



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO ACADÊMICO DE VITÓRIA
LICENCIATURA EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS**

RICARDO SÉRGIO DA SILVA

**HISTOMORFOMETRIA TEGUMENTAR DE RATAS WISTAR
OOFORECTOMIZADAS**

VITÓRIA DE SANTO ANTÃO

2015

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO ACADÊMICO DE VITÓRIA
CURSO DE LICENCIATURA EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
NÚCLEO DE BIOLOGIA

RICARDO SÉRGIO DA SILVA

HISTOMORFOMETRIA TEGUMENTAR DE RATAS WISTAR
OOFORRECTOMIZADAS

Trabalho de Conclusão de Curso – TCC
apresentado ao Curso de Graduação em Ciências
Biológicas da Universidade Federal de
Pernambuco, Centro Acadêmico como requisito
para obtenção do título de licenciado em Ciências
Biológicas.

Orientadora: Katharine Raquel Pereira dos Santos

VITÓRIA DE SANTO ANTÃO

2015

Catálogo na Fonte
Sistema de Bibliotecas da UFPE. Biblioteca Setorial do CAV.
Bibliotecária Jaciane Freire Santana, CRB-4: 2018

S586h Silva, Ricardo Sérgio da.
Histomorfometria tegumentar de ratas wistar ooforectomizadas / Ricardo Sérgio da Silva. – Vitória de Santo Antão: O Autor, 2015.
42 folhas: il.

Orientadora: Katharine Raquel Pereira dos Santos
TCC (Licenciatura em Ciências Biológicas) – Universidade Federal de Pernambuco, CAV. Licenciatura em Ciências Biológicas, 2015.
Inclui bibliografia e anexos.

1. Pele – ratos. 2. Hormônios – ratos. 3. Ooforectomia. 4. Morfologia Animal.
I. Santos, Katharine Raquel Pereira dos (Orientadora). II. Título.

571.3 CDD (23.ed.)

BIBCAV/UFPE-036/2016

RICARDO SÉRGIO DA SILVA

**HISTOMORFOMETRIA TEGUMENTAR DE RATAS WISTAR
OOFORECTOMIZADAS**

Trabalho de Conclusão de Curso – TCC
apresentado ao Curso de Graduação em Ciências
Biológicas da Universidade Federal de
Pernambuco, Centro Acadêmico de Vitória como
requisito para obtenção do título de licenciado em
Licenciatura em Ciências Biológicas.

Aprovado em: 09 / 12 / 2015.

BANCA EXAMINADORA

Prof^ª. Dra. Katharine Raquel Pereira dos Santos (Orientadora)
Universidade Federal de Pernambuco-CAV/UFPE
Núcleo de Biologia - CAV/UFPE

Prof^ª. Dra. Glaucia Maria Lopes Reis (Examinador interno)
Universidade Federal de Pernambuco - CAV/UFPE
Núcleo de Nutrição

Prof^ª. Msc. Wanessa Botelho Marques Cabral (Examinador externo)
Técnica de Projeto- CAV/UFPE
Mestre em Saúde Humana e Meio Ambiente - CAV/UFPE

À meus amados pais Cícero Sérgio e Jacicleide Marcionila por acreditar sempre em mim, proporcionando forças e motivação para construção de tal conquista.
Amo vocês!

AGRADECIMENTOS

Ao imenso e ilustríssimo Deus por estar sempre presente diante aos obstáculos e dificuldades, concedendo-me forças para continuar.

Aos meus pais Cícero Sérgio da Silva e Jacicleide Marcionila da Silva pela paciência diante aos estresses diários, compreensão nos momentos de ausência e credibilidade constante.

À minha tia Joana Sibaldina (in memoriam) pelos ensinamentos e motivação dispostos.

Aos familiares e amigos, em especial a André Santos, Edson Francisco e Samuel Lima por seguir comigo este caminho, incentivando-me e acreditando em minha capacidade de superação.

À minha orientadora Katharine Santos pelos ensinamentos, conselhos e grande contribuição para com minha formação.

À querida colega de laboratório Simone Ferreira, pela grande contribuição para com nossos dados se mostrando sempre disposta a ajudar no que preciso fosse.

