

Biociência Animal

Alécio Matos Pereira
Tairon Pannunzio Dias e Silva
Sara Silva Reis
(Organizadores)



Biociência Animal

Alécio Matos Pereira
Tairon Pannunzio Dias e Silva
Sara Silva Reis
(Organizadores)



2019 by Atena Editora
Copyright © Atena Editora
Copyright do Texto © 2019 Os Autores
Copyright da Edição © 2019 Atena Editora
Editora Chefe: Profª Drª Antonella Carvalho de Oliveira
Diagramação: Natália Sandrini
Edição de Arte: Lorena Prestes
Revisão: Os Autores



Todo o conteúdo deste livro está licenciado sob uma Licença de Atribuição Creative Commons. Atribuição 4.0 Internacional (CC BY 4.0).

O conteúdo dos artigos e seus dados em sua forma, correção e confiabilidade são de responsabilidade exclusiva dos autores. Permitido o download da obra e o compartilhamento desde que sejam atribuídos créditos aos autores, mas sem a possibilidade de alterá-la de nenhuma forma ou utilizá-la para fins comerciais.

Conselho Editorial

Ciências Humanas e Sociais Aplicadas

Profª Drª Adriana Demite Stephani – Universidade Federal do Tocantins
Prof. Dr. Álvaro Augusto de Borba Barreto – Universidade Federal de Pelotas
Prof. Dr. Alexandre Jose Schumacher – Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Mato Grosso
Prof. Dr. Antonio Carlos Frasson – Universidade Tecnológica Federal do Paraná
Prof. Dr. Antonio Gasparetto Júnior – Instituto Federal do Sudeste de Minas Gerais
Prof. Dr. Antonio Isidro-Filho – Universidade de Brasília
Prof. Dr. Constantino Ribeiro de Oliveira Junior – Universidade Estadual de Ponta Grossa
Profª Drª Cristina Gaio – Universidade de Lisboa
Prof. Dr. Deyvison de Lima Oliveira – Universidade Federal de Rondônia
Prof. Dr. Edvaldo Antunes de Farias – Universidade Estácio de Sá
Prof. Dr. Eloi Martins Senhora – Universidade Federal de Roraima
Prof. Dr. Fabiano Tadeu Grazioli – Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões
Prof. Dr. Gilmei Fleck – Universidade Estadual do Oeste do Paraná
Profª Drª Ivone Goulart Lopes – Istituto Internazionele delle Figlie de Maria Ausiliatrice
Prof. Dr. Julio Candido de Meirelles Junior – Universidade Federal Fluminense
Profª Drª Keyla Christina Almeida Portela – Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Mato Grosso
Profª Drª Lina Maria Gonçalves – Universidade Federal do Tocantins
Profª Drª Natiéli Piovesan – Instituto Federal do Rio Grande do Norte
Prof. Dr. Marcelo Pereira da Silva – Universidade Federal do Maranhão
Profª Drª Miranilde Oliveira Neves – Instituto de Educação, Ciência e Tecnologia do Pará
Profª Drª Paola Andressa Scortegagna – Universidade Estadual de Ponta Grossa
Profª Drª Rita de Cássia da Silva Oliveira – Universidade Estadual de Ponta Grossa
Profª Drª Sandra Regina Gardacho Pietrobom – Universidade Estadual do Centro-Oeste
Profª Drª Sheila Marta Carregosa Rocha – Universidade do Estado da Bahia
Prof. Dr. Rui Maia Diamantino – Universidade Salvador
Prof. Dr. Urandi João Rodrigues Junior – Universidade Federal do Oeste do Pará
Profª Drª Vanessa Bordin Viera – Universidade Federal de Campina Grande
Prof. Dr. Willian Douglas Guilherme – Universidade Federal do Tocantins

Ciências Agrárias e Multidisciplinar

Prof. Dr. Alexandre Igor Azevedo Pereira – Instituto Federal Goiano
Prof. Dr. Antonio Pasqualetto – Pontifícia Universidade Católica de Goiás
Profª Drª Daiane Garabeli Trojan – Universidade Norte do Paraná
Profª Drª Diocléa Almeida Seabra Silva – Universidade Federal Rural da Amazônia
Prof. Dr. Écio Souza Diniz – Universidade Federal de Viçosa
Prof. Dr. Fábio Steiner – Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul
Profª Drª Girlene Santos de Souza – Universidade Federal do Recôncavo da Bahia
Prof. Dr. Jorge González Aguilera – Universidade Federal de Mato Grosso do Sul
Prof. Dr. Júlio César Ribeiro – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro
Profª Drª Raissa Rachel Salustriano da Silva Matos – Universidade Federal do Maranhão
Prof. Dr. Ronilson Freitas de Souza – Universidade do Estado do Pará
Prof. Dr. Valdemar Antonio Paffaro Junior – Universidade Federal de Alfenas

Ciências Biológicas e da Saúde

Prof. Dr. Benedito Rodrigues da Silva Neto – Universidade Federal de Goiás
Prof. Dr. Edson da Silva – Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri
Profª Drª Elane Schwinden Prudêncio – Universidade Federal de Santa Catarina
Prof. Dr. Gianfábio Pimentel Franco – Universidade Federal de Santa Maria
Prof. Dr. José Max Barbosa de Oliveira Junior – Universidade Federal do Oeste do Pará
Profª Drª Magnólia de Araújo Campos – Universidade Federal de Campina Grande
Profª Drª Natiéli Piovesan – Instituto Federal do Rio Grande do Norte
Profª Drª Vanessa Lima Gonçalves – Universidade Estadual de Ponta Grossa
Profª Drª Vanessa Bordin Viera – Universidade Federal de Campina Grande

Ciências Exatas e da Terra e Engenharias

Prof. Dr. Adélio Alcino Sampaio Castro Machado – Universidade do Porto
Prof. Dr. Alexandre Leite dos Santos Silva – Universidade Federal do Piauí
Profª Drª Carmen Lúcia Voigt – Universidade Norte do Paraná
Prof. Dr. Eloi Rufato Junior – Universidade Tecnológica Federal do Paraná
Prof. Dr. Fabrício Menezes Ramos – Instituto Federal do Pará
Prof. Dr. Juliano Carlo Rufino de Freitas – Universidade Federal de Campina Grande
Profª Drª Neiva Maria de Almeida – Universidade Federal da Paraíba
Profª Drª Natiéli Piovesan – Instituto Federal do Rio Grande do Norte
Prof. Dr. Takeshy Tachizawa – Faculdade de Campo Limpo Paulista

