histológica e morfométrica do epitélio do palato duro devido à ação conjunta de hiperplasia, evidenciada pelo aumento da densidade numérica celular, com diminuição dos volumes nuclear, citoplasmático e celular (hipotrofia).

De acordo com os nossos resultados, o exercício físico forçado durante a prenhez da rata resultou em fetos menores e pouco desenvolvidos, relacionados, provavelmente, com a restrição calórica (protéica), com a hipóxia e com a diminuição do comprimento do cordão umbilical.

SILVA JÚNIOR, A. R. da et al. Morphometric study of hard palate epithelium alterations of the rat fetuses as consequence of maternal physical exercise. *Rev. Odontol. UNESP (São Paulo)*, v.24, n.2, p.281-290, 1995.

- **ABSTRACT:** *The objective of the present report is to study morphometrically the alterations occurring in rat fetuses hard palate epithelium as a consequence of maternal physical exercise (swimming). Our results showed that the swimming effort imposed on dams during pregnancy may result into smaller-sized fetuses with atrophía in the hard palate epithelium, possibly due to protein-caloric restriction, hypoxia and reduced umbilical cord length.*
- **KEYWORDS:** *Fetal development; pregnancy; exercise; palate.*

Referências bibliográficas

- 1 BARAKAT, H. A. et al. Changes in plasma lipids and lipolytic activity during recovery from exercise of untrained rats. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, v.166, p.162-6, 1981.
- 2 BARRON, S. et al. The effect of prenatal alcohol exposure on umbilical cord length in fetal rats. *Alcoholism*, v.10, p.493-5, 1986.
- 3 CLAPP, J. F. Acute exercise stress in the pregnant ewe. *Am. J. Obstet. Gynecol.*, v.136, p.489-515, 1980.
- 4 CUNHA, S. A. et al. Experimental hypervitaminosis A in the rat. XXV. The effect of a high single dosis of vitamin A on umbilical cord length. In: REUNIÃO ANUAL DA SBPC, 44, 1992, São Paulo. *Anais...* São Paulo: SBPC, 1992. p.712.
- 5 DHINDSA, D. et al. Responses to exercise in the pregnant pygmy goat. *Respir. Physiol.*, v.32, p.299-311, 1978.
- 6 EMMANOUILIDES, G. C. et al. Fetal responses to maternal exercise in the sheep. *Am. J. Obstet. Gynecol.*, v.112, p.130-7, 1972.
- 7 GILBERT, R. D. et al. Placental diffusing capacity and fetal development in exercising or hypoxic guinea pigs. *J. Appl. Physiol.*, v.46, p.828-34, 1979.
- 8 _____. Long term maternal exercise in guinea pigs: effects on fetal growth and development and placental diffusing capacity. *Am. J. Obstet. Gynecol.*, v.146, p.123, 1981.
- 9 HENNIG, A. Fehler der oberflächenbestimmung von Kernen bei endlicher Schnittdicke. *Mikroskopie*, v.12, p.7-11, 1957.
- 10 LEÃO, L. L. S. et al. The effect of maternal protein deprivation during pregnancy in rat umbilical cord length. In: ENCONTRO DE PESQUISAS VETERINÁRIAS, 14, 1992, Jaboticabal. *Anais...* Jaboticabal: FUNEP, 1992. p.259-60.