Ao meu amigo e Professor Dr. Ronaldo Celerino, pelo exemplo de competência, humildade e profissionalismo na qual me representa, assim como, pelos grandes ensinamentos proporcionados.

À Angélica Kazue Uejima, profissional na qual sempre me espelharei, pela grande contribuição na minha formação e representar um grande exemplo de competência e justiça.

Aos amigos de laboratório: Erivaldo Alves Nivaldo Bernardo, Ketsia Sabrina, Fabricya Roberta, Juliana Arandas, pelos momentos de descontração, palavras de consolo nos momentos difíceis de minha formação e por terem me recebido muito bem no laboratório, sempre acrescentando de modo significativo suas contribuições em meus trabalhos.

À Eveline Alves, por acreditar em minha capacidade intelectual e sempre demonstrar meios de se alcançar resultados mais satisfatórios.

À querida Dayane Freitas, por seguir uma parte desta jornada ao meu lado tornando os fardos mais leves e me fazendo persistir neste sonho.

Ao Professor e colaborador Dr. Francisco Amanajás, por sempre está disposto a contribuir em meus estudos e por seu exemplo de competência, profissionalismo e determinação.

Ao técnico do laboratório, Rafael por está sempre disposto a ajudar e implementar indiretamente suas contribuições.

Ao meu sobrinho, Arthur Gabriel, por me transmitir paz, alegria e refletir a imagem do criador, descontraindo e tornando os fardos mais leves em momentos de aflição.

Ao grande amigo Leandro Bezerra pelos ensinamentos, incentivo e ajuda no momento crítico do curso.

Ao amigo Júnior Albuquerque, pelo incentivo e grande contribuição para tal conquista.

Ao professor e amigo Wellinton Silva pelos ensinamentos, confiança e incentivo.

Aos animais em experimentação (*Rattus norvegicus*) utilizados neste estudo, sendo fundamentais e precisos na realização deste.

À Universidade Federal de Pernambuco-CAV pelo apoio e oportunidade de desenvolvimento deste estudo.

Ao CNPq pela oportunidade, apoio e incentivo para realização desta pesquisa.

À banca de avaliadores, que aceitaram com grande entusiasmo avaliar este trabalho e desta forma contribuíram significativamente para conclusão do mesmo.

À todos os professores desta instituição pelos grandes ensinamentos e contribuições para com minha formação.

Você ganha força, coragem e confiança através de cada experiência em que você realmente para e encara o medo de frente.

(Eleanor Roosevelt)

RESUMO

A pele é o maior órgão do corpo humano, o que a torna um fator cronológico de nossa idade. Dentre os hormônios que influenciam o tegumento temos o estrógeno, o qual possui vários efeitos sobre o mesmo, sendo um deles a diminuição de sua elasticidade devido ao baixo nível de hormônios. A ooforectomia bilateral trata-se de um procedimento cirúrgico que reduz de forma abrupta os níveis séricos de estrógeno no organismo e é utilizada como modelo cirúrgico de indução de menopausa. Diante do exposto o estudo objetivou analisar os componentes microanatômicos da pele de ratas ooforectomizadas. Foram utilizadas 20 ratas adultas, da linhagem Wistar, pesando cerca de 300g, oriundas do Biotério da Universidade Federal de Pernambuco. Os animais foram aleatoriamente divididos em dois grupos, grupo I (Sham-ooforectomia) e grupo II (Ooforectomia). Os resultados demonstraram que o grupo II apresentou-se com uma maior espessura total da pele, uma maior espessura das camadas da epiderme e maior percentual de fibroblastos e fibras colágenas em relação ao grupo I. Assim conclui-se que ambos os grupos apresentaram todas as células da linhagem tegumentar, entretanto o grupo I apresentou-se com uma menor espessura da pele, camadas da epiderme e percentual de fibras colágenas e fibroblastos quando relacionado com o grupo II demonstrando assim que além do estrógeno outros hormônios e fatores também podem exercer influência sobre o tegumento.

Palavras chave: Pele. Hormônios. Ooforectomia.