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP) (eDOC BRASIL, Belo Horizonte/MG)	
B615	Biociência animal [recurso eletrônico] / Organizadores Alécio Matos Pereira, Tairon Pannunzio Dias e Silva, Sara Silva Reis. – Ponta Grossa, PR: Atena Editora, 2019. Formato: PDF Requisitos de sistemas: Adobe Acrobat Reader Modo de acesso: World Wide Web Inclui bibliografia ISBN 978-85-7247-785-7 DOI 10.22533/at.ed.857192811 1. Biociência. 2. Zoologia. I. Pereira, Alécio Matos. II. Silva, Tairon Pannunzio Dias e. III. Reis, Sara Silva. CDD 590
Elaborado por Maurício Amormino Júnior – CRB6/2422	

Atena Editora
Ponta Grossa – Paraná - Brasil
www.atenaeditora.com.br
contato@atenaeditora.com.br

APRESENTAÇÃO

O livro de “Biociência Animal” une várias abordagens da utilização do animal para desenvolver o bem-estar humano, ciência animal e segurança alimentar. É um livro versátil que tem 7 capítulos e vários colaboradores especializados na área da ciência animal.

São abordados em seus capítulos assuntos como equoterapia, métodos alternativos para conservação de peças anatômicas, ação da melatonina e do estrógeno sobre o crescimento do tumor e métodos de avaliação da qualidade de carne moída além de outros temas.

A equoterapia, é um método terapêutico que utiliza o cavalo dentro de uma abordagem interdisciplinar nas áreas de saúde, educação e equitação, buscando o desenvolvimento biopsicossocial de pessoas com deficiência e/ou com necessidades especiais alcançando excelentes resultados no desenvolvimento da psicomotricidade e inclusão de jovens com necessidades especiais.

A busca por alternativas ao formol é fundamental para diminuir o seu uso, visto que é uma substância tóxica para o ser humano. Um olhar sobre alternativas para entender o processo mitótico que leva o crescimento dos tumores faz desse capítulo uma fonte para verificar a influência da melatonina e estrógeno no crescimento desse tumor.

O crescimento populacional e a necessidade por alimentos que atendam a crescente demanda, imprime o uso de alternativas alimentares na produção animal. Nesse contexto, o estudo do uso da silagem de grão úmido de milho na alimentação de bovinos de corte torna-se assunto fundamental para o avanço da capacidade produtiva dos animais e rentabilidade do setor, principalmente nos confinamentos.

Um país de mais de 210 milhões de habitantes, com uma demanda crescente por produtos de origem animal, requer um olhar preciso sobre os caminhos da produção dos produtos de origem animal. O capítulo métodos de avaliação da qualidade de carne moída lança um olhar a microbiologia e aos aspectos físico-químicos desse produto tão utilizado na cozinha brasileira

Este livro é destinado a promover fonte de ensino para os estudantes da ciência animal, apresentando uma abordagem eficiente sobre temas relevantes nessa área e enriquecendo em conhecimentos os que minuciosamente estudarem seus capítulos.

Alécio Matos Pereira
Tairon Pannunzio Dias e Silva
Sara Silva Reis

SUMÁRIO

CAPÍTULO 1	1
“UM NOVO OLHAR SOBRE QUATRO PATAS: EQUOTERAPIA”	
Jullyana de Souza Silva	
Amanda Melo Sant'anna Araújo	
Eric Francelino Andrade	
Débora Ribeiro Orlando	
Tânia Pires da Silva	
Claudinete da Assunção Ramos Penha	
Camila Fernandes Oliveira	
Bruna Maria Braga Teixeira	
Igor Vitor Alcântara Calmon	
Karolline Aires da Costa	
Lun Miranda Sales	
Karielly Amaral Andrade	
DOI 10.22533/at.ed.8571928111	
CAPÍTULO 2	10
AÇÃO DA MELATONINA E DO ESTRÓGENO SOBRE O CRESCIMENTO DO TUMOR DE EHRLICH EM CAMUNDONGOS SWISS	
Danielle Dutra Pereira	
Wanessa Noadya Ketry de Oliveira	
Priscila Maria do Santos Oliveira	
Laíse de Souza Elias	
Jeine Emanuele Santos da Silva	
Thaís Heloise da Silva Almeida	
George Chaves Jimenez	
Joaquim Evêncio Neto	
DOI 10.22533/at.ed.8571928112	
CAPÍTULO 3	23
AVALIAÇÃO DE MÉTODOS ALTERNATIVOS PARA CONSERVAÇÃO DE PEÇAS ANATÔMICAS E SUAS APLICAÇÕES CONSCIENTES NO LABORATÓRIO DE ANATOMIA ANIMAL	
Mariana Biscaro Zófoli	
Jorge Gonçalves Pires	
Camila Ramos De Oliveira Nunes	
Ana Bárbara Freitas Rodrigues	
Stefany Martins De Almeida	
Gina Nunes Teixeira	
Leonardo Siqueira Glória	
Raphael Weller Ferreira Menassa	
DOI 10.22533/at.ed.8571928113	
CAPÍTULO 4	39
CARACTERÍSTICAS ÓSSEAS DE CODORNAS JAPONESAS EM POSTURA SUPLEMENTADAS COM 1,25-DIHIIDROXIVITAMINA-D ₃ -GLICOSÍDEO DE ORIGEM VEGETAL	
Christiane Silva Souza	
Maria Goreti de Almeida Oliveira	
Sérgio Luiz de Toledo Barreto	
Flávio Medeiros Vieites	
Arele Arlindo Calderano	
DOI 10.22533/at.ed.8571928114	

CAPÍTULO 5	51
IDENTIFICAÇÃO DA COMPOSIÇÃO GENÉTICA E CARACTERIZAÇÃO FENOTÍPICA DA RAÇA GIROLANDO NO ESTADO DO AMAZONAS	
Léo Fernando de Faria Salgado	
DOI 10.22533/at.ed.8571928115	
CAPÍTULO 6	61
MÉTODOS DE AVALIAÇÃO DA QUALIDADE DE CARNE MOÍDA	
Maria Santos Oliveira	
Felicianna Clara Fonsêca Machado	
Gladiane dos Santos Nunes	
Cristiano Pinto de Oliveira	
Natylane Eufransino Freitas	
Helga Germana de Sousa Ribeiro	
Juanna D'arc Fonsêca dos Santos	
Laíze Falcão de Almeida	
Vanusa Castro de Sousa	
Samara de Castro Sousa	
Larissa Maria Feitosa Gonçalves	
Antonio Augusto Nascimento Machado Júnior	
DOI 10.22533/at.ed.8571928116	
CAPÍTULO 7	83
USO DE SILAGEM DE GRÃO ÚMIDO DE MILHO NA ALIMENTAÇÃO DE BOVINOS DE CORTE	
Kárito Augusto Pereira	
Renata Vaz Ribeiro	
Otávio Augusto Martins Oliveira	
Thais Marques Santana	
Alliny das Graças Amaral	
Natalia de Avila Soares	
Mariane Rodrigues Ferreira	
DOI 10.22533/at.ed.8571928117	
SOBRE OS ORGANIZADORES	94
ÍNDICE REMISSÍVO	95