- 11 LEÃO, L. L. S. et al. Estudo estereológico dos efeitos da desnutrição protéica materna no palato do feto de rato. In: REUNIÃO ANUAL DA SBPC, 45, 1993, Recife. *Anais...* Recife: SBPC, 1993. p.742.
- 12 LOPES, R. A. et al. The effect of methylmercury on umbilical cord length. *An. Farm. Quím.*, v.31/32, p.66, 1991/1992.
- 13 MERZ, W. A. Streckenmessung an gerichteten Strukturen in Mikroskop und ihre Anwendung zur Bestimmung von Oberflächen-Volumen relationen in Knochengewebe. *Mikroskopie*, v.2, p.132-6, 1968.
- 14 MILLER, M. E. et al. Short umbilical cord: its origin and relevance. *Pediatrics*, v.67, p.618-21, 1981.
- 15 MOESSINGER, A. C. Fetal akinesia deformation sequence: an animal model. *Pediatrics*, v.72, p.857-63, 1983.
- 16 MOESSINGER, A. C. et al. Umbilical cord length as an index of fetal activity: experimental study and clinical implications. *Pediatr. Res.*, v.16, p.109-12, 1982.
- 17 MORGAN, B. L. G., WINICK, M. Effects of malnutrition on some aspects of RNA metabolism in the maternal liver and fetal tissues at different stages of pregnancy in the rat. *J. Nutr.*, v.107, p.1694-701, 1977.
- 18 MOTTOLA, M. F. et al. The effects of strenuous exercise on developing rat fetuses. *Br. J. Sports Med.*, v.17, p.117-21, 1983.
- 19 NELSON, P. S. et al. Fetal growth and placental diffusing capacity in guinea pigs following long-term maternal exercise. *J. Dev. Physiol.*, v.5, p.1-10, 1983.
- 20 OLIVEIRA, C. *Estudo morfológico, morfométrico e estereológico das alterações dos epitélios de revestimento e glandular de palato, língua e glândula submandibular de fetos de ratas submetidas ao alcoolismo*. Jaboticabal, 1989. 181p. Tese (Livre-Docência) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista.
- 21 OSCAI, L. B. Effect of acute exercise on tissue free fatty acids in untrained rats. *Can. J. Physiol. Pharmacol.*, v.57, p.485-9, 1979.
- 22 RIBEIRO, C.A.L. et al. Alteraciones morfológicas y estereológicas del epitelio lingual de fetos de rata provocadas por el ejercicio materno. *Arch. Fac. Med. Zaragoza*, v.30, p.84-8, 1990.
- 23 SALA, M. A. et al. Método morfométrico para análisis cuantitativo de los tejidos. Determinación de los parámetros normales para el hepatocito de rata. *Arch. Fac. Med. Zaragoza*, v.32, p.29-31, 1992.
- 24 SEMPRINI, M. et al. Morfometria da pele de fetos de ratas submetidas ao exercício físico. In: ENCONTRO DE PESQUISAS VETERINÁRIAS, 14, 1992, Jaboticabal. *Anais...* Jaboticabal: FUNEP, 1992. p.261-2.
- 25 SYMCHYCH, P. S., WINCHESTER, P. Potter's syndrome. Animal model: amniotic fluid deficiency and fetal lung growth in the rat. *Am. J. Pathol.*, v.90, p.779-82, 1978.
- 26 TERADA, M. Effect of physical activity before pregnancy of fetuses of mice exercised forcibly during pregnancy. *Teratology*, v.10, p.141-4, 1974.
- 27 TOMKEIEFF, S. I. Linear intercepts, areas and volumes. *Nature*, v.155, p.24, 1945.
- 28 TREADWAY, J. L., LEDERMAN, S. A. The effects of exercise on milk yield, milk composition, and offspring growth in rats. *Am. J. Clin. Nutr.*, v.44, p.481-8, 1986.
- 29 VALE, S. A. L. et al. Cariometria da glândula submandibular de fetos de ratas submetidas ao exercício físico. *An. Farm. Quím.*, v.31/32, p.62, 1991/1992.

- 30 VALERI, V. et al. Relationship between cell nuclear volume and deoxyribonucleic acid of cell of normal epithelium, of carcinoma *in situ* and of invasive carcinoma of the uterine cervix. *Acta Cytol.*, v.11, p.488-96, 1967.
- 31 WEIBEL, E. R. *Stereological methods*. London: Academic Press, 1980.
- 32 WHAREN, J. et al. Splanchnic and leg metabolism of glucose, free fatty acids and amino acids during prolonged exercise in man. In: HOWALD, H., POORTMANS, J. R. *Metabolism adaptation to prolonged physical exercise*. Magglingen: Birkhause, 1973. p.144-53, 1972.
- 33 WILSON, N., GISOLFI, C. V. Effects of exercising rats during pregnancy. *J. Appl. Physiol.*, v.48, p.34-40, 1980.
- 34 ZAMENHOF, S. et al. DNA (cell number) and protein in neonatal rat brain: alteration by timing of maternal dietary protein restriction. *J. Nutr.*, v.101, p.1265-70, 1971.

Recebido em 12.4.1994.