ABSTRACT

The skin is the largest organ in the body, which makes it a chronological factor of our age. And among the hormones that influence the integument we have the estrogen, which unleashes several effects on it, as the reduction of its elasticity due to the case of low levels of hormones. As to the bilateral oophorectomy, it causes an abrupt reduction of serum estrogen levels and is used as a surgical model for menopause induction. Thus, the study aimed to analyze the micro anatomical components of the skin of oophorectomized rats. 19 adult female rats, Wistar lineage, were used, weighing about 300g, coming from the UFPE vivarium. This study was a case-control one, and the animals were divided into two groups. The results showed that Group I presented a greater total thickness of the skin, an increased thickness of the layers of the epidermis and a higher percentage of fibroblasts and collagen fibers in relation to group II, thus it is concluded that both groups presented all cells of tegumentary lineage, however the group II presented a smaller thickness of the skin, layers of the epidermis and percentage of collagen fibers and fibroblasts, implying that, in addition to estrogen, other hormones also can exert influence on the integument.

Keywords: Skin. Hormones. Oophorectomy.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

- FIGURA 1 – Fotomicrografia da pele de ratas do grupo II (Ooforectomia-região ventral) e Fotomicrografia do tegumento de ratas do grupo I (Sham-ooforectomia-região dorsal) . 22
- TABELA 1- Média e desvio padrão da espessura (μm) total das camadas da região dorsal do tegumento de ratas. 23
- TABELA 2: Média E Desvio Padrão Da Espessura (μm) Das Camadas Da Epiderme Das Regiões Dorsal E Ventral Dos Grupos. 23
- TABELA 3: Quantificação dos fibroblastos por área (mm^2), ocupada por fibras colágenas(mm^2) da região dorsal dos grupos grupo I e grupo II. 24

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

CAV - Centro Acadêmico de Vitória

Fig. - Figura

H.E. - Hematoxilina-eosina

SPSS - Statistical Package for the Social Sciences

NBF- Formol neutro tamponado

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	12
2 REVISÃO DE LITERATURA	14
3 OBJETIVOS	16
3.1 Geral.....	16
3.2 Específicos	16
4 ARTIGO.....	17
5 CONCLUSÃO	30
REFERÊNCIAS.....	31
ANEXO.....	34

1 INTRODUÇÃO

A menopausa precoce caracteriza a passagem do estágio reprodutivo para o não reprodutivo da vida da mulher. Nesta inesperada etapa ocorre a exaustão progressiva dos folículos ovarianos o que resulta em alterações no eixo hipotalâmico-hipofisário-gonadal. Estas modificações desencadeiam a redução da quantidade de hormônios estrogênicos que por sua vez aumentam a produção do hormônio folículo estimulante (FSH) no organismo. Este aumento dos níveis de FSH irá manter a produção de folículos, entretanto de má qualidade, todavia, estes processos irão resultar em uma maturação folicular irregular (MOREIRA) trazendo assim modificações quando relacionados com os processos ocorridos normalmente.

Contudo, os mecanismos que levam o organismo a entrar em menopausa precoce ainda não foram completamente esclarecidos (CAVADAS; PINHEIRO; SILVA, 2001). Porém, estudos indicam que seu aparecimento se dá em consequência de doenças auto imune, alterações genéticas, medicação, irradiação ou cirurgias, estando ainda relacionada com o nível de hormônios estrogênicos presente no organismo. Isto porque estrógenos são hormônios monofenólicos que exercem numerosas atividades bem documentadas em todo o organismo (WILLIANS et. al, 1996). Sabe-se que a especificidade do estrógeno é determinada pelo domínio de ligação entre um receptor, e uma molécula ligante, todavia, o modo pelo qual seus mecanismos de ação atuam ainda não estão relativamente claros.

Geralmente para menopausa precoce é indicada a ooforectomia bilateral que trata-se de um procedimento cirúrgico no qual remove-se o ovário e conseqüentemente serão reduzidos os níveis séricos de estrógenos sobre o organismo. Esta redução dos níveis de estrógeno no organismo desencadeiam um desequilíbrio no mesmo que resulta em lesões na pele, devido a diminuição do mecanismo natural de defesa antioxidante (WILLIANS et. al, 1996). E origina complicações sistêmicas de difícil controle, que geralmente levam ao desenvolvimento de distúrbios endócrinos e funcionais, como: disfunção sexual, perda da libido, níveis alterados de lipoproteínas, maior risco de osteoporose, de doenças cardíacas e perda da elasticidade da pele. Esta diminuição da concentração de estrógenos no organismo deflagra, também, implicações graves como complicações cardiovasculares, cerebrais, cutâneas, geniturinárias.