AÇÃO DA MELATONINA E DO ESTRÓGENO SOBRE O CRESCIMENTO DO TUMOR DE EHRLICH EM CAMUNDONGOS SWISS

Danielle Dutra Pereira

Universidade Federal de Pernambuco
Recife – PE

Wanessa Noadya Ketry de Oliveira

Universidade Federal Rural de Pernambuco
Recife – PE

Priscila Maria do Santos Oliveira

Universidade Federal Rural de Pernambuco
Recife – PE

Laíse de Souza Elias

Universidade Federal Rural de Pernambuco
Recife – PE

Jeine Emanuele Santos da Silva

Universidade Federal Rural de Pernambuco
Recife – PE

Thaís Heloise da Silva Almeida

Universidade Federal de Pernambuco
Recife – PE

George Chaves Jimenez

Universidade Federal Rural de Pernambuco
Recife – PE

Joaquim Evêncio Neto

Universidade Federal Rural de Pernambuco
Recife – PE

de Ehrlich. Foram utilizados 56 camundongos fêmeas Swiss (*Mus musculus*), de 60 dias de idade, divididas em sete grupos experimentais (n = 8 animais/grupo): A- Pinealectomizados tratados com estrógeno e melatonina; B- Sham-pinealectomizados tratados com estrógeno e melatonina; C- Pinealectomizados tratados com estrógeno; D- Sham-pinealectomizados tratados com estrógeno; E- Pinealectomizados tratados com veículo do estrógeno; F- Sham-pinealectomizados tratados com veículo do estrógeno; G- Controle. Os animais pinealectomizados e tratados com estrógeno apresentaram maior taxa de crescimento tumoral e os animais sham-pinealectomizados tratados com estrógeno e melatonina exibiram uma maior percentagem de inibição tumoral. A sobrevida foi menor nos grupos pinealectomizados e tratados com estrógeno.

PALAVRAS-CHAVE: Estrógeno, melatonina, pinealectomia, sobrevida, tumor.

MELATONIN AND ESTROGEN ACTION ON TUMOR GROWTH OF SWISS MICE IMPLANTED WITH EHRLICH TUMOR

ABSTRACT: The aim of this study was to evaluate the melatonin and estrogen action on tumor growth and survival of Swiss mice

RESUMO: O objetivo deste estudo foi avaliar ação da melatonina e do estrógeno sobre o crescimento tumoral e sobrevida de Camundongos Swiss implantados com tumor

implanted with Ehrlich tumor. We used 56 female Swiss mice (*Mus musculus*), 60 days of age, divided into seven experimental groups (n = 8 animals/group): A- Estrogen and melatonin treated pinealectomized; B- Estrogen and melatonin treated sham-pinealectomized; C- Estrogen treated pinealectomized; D- Estrogen treated Sham-Pinealectomized; E- Estrogen vehicle treated pinealectomized; F- Estrogen vehicle treated sham-pinealectomized; G- Control. Estrogen treated pinealectomized animals had a higher tumor growth rate, and estrogen and melatonin treated sham-pinealectomized animals exhibited a higher percentage of tumor inhibition. Survival was lower in pinealectomized and estrogen treated groups.

KEYWORDS: Estrogen, melatonin, pinealectomy, survival, tumor.

1 | INTRODUÇÃO

O câncer de mama é o segundo tipo de neoplasia mais comum entre as mulheres em todo o mundo (INCA, 2014). A etiologia do tumor mamário é multifatorial, com a participação de fatores genéticos, ambientais, nutricionais e hormonais (SALAZAR *et al.*, 2016). A forma como diferentes hormônios atuam estimulando ou inibindo o processo de crescimento tumoral tem sido estudada, buscando-se compreender a interação entre estes e suas implicações para o metabolismo celular. Dentre os hormônios que interferem na dinâmica do crescimento tumoral estão o estrógeno (LEI *et al.*, 2019) e a melatonina (SU *et al.*, 2017).

Nos últimos anos, têm-se empregado o tratamento hormonal à base de estrógeno como método de prevenção, visando o controle populacional. (BORGES; TORRESAN, 2018). A utilização de terapia hormonal com fins contraceptivos ou em casos de dismenorreia, irregularidades do ciclo menstrual, gravidez ectópica, inflamação pélvica, entre outros, provocam predisposição ao aparecimento de neoplasia mamária (MORCH *et al.*, 2017).

A melatonina, ao contrário do estrógeno, inibe o crescimento e proliferação de células cancerígenas, além de reduzir a incidência de metástase (BORIN *et al.*, 2016) e a gênese tumoral, limitando danos no DNA, que precede a mutação necessária para o desenvolvimento do tumor (LIU *et al.*, 2013).

Em virtude de similaridades biológicas com as neoplasias mamárias humanas, o tumor de Ehrlich tem despertado o interesse de pesquisadores para empregá-lo como modelo comparativo para o estudo desta patologia. A vantagem de estudar o carcinoma de Ehrlich está no conhecimento prévio da quantidade e das características iniciais das células tumorais, na alta capacidade de transplante e no desenvolvimento rápido da neoplasia que restringe o tempo de estudo (KABEL *et al.*, 2013). O objetivo deste trabalho foi avaliar a ação da melatonina e do estrógeno sobre o crescimento tumoral e sobrevida de Camundongos Swiss implantados com

tumor de Ehrlich.

2 | MATERIAL E MÉTODOS

O projeto foi submetido ao comitê de ética em pesquisa animal da Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE) e aprovado sob o número 016921/2012.

Foram utilizados 56 camundongos fêmeas Swiss (*Mus musculus*), de 60 dias de idade, alojadas em caixas padronizadas para a espécie e mantidos em condições ambientais ($22\pm 1^{\circ}\text{C}$ e UR 50%), sob um programa de luz contínuo de 12h/dia, com água e alimentação *ad libitum*. Os animais foram distribuídos em sete tratamentos com $n=8$ por unidade experimental (Tab. 1).

<i>Tratamento</i>	<i>Pinealectomizados</i>	<i>Sham-pinealectomizados</i>
Estrógeno e Melatonina	A	B
Estrógeno	C	D
Veículo do Estrógeno	E	F
Controle		G

Tabela 1. Tratamento dos grupos experimentais.

A pinealectomia foi realizada segundo o método preconizado por Maganhin *et al.* (2009). Para eliminar falsos resultados, o mesmo procedimento foi realizado nos animais do grupo Sham, mas sem a retirada da glândula pineal.

A melatonina foi administrada durante 60 dias anteriores à implantação do tumor e 12 dias após o implante tumoral, na dose de $2\ \mu\text{g/g}$ de peso corporal, entre o período das 18:00 às 19:00 horas (PRATA-LIMA; BARACAT; SIMÕES, 2004), por via subcutânea. A melatonina cristalina (Sigma Chemical Co, Et. Louis, Mo., USA) foi dissolvida em 0,1mL de NaCl contendo 5% de etanol. O grupo controle recebeu inoculações diárias de 0,1mL do veículo por via subcutânea (REDINS; REDINS; NOVAES, 2000).

O benzoato de estradiol foi administrado durante o mesmo tempo que a melatonina, por via subcutânea, na dose de $20\ \mu\text{g/kg}$. A solução de benzoato de estradiol foi preparada dissolvendo-se o produto em óleo de amendoim estéril, que é o veículo original do produto, de tal forma que a dosagem ficou contida em 0,1mL da solução (VICELLI; GURGEL; ALVARENGA, 2006).

A aplicação das células tumorais nos grupos experimentais procedeu-se ao 60º dia de experimento. Os animais receberam uma injeção subcutânea na região axilar direita de 0,05 mL da suspensão celular, contendo $2,5 \times 10^6$ células tumorais eluídas em solução de Ringer pH 7,4 (DAGLI, 1989).

Foram realizadas medidas diárias dos diâmetros da projeção superficial externa do tumor a partir do quinto dia após a inoculação das células tumorais, com auxílio de paquímetro. O volume do tumor foi estimado pela fórmula $V = 4/3 \cdot \pi \cdot (R_1 \cdot R_2 \cdot R_3)$, onde R1, R2 e R3 são os raios do tumor em seus três planos perpendiculares (BOURSOT *et al.*, 2009). Em cada tratamento foi obtida a função que descreve a variação do volume do tumor Ehrlich em função do tempo, determinando-se a razão entre os coeficientes angulares de cada equação obtida. Para a determinação da taxa de variação infinitesimal do volume do tumor de Ehrlich em função do tempo, foi determinada a derivada primeira de cada função matemática, comparando-se dois momentos distintos de desenvolvimento do tumor, um no primeiro dia após confirmação do início de crescimento do tumor na forma sólida, e um segundo ponto ao décimo segundo dia; sendo a variação média da velocidade de crescimento do tumor obtida para este intervalo temporal.

As diferenças estatísticas foram determinadas mediante aplicação do teste estatístico t de Student, considerando-se um nível descritivo equivalente a um valor de $p < 0,05$. O percentual de inibição tumoral também foi calculado tomando-se como referência a média da massa dos tumores de Ehrlich em cada grupo, avaliada no 12º dia do início do acompanhamento, empregando-se a equação $I\% = (C - T)/C \times 100$ proposta por Sousa *et al.* (2010), onde C = peso médio dos tumores dos grupos controle; T= peso médio dos tumores dos grupos tratados.

Para a determinação da sobrevivência, os animais dos grupos experimentais foram observados diariamente, após a inoculação do tumor de Ehrlich, durante o período de 12 dias. A partir desse monitoramento, foi realizado o registro da mortalidade diária e posteriormente calculada a taxa e a percentagem média de sobrevivência (QURESHI *et al.*, 2001). A avaliação estatística desse parâmetro foi realizada aplicando-se o teste de Kolmogorov-Smirnov para verificar a normalidade da distribuição dos dados obtidos ($p > 10\%$). Para os dados com distribuição gaussiana realizou-se uma ANOVA e um teste post-hoc de Tukey ($\alpha = 5\%$). Os dados com distribuição não gaussiana foram analisados pelo teste de Kruskal-Wallis e post-hoc de Dunn ($\alpha = 5\%$).

3 | RESULTADOS E DISCUSSÃO

O tumor de Ehrlich desenvolveu-se de forma característica conforme o tipo de tratamento empregado, como pode ser observado na figura 1. Para uma melhor análise obteve-se os parâmetros de regressão das funções matemáticas que descreviam a variação de volume do tumor de Ehrlich ao longo do tempo, cujos dados podem ser visualizados na tabela 2.

Nesta tabela verificamos que em todos os tratamentos a variação de

crescimento do tumor de Ehrlich pode ser descrita por uma função do tipo $y = a \cdot \ln x + b$, onde “y” representa o volume do tumor (cm^3), “a” o coeficiente angular (cm^3/dia), “b” o coeficiente linear (cm^3) e “x” um determinado tempo de desenvolvimento (dias), obtendo-se para todos os tratamentos um coeficiente de determinação $R^2 > 0,85$, que por sua vez sinaliza uma boa descrição matemática, por meio da qual verificou-se que a razão entre o coeficiente angular obtido para cada tratamento em relação ao coeficiente angular obtido para o grupo controle, foi afetada por alguns tratamentos de forma significativa.

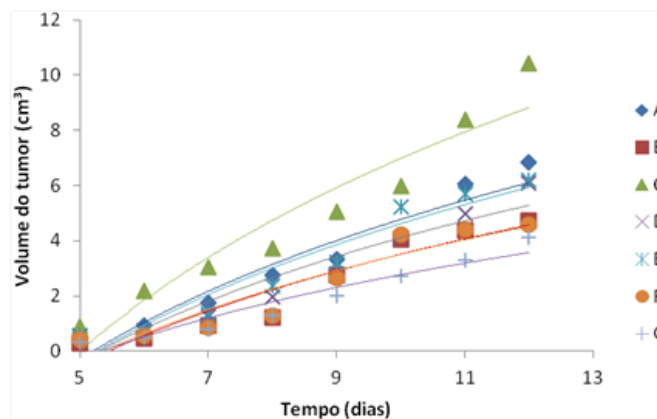


Figura 1. Comportamento do crescimento tumoral do 6º ao 12º após o implante do tumor. A- Pinealectomizado tratado com estrógeno e melatonina. B- Sham-pinealectomizado tratado com estrógeno e melatonina. C- Pinealectomizado tratado com estrógeno. D- Sham-pinealectomizado tratado com estrógeno. E- Pinealectomizado tratado com o veículo do estrógeno. F- Sham-pinealectomizado tratado com o veículo do estrógeno. G- Controle.