As diminuição da quantidade de hormônios estrogênicos no organismo pode desencadear ainda a diminuição do brilho natural da pele e uma redistribuição de gordura corporal, dando um aspecto masculino ao corpo da fêmea (STEINER, *et al.*, 2009) isto porque as características da pele são determinadas pela atuação dos estrógenos e andrógenos. Na pele, ainda, pode ser observada algumas alterações em sua pigmentação, com a presença de manchas hipocrômicas e hiperocrômicas desencadeando uma redução da espessura da pele afetando de forma negativa a função de barreira cutânea.

Tais alterações impostas ao tegumento pela redução abrupta do nível de estrógeno no organismo causam prejuízos à qualidade de vida da mulher (TERAUCHI, 2013) , fazendo-se indispensáveis estudos que abordem de maneira específica as mudanças funcionais que ocorrem no organismo feminino com o avançar da idade.

Diante do exposto o estudo em questão objetiva analisar histomorfometricamente o tegumento de ratas da linhagem wistar buscando investigar a ação dos hormônios sobre o tegumento.

2 REVISÃO DE LITERATURA

A menopausa precoce é caracterizada pela transição do estágio reprodutivo para o não reprodutivo na vida da mulher (CATÃO, 2008) e apresenta uma série de eventos endócrinos e funcionais que levam a queixas e sintomas que variam de intensidade e diversidade em consequência das alterações ovarianas com redução abrupta do nível de hormônios (BRASIL, 2008). Até o momento não há estudos que elucidam especificamente o desencadear deste fato, entretanto, sabe-se que uma alimentação desequilibrada e hábitos de vida completamente desregulados contribuem para o desenvolvimento da menopausa precoce (NETTO, 2002).

A ooforectomia é o procedimento que desencadeia a menopausa precoce e costuma ser oferecido juntamente a histerectomia intra-abdominal como forma de prevenir o câncer de ovário, e pode também ser oferecida como tratamento para dor pélvica crônica, e endometriose somática (AVERETTE, 1994; NAMNOUM 1995) e como solução para muitas complicações no organismo e por isto o número de ooforectomias nos últimos anos vem crescendo significativamente (WHITEMAN, 2008; LEPINE, 1997). Com a redução abrupta dos níveis de estrógeno no organismo complicações sistêmicas de difícil controle são desencadeadas, uma vez que a deficiência estrogênica acarreta em distúrbios endócrinos e funcionais, tais como disfunção sexual, perda da libido, níveis alterados de lipoproteínas, maior risco de osteoporose e doenças cardíacas e perda da elasticidade da pele (ADAM *et al.*, 1981).

A redução dos níveis de hormônios estrogênicos no organismo pode ocasionar danos ao estado psicológico da mulher pressupondo-a irritabilidade e depressão. Uma vez que o estrógeno está associado a sentimentos de baixa auto-estima. O estrógeno exerce influência também no equilíbrio entre as gorduras no sangue, tais como, no colesterol e triglicérides. Enquanto durante a menopausa as mulheres possuem uma maior chance de serem acometidas por arteriosclerose e suas consequências, tais como ataques cardíacos e doenças cardiovasculares. Os hormônios estrogênicos são responsáveis também pela fixação do cálcio nos ossos e como após a menopausa grande parte das mulheres começam a perder o cálcio nos ossos, desencadeiam a osteoporose, que resulta em fraturas, o que leva a grande perda na qualidade de vida.

Embora seja um fenômeno fisiológico, a diminuição da produção de estrógenos no organismo devido ao esgotamento dos folículos ovarianos, pode trazer diversos malefícios para a via da mulher (TERAUCHI *et al.*, 2013). Em consequência do avançar da idade, geralmente a partir dos 40 anos ocorre uma redução do nível de destes hormônios assim como a redução do número de fibras colágenas tornando a pele feminina mais fina e sensível (BATISTELA *et al.*, 2007).