Os animais pertencentes ao grupo A apresentaram um aumento significativo na velocidade de variação de volume do tumor em relação aos animais do grupo controle, em cerca de $66 \pm 33\%$. Entretanto, nesta mesma tabela 2 pode-se verificar que animais Grupo B não exibiram aumento da velocidade de variação de volume tumoral em período similar de desenvolvimento, mostrando um comportamento similar aquele observado em relação ao grupo controle, para um valor de $p < 0,05$.

Vale, entretanto, salientar que a velocidade de variação de volume do tumor de Ehrlich apresentada pelos animais do grupo A foi superior estatisticamente ($t=2,118$) em relação à velocidade de variação de volume apresentada pelos animais do grupo B. Estes dados sugerem que a pinealectomia contribuiu para o aumento do crescimento do tumor de Ehrlich. Pode-se verificar que o grupo C apresentou um aumento significativo na velocidade de crescimento tumoral, de $129 \pm 31\%$ em relação ao grupo controle, grupo D ($t=5,270$), e ao grupo E ($t=4,220$), considerando-se um valor de $p < 0,05$. É importante ainda mencionar que tanto o grupo D como o grupo E apresentou um aumento significativo na velocidade de crescimento tumoral de $47 \pm 25\%$ e de $64 \pm 30\%$ respectivamente, em relação aos animais do grupo

controle, para um valor de $p < 0,05$.

Grupo	a	(-) b	R ²	Razão	Valores de t
A	7,30 ± 1,82	12,04 ± 4,18	0,93	1,66±0,33	2,224*
B	5,77 ± 1,39	9,79 ± 2,37	0,90	1,31±0,33	1,077
C	10,06 ±2,24	16,19 ± 3,86	0,91	2,29±0,31	4,609*
D	6,45± 0,84	10,75 ± 1,16	0,91	1,47±0,25	2,054*
E	7,21 ± 1,51	11,98 ± 2,53	0,92	1,64±0,30	2,357*
F	5,61 ± 1,79	9,42 ± 3,15	0,88	1,28±0,39	0,797
G	4,40 ± 0,96	7,35 ± 1,51	0,91	1,00±0	-

Tabela 2. Valores médios dos parâmetros de regressão das funções matemáticas que descrevem a variação temporal do volume do tumor de Ehrlich em camundongos sob diferentes condições de tratamento. Uma comparação estatística da Razão entre os respectivos coeficientes angulares em relação ao grupo controle.

A- Pinealectomizado tratado com estrógeno e melatonina. B- Sham-pinealectomizado tratado com estrógeno e melatonina. C- Pinealectomizado tratado com estrógeno. D- Sham-pinealectomizado tratado com estrógeno. E- Pinealectomizado tratado com o veículo do estrógeno. F- Sham-pinealectomizado tratado com o veículo do estrógeno. G- Controle. Coeficiente angular "a", Coeficiente linear "b", Coeficiente de determinação "R²", teste t de Student para as razões entre os coeficientes angulares em relação ao grupo controle. * diferença significativa para um valor de $p < 0,05$, considerando-se um valor crítico $t = 1,761$ (14 gl.).

Estes dados sugerem que a pinealectomia contribui para a velocidade de variação volume do tumor de Ehrlich, em animais tratados somente com estrógeno, e que este efeito foi bem mais pronunciado do que em relação aos animais pinealectomizados tratados com estrógeno e melatonina (Grupo A), o que sugere um efeito de contenção de crescimento do tumor protagonizado pela melatonina. É interessante também destacar que em animais pinealectomizados, os componentes do veículo do estrógeno foram suficientes para promover crescimento do tumor em relação aos animais sham pinealectomizados tratados com veículo (Grupo F) ($t=2,091$ contra t crítico = 1,761 para 14gl), para um valor de $p < 0,05$.

A remoção da glândula pineal parece contribuir para a mobilização de fatores que estimulam o crescimento do tumor de Ehrlich, principalmente em presença de estrógeno (Grupo C). Mas, o tratamento prévio dos animais com melatonina evitou o crescimento do tumor em animais sham pinealectomizados tratados com o estrógeno (Grupo B), no entanto não evitou o crescimento do tumor quando os animais eram pinealectomizados e recebiam também o estrógeno (Grupo A). Em outras palavras, a melatonina exógena conseguiu evitar as transformações bioquímicas endógenas protagonizadas pela presença de estrógeno, mas não conseguiu realizar este efeito com a mesma eficiência quando os animais tratados com estrógeno não possuíam a glândula pineal, denunciando a importância da participação dos componentes deste tecido glandular, em especial a melatonina endógena, sobre o controle do desenvolvimento do tumor de Ehrlich.

Ali; El-Domeiri; Gupta (1973), já haviam demonstrado que a pinealectomia

promovia o desenvolvimento de determinadas linhagens de tumores, especialmente o desenvolvimento de melanoma em hamsters, atribuindo este efeito à diminuição dos níveis de melatonina endógena, em até 80%.

A melatonina produzida pela pineal tem uma importante participação nos mecanismos que regulam os ritmos endógenos de atividade metabólica, podendo ter papel decisivo na no retardo da progressão do câncer através da inibição da proliferação de células tumorais (BORIN *et al.*, 2016), além de participar na regulação de genes envolvidos em vias de reparo do DNA, apresentando papel decisivo sobre o ciclo celular e desempenhando papel protetor no desenvolvimento de neoplasias (LIU *et al.*, 2013).

Entretanto, os efeitos supressores da melatonina sobre tecidos tumorais parecem depender de fatores relacionados ao fotoperíodo (FISHER, 2009). Esta informação corrobora com o fato de que a simples presença de melatonina nos tecidos biológicos não é suficiente para conter as consequências das transformações genéticas e metabólicas apresentadas pelas células que estão envolvidas no processo de transformação neoplásica, se não vier acompanhada de outros sinais concorrentes, derivados do envolvimento orquestrado de outros tecidos, ritmicamente sincronizados, como acreditamos que tenha ocorrido nos grupos onde os animais foram sham pinealectomizados tratados com estrógeno e melatonina.

Por outro lado, estudos revelam que o estrógeno pode interagir com diferentes domínios do tecido mamário afetando mecanismos que controlam o ciclo celular (RUSSO & RUSSO, 2006). Evidências mais diretas assinalam que o estrógeno interfere na expressão do gene bcl-2, que controla o processo de apoptose em células neoplásicas, sendo este processo relativamente defasado tardiamente, favorecendo ao crescimento da massa tumoral (SUH *et al.*, 2003).

De qualquer forma, os animais do grupo D desenvolveram o tumor de Ehrlich, o que significa que a produção natural de melatonina pela pineal não foi suficiente para prevenir o desenvolvimento do tumor de Ehrlich neste grupo experimental.

Numa tentativa de melhor compreender o processo de crescimento tumoral em cada condição de tratamento, procurou-se obter a derivada primeira em relação às respectivas funções que descreviam a variação de crescimento tumoral ao longo do tempo. Verificou-se, portanto, que a função derivada era do tipo $y' = a/x$ onde y' representava a variação infinitesimal do volume do tumor de Ehrlich ao longo do tempo (cm^3/dia^2), “a” o coeficiente angular (cm^3/dia), e “x” o tempo (dias).

Aqui é importante ressaltar que a variação infinitesimal do crescimento tumoral, que expressa à rapidez com que o tumor modifica o seu volume, ou melhor, dizendo, reduz a taxa de crescimento da massa tumoral, está genuinamente associada às características cinéticas da célula neoplásica em resposta à sinalização disponível no contexto endógeno em que o tumor se desenvolve. Sendo esta taxa infinitesimal

fundamentalmente dependente do tempo verificou-se que a cada momento o tumor apresentava uma taxa de crescimento cada vez menor. Pode-se dizer que o tumor de Ehrlich, nos nossos experimentos, apresentou fases distintas de desenvolvimento, bem provavelmente, de acordo com as transformações genéticas e os novos desafios metabólicos a serem vencidos.

Com o aumento do número de células cancerígenas numa massa tumoral, aumenta-se de sobremaneira a competitividade por nutrientes e por oxigênio, onde as etapas subsequentes de crescimento vão depender da disponibilidade e da qualidade da rede circulatória construída para atender as demandas do tecido tumoral. Como resposta a estas condições, geralmente identificam-se uma população variada em termos de células neoplásicas e suas respectivas fases no ciclo celular, como um aumento na quantidade de células mortas.

Na tabela 3 podem ser visualizados os valores da derivada primeira obtidos para cada condição de tratamento, em dois momentos temporais distintos: um no primeiro dia de monitoramento do crescimento tumoral, e outro ao 12º dia. A diferença entre as derivadas neste intervalo foi obtida, efetuando-se uma razão entre as respectivas diferenças para cada tratamento em relação ao tempo de 11 dias de monitoramento do crescimento do tumor de Ehrlich em cada caso. Este parâmetro, assim construído, caracterizaria o que poderíamos denominar de taxa de desaceleração média de crescimento tumoral - TDMCT.

Grupo	1º dia	12º dia	Diferença	TDMCT (cm ³ /dia ²)	Valor de t
A	7,303±1,822	0,608±0,152	-6,694±1,829	0,609±0,152	1,595
B	5,775±1,390	0,481±0,116	-5,294±1,395	0,481±0,116	0,992
C	10,062±2,242	0,839±0,187	-9,224±2,249	0,839±0,187	2,528*
D	6,453±0,841	0,538±0,070	-5,916±0,844	0,538±0,070	2,448*
E	7,210±1,515	0,601±0,126	-6,609±1,521	0,601±0,126	1,858*
F	5,612±1,795	0,468±0,150	-5,144±1,801	0,468±0,150	0,678
G	4,396±0,960	0,366±0,080	-4,029±0,963	0,366±0,080	-

Tabela 3. Taxa de variação infinitesimal do volume do tumor em função do tempo, avaliada em dois momentos distintos do desenvolvimento do tumor de Ehrlich conforme o tipo de tratamento aplicado em cada grupo experimental. Taxa de desaceleração média de crescimento tumoral – TDMCT.

A- Pinealectomizado tratado com estrógeno e melatonina. B- Sham-pinealectomizado tratado com estrógeno e melatonina. C- Pinealectomizado tratado com estrógeno. D- Sham-pinealectomizado tratado com estrógeno. E- Pinealectomizado tratado com o veículo do estrógeno. F- Sham-pinealectomizado tratado com o veículo do estrógeno. G- Controle. Teste t de Student. * Diferença significativa em relação ao controle, para um valor de p < 0,05 (Valor crítico t = 1,761 para 14gL).

Assim, verificou-se uma diferença significativa entre os grupos C, D e E em relação ao grupo controle, que em outras palavras significa que animais tratados somente com estrógeno, independentemente de serem eles pinealectomizados ou

não, apresentaram uma TDMCT significativa em relação ao grupo controle, embora o efeito do estrógeno em animais pinealectomizados foi mais pronunciado do que em animais sham pinealectomizados, para um valor de $p < 0,05$. Esta resposta pronunciada de desaceleração observada nos animais do grupo C talvez esteja relacionada com mudanças na sensibilidade do tumor quanto à presença de estrógeno, na medida em que o tumor de Ehrlich atingia um tamanho crítico, como, de certa forma, foi também assinalado por Geraldine; Gartner; Shmitt (2000).

Também é interessante chamar a atenção para o fato de que a TDMCT obtida para os animais do grupo A não diferiu estatisticamente em relação à obtida para os animais do grupo controle, nem tão pouco em relação aos animais do grupo B, para um valor de $p < 0,05$. Nestes grupos a taxa de desaceleração foi a mesma, significando que a contribuição da melatonina endógena, oriunda da atividade da glândula pineal não afetou este mecanismo, uma vez que a presença de pinealectomia foi indiferente quanto a este tipo de resultado, muito embora na ausência de melatonina exógena a pinealectomia em presença de estrógeno tenha proporcionado aumento na TMDCT.

Trabalhos têm assinalado que melatonina pode proporcionar um efeito antiproliferativo sobre células cancerígenas (SRINIVASAN *et al.*, 2008), principalmente em decorrência de seu possível efeito protetor contra danos oxidativos induzidos por radicais livres, geralmente presentes no entorno de tecidos neoplásicos em expansão, bem provavelmente, afetando sistemas enzimáticos que controlam ações antioxidantes, em especial a redução dos níveis de peroxidação lipídica (AKCAY; YALCIN; SOZMEN, 2005).

Curiosamente, os animais tratados com o veículo para o estrógeno também apresentaram uma TDMCT maior em relação aos animais do grupo controle, para um valor de $p < 0,05$. Como já foi dito acima, esta resposta pode estar associada à presença de substratos ativos na composição lipídica do óleo de amendoim proporcionando ações moleculares importantes sobre o desenvolvimento do tumor de Ehrlich.