A diminuição dos níveis de hormônios estrogênicos no organismo acarreta em diminuição da espessura da pele, assim como, influencia numa diminuição do brilho natural da mesma e uma má redistribuição de gordura corporal, dando um aspecto masculino ao corpo da fêmea (STEINER *et al.*, 2009). Isto porque o processo de envelhecimento da pele é relacionado com a desorganização do mecanismo de defesa antioxidante, pois quando a capacidade antioxidante natural é diminuída, ocorre um desequilíbrio no organismo provocando assim lesões na pele e diminuição de sua espessura (BUCHLI, 2002). Isto ocorre porque as características da pele são determinadas pela atuação dos estrógenos e andrógenos (WILLIANS *et al.*, 1996). Hill (1988) e Seidenari *et al.* (2000) relatam que para se estudar os mecanismos envolvidos no envelhecimento, é necessário entender melhor as mudanças funcionais que ocorrem com o avançar da idade, sabendo distinguir as alterações entre os processos intrínsecos e efeitos patológicos, porque por mais que se saiba que o mecanismo de ação do estrógeno envolve uma interação entre a molécula ligante e um receptor, os mecanismos pelos quais este atua ainda não está relativamente claro (COMPSTON, 2001).

Estas alterações decorrentes da deficiência de hormônios esteróides revelam características sobre a fisiologia cutânea de ratas ooforectomizadas, oferecendo assim subsídios para maior compreensão dos efeitos destes hormônios sobre o tegumento (BRINCAT; GALEA, 1999).

Desta forma é importante estudar a qualidade de vida e o bem estar das mulheres decorrentes dos mecanismos que ocorrem na menopausa, pois a sua importância ainda é pouco explorada. Diante disso, esse estudo experimental objetivou analisar histomorfometricamente o tegumento de ratas da linhagem wistar buscando investigar a ação dos hormônios estrogênicos sobre o tegumento.

3 OBJETIVOS

3.1 Geral

Analisar histomorfometricamente o tegumento de ratas wistar ooforectomizadas.

3.2 Específicos

- ✓ Caracterizar histologicamente a epiderme e a derme das regiões dorsal e ventral do grupo I (Sham-ooforectomia) e grupo II (Ooforectomia) .
- ✓ Descrever histomorfometria da epiderme e da derme dorsal e ventral do grupo I (Sham- ooforectomia) e grupo II (Ooforectomia)
- ✓ Comparar as variáveis histomorfométricas entre as regiões dorsal e ventral e os grupos experimentais.

4 ARTIGO

O trabalho está apresentado no formato de artigo requerido pela revista **Ciência Animal Brasileira**, cujas normas para submissão de artigos se encontram em anexo.

HISTOMORFOMETRIA TEGUMENTAR DE RATAS WISTAR OOFORECTOMIZADAS

RESUMO

A pele é o maior órgão do corpo humano, no qual é responsável por diversas funções. Este órgão é formado por duas camadas: a epiderme e a derme. Dentre os hormônios que influenciam a pele, temos o estrógeno que desencadeia efeitos sobre o mesmo como a diminuição da perda de água e do fluxo sanguíneo. Já a ooforectomia causa uma redução dos níveis séricos de estrógeno no organismo. Diante disso, o estudo visa analisar a epiderme de ratas wistar submetidas à ooforectomia. Foram utilizadas 20 ratas distribuídas em dois grupos: GI (Sham ooforectomia) e GII (Ooforectomia). Para o procedimento cirúrgico, estas foram anestesiadas, na via intraperitoneal. Após a anestesia, os animais foram submetidos à ooforectomia. Após a recuperação anestésica, foram mantidos no biotério, posteriormente foram eutanasiadas e fragmentos da pele foram coletados. O material obtido foi processado e corado em Hematoxilina-eosina. As ratas de ambos os grupos apresentaram todas as camadas da epiderme. Entretanto, no grupo GII a epiderme apresentou-se mais espessa que no GI. Assim como na derme, onde foi observado também um maior percentual de fibras colágenas e fibroblastos. O que sugere a ação de outros hormônios além do estrógeno sobre fisiologia cutânea, todavia, fazem-se necessários estudos aprofundados para inferências mais precisas.

PALAVRAS - CHAVE: Ooforectomia, Tegumento; Hormônios.

ABSTRACT

HISTOMORPHOMETRY TEGUMENTARY OF RATAS WISTAR OVARIECTOMIZED

The skin is the largest organ in the body, being responsible for various functions. This organ is formed of two layers: the epidermis and the dermis. Among hormones which influence the integument, we have estrogen which triggers effects on it, as the reduction of water loss and blood flow. As to the oophorectomy, it causes a reduction in serum levels of estrogen in the body. Thus, this study aims to analyze the skin of Wistar rats submitted to oophorectomy. 19 female rats were used and they were divided into two groups: GI: and GII. For the surgical procedure, they were anesthetized in the intraperitoneal route. After anesthesia, the animals were submitted to oophorectomy. After anesthetic recovery, they were kept in a vivarium, and were subsequently euthanized and skin fragments were collected. The material collected was processed and stained with H&E. The rats of either the GI and the GII group presented all the layers of the epidermis. However, in the GI group, the epidermis

showed to be thicker than in GII. The layers of skin had become thicker also in this group, being observed higher percentage of collagen fibers and fibroblasts. These findings indicate the action of estrogen on the body and implies the action of other hormones in the cell proliferation process, however, in-depth studies are needed for more accurate inferences.

KEYWORDS: Ooforectomy, Skin, Hormones.

INTRODUÇÃO

A menopausa é caracterizada pela transição do estágio reprodutivo para o não reprodutivo da vida da mulher. Apresenta uma série de eventos endócrinos que podem levar a queixas e sintomas que variam de intensidade e diversidade em consequência das alterações ovarianas com gradativa redução do nível de hormônios ⁽¹⁾. Resultado do início da falência ovariana ⁽²⁾ a menopausa tem relação com as bases genéticas hereditárias e gera um envelhecimento biológico, que se inicia no final dos anos reprodutivos da mulher, causando uma redução abrupta do nível de estrogênios no organismo ⁽³⁾. Contudo, os mecanismos que levam o organismo a entrar em menopausa precoce ainda não foram completamente esclarecidos. Entretanto, estudos indicam que seu aparecimento se dá em consequência de doenças autoimune, alterações genéticas, medicação, irradiação ou cirurgias, estando ainda relacionada com o nível de estrógenos presente no organismo. ⁽³⁾.

Os estrógenos são hormônios monofenólicos que participam de muitos processos biológicos, por serem mensageiros químicos que respondem pela comunicação entre as células, exercendo funções como: reprodução e metabolismo ⁽⁴⁾. A especificidade do estrógeno é determinada pelo domínio de ligação na região do receptor, e a resposta do tecido depende do número de receptores e do local do corpo estudado ⁽⁵⁾.

Desta forma, sua redução no organismo ocasiona um desequilíbrio que resulta em lesões na pele ⁽⁶⁾, devido a diminuição do mecanismo natural de defesa antioxidante. ⁽⁷⁾. Originando complicações sistêmicas de difícil controle, tais como: disfunção sexual, perda da libido, níveis alterados de lipoproteínas, maior risco de osteoporose, de doenças cardíacas e perda da elasticidade da pele ⁽⁸⁾. A diminuição da concentração de estrógenos no organismo deflagra, também, implicações graves como complicações cardiovasculares, cerebrais, cutâneas, geniturinárias, ⁽⁹⁾, diminuição do brilho natural da pele e uma redistribuição de gordura corporal, uma vez que o estrógeno exerce atividades no tegumento, proporcionando um aspecto masculino ao corpo da fêmea ⁽¹⁰⁾.

Na pele, ainda, é observada algumas alterações em sua pigmentação, gerando manchas hipocrômicas, hiperocrômicas e uma menor quantidade de colágeno e fibroblastos. Essa

diminuição gera uma redução da espessura da pele, que se apresenta pálida e seca, afetando negativamente a função de barreira cutânea da pele ⁽¹¹⁾. Tais alterações impostas ao tegumento causam prejuízos à qualidade de vida da mulher ⁽¹²⁾, fazendo-se indispensáveis estudos que abordem de maneira específica as mudanças funcionais que ocorrem no organismo feminino com o avançar da idade.

Embora se tenha conhecimento de que os mecanismos de ação dos estrógenos sobre o tegumento envolvam uma interação entre uma molécula ligante e um receptor, o modo de atuação no tegumento ainda não está relativamente claro ⁽¹³⁾. Todavia, é considerável destacar que outros hormônios também podem exercer influência sobre a pele ⁽¹⁴⁾.