Em linhas gerais pode-se dizer que a desorganização nos mecanismos de temporização endógenos resultante da retirada da pineal, parecem diminuir a competência do organismo em controlar melhor os sinais bioquímicos trocados entre os diferentes tecidos (MENNA-BARRETO & WEY, 2007), criando padrões de sinalização temporal que venham a favorecer o desenvolvimento do próprio tumor.

Como complemento da avaliação do desenvolvimento do tumor de Ehrlich nas diferentes condições de tratamento acima sugeridas, avaliou-se também as configurações macroscópicas do tecido tumoral obtido no final dos experimentos, determinando-se em cada caso o percentual de inibição tumoral, cujos dados podem ser visualizados na figura 2.

Na figura 2, a partir da avaliação do percentual de inibição tumoral (I%) verificou-se que animais pinealectomizados tratados com estrógeno mais melatonina apresentaram crescimento do tumor em 34,67% (Grupo A), embora em animais sham pinealectomizados, sob mesma condição de tratamento, tenha-se obtido um valor de I% = 38,47%, sugerindo que a presença de melatonina endógena decorrente da participação da atividade da glândula pineal e os sinais bioquímicos decorrentes da sincronização metabólica controlaram melhor o desenvolvimento do tumor de Ehrlich. No grupo C, onde os animais pinealectomizados recebiam estrógeno, exibiram um crescimento da massa tumoral equivalente a 65,22%, enquanto que no grupo de animais sham pinealectomizados tratados com estrógeno (Grupo D) não foi observada massa de tumor significativa que denotasse inibição ou crescimento tumoral, assim como nos grupos E e F de tratamentos.

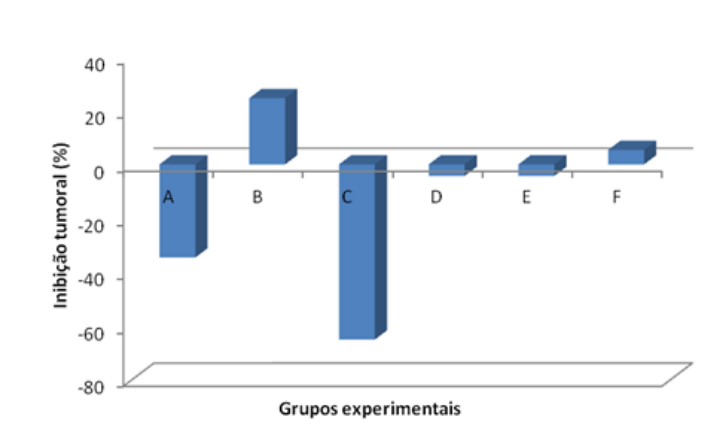


Figura 2. Inibição do crescimento do tumor de Ehrlich. A- Pinealectomizado tratado com estrógeno e melatonina. B- Sham-pinealectomizado tratado com estrógeno e melatonina. C- Pinealectomizado tratado com estrógeno. D- Sham-pinealectomizado tratado com estrógeno. E- Pinealectomizado tratado com o veículo do estrógeno. F- Sham-pinealectomizado tratado com o veículo do estrógeno.

Os resultados obtidos neste trabalho corroboram com estudos que mostram que o estradiol apresenta efeito proliferativo no parênquima mamário (TORRES *et al.*, 2011) conduzindo-o a uma condição de desempenho máximo (NAIR *et al.*, 2010), a partir da sua interação sobre vários sítios de atividade celular, em especial a sua ligação a receptores intracelulares que modulam a expressão de genes especiais e, conseqüentemente, a síntese de proteínas específicas que atuam em vários domínios do ciclo celular (SCHMIDT, 2000).

Quanto aos efeitos da melatonina, resultados semelhantes aos nossos achados podem ser visualizados em Martinez-Campa (2005), em que a melatonina preveniu a promoção e o crescimento de tumores mamários espontâneos ou induzidos quimicamente em roedores. Alguns trabalhos também sugerem que a melatonina possa exercer efeitos protetores contra o crescimento neoplásico pela inibição da atividade da enzima aromatase, geralmente envolvida na conversão de substratos

androgênicos em estrogênios (COS *et al.*, 2006). Em células de câncer de mama, a melatonina pode suprimir a proliferação induzida por estrogênio, através da inibição da atividade transcricional dos receptores de estrogênio α (ER α) (ALVAREZ-GARCIA *et al.*, 2013).

4 | CONCLUSÃO

Diante dos resultados encontrados no presente estudo, pode-se concluir que o estrogênio e a melatonina interferem nos mecanismos regulatórios dos processos de crescimento do carcinoma mamário. O estrogênio exógeno atua como promotor do crescimento tumoral e a melatonina inibe o crescimento do tumor de Ehrlich sólido. A melatonina exógena reduz o crescimento tumoral mesmo em animais tratados com estrogênio, sendo de fundamental importância no tratamento de tumores estrogênio-dependentes.

REFERÊNCIAS

- AKCAY, Y. D.; YALCIN, A.; SOZMEN, E.Y. The effect of melatonin on lipid peroxidation and nitrite/nitrate levels, and on superoxide dismutase and catalase activities in kainic acid-induced injury. **Cell Mol Biol Lett**, v. 10, p. 321-329, 2005.
- ALI, A. H.; EI-DOMEIRI; GUPTA T. K. D. Reversal by Melatonin of the Effect of Pinealectomy on Tumor Growth1. **Cancer Research**, v. 33, p. 2830-2833, 1973.
- ALVAREZ-GARCIA, V. *et al.* Antiangiogenic effects of melatonin in endothelial cell cultures. **Microvasc Res**, v. 87, p. 25–33, 2013.
- BORGES, J. B. R.; TORRESAN, R. Z. Breast cancer and hormonal contraception: Should we rethink our concepts? **Rev Assoc Med Bra**, v. 64, n. 3, p. 201-203, 2018.
- BORIN, T. F. *et al.* Melatonin decreases breast cancer metastasis by modulating Rho-associated kinase protein-1 expression. **J Pineal Res**, v. 60, n. 1, p. 3-15, 2016.
- BOURSOT, C. *et al.* Segmentation automatique du volume tumoral des cancers pulmonaires non à petites cellules sur la 18F-FDG TEP-TDM en vue d'un traitement par radiothérapie. **Médecine Nucléaire**, v. 33, p. 440–449, 2009.
- DAGLI, M.L.Z. **Disseminação linfática do tumor de Ehrlich: Estudo experimental.** 1989. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária e Zootecnia) - Universidade de São Paulo, São Paulo, 1989.
- Instituto Nacional do Câncer José Alencar Gomes da Silva. Coordenação de Prevenção e Vigilância. Estimativa 2014: Incidência de Câncer no Brasil. [Internet]. Rio de Janeiro: INCA; 2014.
- KABEL, A. M., *et al.* Effect of atorvastatin and methotrexate on solid Ehrlich tumor. **Eur J Pharmacol**, v. 713, p. 47-53, 2013.
- LEI, J.T. *et al.* ESR1 alterations and metastasis in estrogen receptor positive breast cancer. **J Cancer Metastasis Treat**, v. 5, n. 38, 2019.
- LIU, R.; FU, A. *et al.* Melatonin enhances DNA repair capacity possibly by affecting genes involved in

DNA damage responsive pathways. **BMC Cell Biol**, v. 14, n. 1, 2013.

MARTINEZ-CAMPA, C. et al. Melatonin enhances the inhibitory effect of aminoglutethimide on aromatase activity in MCF-7 human breast cancer cells. **Breast Cancer Research and Treatment**, v. 94, n. 3, p. 249-254, 2005.

MENNA BARRETO, L.; WEY, D. Ontogênese do sistema de temporização – a construção e as reformas dos ritmos biológicos ao longo da vida humana. **Psicologia USP**, v. 18, n. 2, p. 133-153, 2007.

MORCH, L. S. et al. Contemporary Hormonal Contraception and the Risk of Breast Cancer. **N Engl J Med**, v. 377, p. 2228-2239, 2017.

NAIR, R. et al. Redefining the expression and function of the inhibitor of differentiation 1 in mammary gland development. **PLoS One**, v. 5, n. 8, p. 11947, 2010.

PRATA-LIMA, M. F.; BARACAT, E. C.; SIMÕES, M. J. Effects of melatonina on the ovarian response to pinealectomy or continuous light in female rats: similarity with polycystic ovary syndrome. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 37, p. 987-995, 2004.

QURESHI, S. et al. Boric acid enhances *in vivo* Ehrlich ascites carcinoma cell proliferation in Swiss albino mice. **Toxicology**, v. 165, p.1–11, 2001.

REDINS, G. M.; REDINS, C. A.; NOVAES, J. C. The effect of treatment with melatonin upon the ultrastructure of the mouse pineal gland: a quantitative study. **Brazilian Journal Biology**, v. 61, n. 4, p. 679-684, 2000.

RUSSO, J.; RUSSO, I. H. The role of estrogen in the initiation of breast cancer. **Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology**, v. 102, p. 89-96, 2006.

SALAZAR, M. J. B. et al. Asociación del cáncer de mama con síndrome metabólico y estado nutricional en mujeres en Querétaro, México. **Actualización en Nutrición**, v. 17, n. 4, p. 102-108, 2016.

SCHMIDT, B. M. et al. Rapid, nongnomic steroid actions: A new age? **Frontiers Neuroendocrinology**, v. 21, n. 1, p. 57-94, 2000.

SOUSA, E. L. et al. Antitumor activity of leaves of *Himatanthus drasticus* (Mart.) Plumel-Apocynaceae (Janaguba) in the treatment of Sarcoma 180 tumor. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 46, n. 2, 2010.

SUH, K. S. et al. Soybean inhibit tumor necrosis factor α -induced apoptosis and the production of interleukin-6 and prostaglandin E2 in osteoblastic cells. **Phytochemistry Reviews**, v. 63, p. 209-215, 2003.

SRINIVASAN, V. et al. Melatonin, environmental light, and breast cancer. **Breast Cancer Research and Treatment**, v. 108, p. 339-350, 2008.

SU, S. C. et al. Cancer metastasis: Mechanisms of inhibition by melatonin. **J Pineal Res**, v. 62, n. 1, p. e12370, 2017.

TORRES, S. M. P. S. et al. Histomorfometria da mama de ratas tratadas com estrogênio e/ou progesteragênio. **Revista da Associação Médica Brasileira**, v. 57, n. 2, p. 177-181, 2011.

VICELLI, T. J.; GURGEL, M. S. C.; ALVARENGA, M. Histologia mamária após o uso de esteroides sexuais – estudo em ratas. **Revista da Associação Médica Brasileira**, v. 52, n. 5, p. 369-374, 2006.

ÍNDICE REMISSIVO

ELEMENTO QUÍMICO

1,25-dihidroxitamina-D3-glicosídeo 39, 41, 45, 46, 47

A

Alimentação animal 83, 84, 93

Alimentação de bovinos 83, 84, 88, 89

Anatomia animal 23, 25

Avaliação da qualidade 48, 61, 63

B

Bovinos 60, 83, 84, 85, 86, 87, 88, 89, 90, 91, 92, 93

Bovinos de corte 83, 89

C

Camundongos swiss 10, 11

Características ósseas 39, 47, 48

Caracterização fenotípica 51

Carne moída 61, 62, 63, 65, 66, 67, 69, 73, 74, 75, 76, 78, 79, 80, 81, 82

Codornas japonesas 39, 41, 44, 45, 46, 47

Colágeno 39, 41

Colecalciferol 39, 40, 41, 44

Composição genética 51

Contaminação 25, 62, 69, 70, 74, 75, 77, 79, 85

D

Desenvolvimento biopsicossocial 1, 2

Deteção 38, 62, 63, 67, 72, 76, 79, 82

Deterioração 24, 62, 63, 64, 78

Digestibilidade 83, 84, 87, 88, 89, 90, 92

E

Ensilagem 84, 85, 88, 91, 92

Equoterapia 1, 2, 3, 4, 5, 6, 9

Estrógeno 10, 11, 12, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20

F

Fenótipo 51, 53

Formaldeído 23, 24, 25, 27, 38

G

Glicerina loira 23, 24, 26, 29, 36, 37, 38

Grão úmido de milho 83, 85, 87, 88, 89, 90, 91, 92

Grupo genético 51, 53, 54, 55, 56, 59

I

Interdisciplinar 1, 2, 81

M

Melatonina 10, 11, 12, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21

Melhoramento animal 51

P

Patógenos 61, 62, 67, 75

Peças anatômicas 23, 25, 37, 38

Pinelectomia 10, 12, 14, 15, 18

Postura 3, 9, 39, 41, 46, 47, 49

Proteína óssea 39

R

Raça girolando 51

S

Silagem 83, 84, 85, 86, 87, 88, 89, 90, 91, 92, 93

Sobrevida 10, 11, 13

T

Terapia 1, 2, 4, 5, 6, 11, 80

Tumor 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21

V

Volatilização 24, 27, 28, 35, 36, 37, 38