Desta forma, é importante lembrar que as alterações decorrentes da deficiência de hormônios esteróides revelam características sobre a fisiologia cutânea da pele de ratas ooforectomizadas, oferecendo maior compreensão dos efeitos destes hormônios sobre o tegumento ⁽¹⁵⁾. Contudo, é importante se investigar quais mecanismos de ação estão envolvidos nas modificações decorrentes da deficiência estrogênica e como estes processos ocorrem, uma vez que estudos que abordam os mecanismos envolvidos na menopausa ainda são poucos explorados. Em virtude disto, o estudo em questão buscou analisar histomorfometricamente a pele de ratas da linhagem wistar com o intuito de investigar a ação dos hormônios sobre a mesma.

MATERIAL E MÉTODOS

Animais

Foram utilizadas 20 ratas de linhagem Wistar (*Rattus norvegicus albinus*), adultas jovens, pesando entre 200g e 300g, oriundas do Biotério do Departamento de Nutrição - UFPE. Os experimentos foram realizados a partir da aprovação e liberação do Comitê de Ética em Experimentação Animal (CEEA) tendo como protocolo de submissão do comitê de ética o número : 14026638.

Os animais foram mantidos em um período de 10 dias no biotério do Centro Acadêmico de Vitória-CAV/UFPE para adaptação ao novo ambiente e durante todo protocolo experimental receberam ração e água potável *ad libitum*.

Grupos experimentais

O estudo foi do tipo caso-controle e os animais foram aleatoriamente divididos em dois grupos (cada grupo com 10 animais):

Grupo I: Sham-ooforectomia

Grupo II: Ooforectomia

Procedimento cirúrgico

Ooforectomia

Inicialmente foi administrada medicação antibiótica (Ampicilina sódica) por via intraperitoneal, 10 minutos antes da cirurgia. A ooforectomia foi realizada com os animais pertencentes ao grupo I previamente anestesiados com 0,1 ml de xilazina e quetamina para 100 gramas de peso, por via intraperitoneal. Os animais foram posicionados lateralmente para a localização dos ovários, que se encontra a distância de 1cm da coluna vertebral e 1 cm abaixo da última costela.

A tricomia manual bilateralmente e antissepsia com álcool 70% foram realizadas na região destinada à incisão. Posteriormente ocorreu divulsão dos planos adiposo e muscular subjacente para a exposição do ovário. Para ligadura utilizou-se fio de nylon após a remoção do órgão (ovário).

O material removido foi fixado em formol neutro tamponado (NBF) a 10% e processado histologicamente para confirmação da remoção bilateral dos ovários. Durante o período pós-operatório os animais foram colocados em gaiolas isoladas para a recuperação anestésica. Foi administrado dipirona 200mg/kg por via oral, em dose única. Após esse período, os animais ficaram acomodados ainda em gaiolas separados nas condições de ciclo claro/escuro 12/12h, por um período de 6 meses.

Sham-ooforectomia

Os animais do grupo II passaram pelos mesmos procedimentos cirúrgicos descritos acima, porém os mesmos não sofreram a remoção bilateral dos ovários.

Processamento do material biológico e análise microscópica

O material obtido (fragmentos de pele) foram mergulhados em solução de (NBF) 10% e permaneceu na mesma pelo período de 24 horas. Após esse procedimento, os fragmentos da pele foram desidratados em álcool etílico, diafanizados pelo xilol, impregnados e incluídos em parafina. Os blocos contendo os tecidos foram cortados obtendo-se uma espessura de 4µm.

Os cortes obtidos foram colocados em lâminas untadas com albumina e mantidos em estufa regulada a temperatura de 37°C por 24 horas para secagem. Os cortes foram submetidos à técnica de coloração pela Hematoxilina-Eosina (H.E.) e Picrosirius analisados sob microscopia de luz com lente de polarização, para a descrição histológica e realização da histomorfometria.

Análise histomorfométrica e estatística

As imagens histológicas do tegumento foram capturadas por câmera digital (Moticam 2300) acoplada ao microscópio óptico (Nikon E-200), sob foco fixo e clareza de campo, obtendo-se 20 campos fotodocumentados por lâmina com aumento final de 100X e 400X. Foram medidas através do Image J a espessura total (µm) da epiderme, da derme e da hipoderme da região dorsal. Enquanto na epiderme foram medidas as espessuras das suas camadas.

Na derme foram quantificados o número de fibroblastos e fibras colágenas (mm²). Os dados foram tabulados em planilha Excel e analisados estatisticamente através do software SPSS 1.5. As comparações entre as médias obtidas foram realizadas através do test t de student e o valor de p <0.05 foi considerado como valor mínimo de significância para todas as análises estudadas.

RESULTADOS

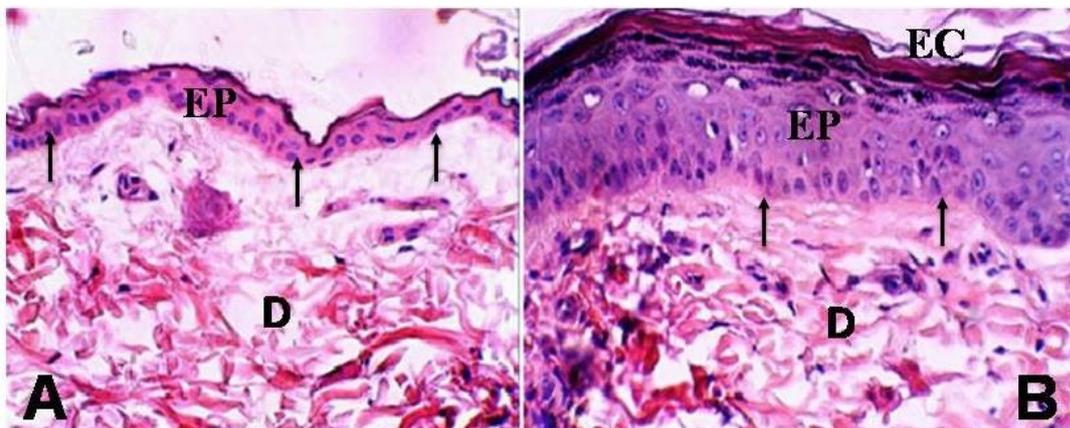
A análise histológica geral revelou que os grupos I (Sham-ooforectomia) e II (Ooforectomia) apresentaram todas as camadas da epiderme diferenciadas pela morfologia dos queratinócitos. Todavia, o grupo II apresentou a epiderme com uma maior espessura.

Foram observadas na epiderme as camadas: córnea, lúcida, granulosa e basal (FIGURA 1 B). Subjacente à epiderme, visualizou-se a derme, caracterizada por grande quantidade de fibroblastos e fibrócitos, além de matriz extracelular composta por fibras colágenas e moderada vascularização.

A derme apresentou uma forma irregular, sendo possível observar presença de papilas dérmicas, estruturas que reforçam a união entre a derme e epiderme. Nesta camada foram encontrados também os vasos sanguíneos devido à alta vascularização da derme, que exercem papel importante na nutrição (FIGURA 1 A). Através das análises morfométricas, foi observado que a espessura total da epiderme, derme e hipoderme da região dorsal apresentaram-se com médias significativamente maiores na pele dos animais do grupo II quando comparado ao grupo I (Tabela 1). Quanto à espessura das camadas da epiderme, os resultados obtidos revelaram que no grupo II as médias foram maiores, em relação ao grupo I (Tabela 2).

Em relação à análise do tecido conjuntivo, a comparação do número de fibroblastos e a presença de fibras colágenas (μm) mostraram médias significativamente maiores para os animais do grupo II quando comparado ao grupo I (Tabela 3).

FIGURA 1 – Fotomicrografia da pele de ratas do grupo II (Ooforectomia-região ventral) e Fotomicrografia do tegumento de ratas do grupo I (Sham-ooforectomia-região dorsal) .



Epitélio estratificado pavimentoso queratinizado com todas as camadas da epiderme (EP). Setas indicando a camada germinativa ou estrato basal. Derme (D) reticular de tecido conjuntivo denso não modelado. Coloração: H.E. Aumento: 100 X .

Fotomicrografia do tegumento de ratas do grupo I. Epitélio da epiderme (EP); estrato córneo (EC) e camada germinativa ou estrato basal (setas). Derme reticular (D). Coloração H.E. Aumento de 100 X.

Tabela 1- Média e desvio padrão da espessura (μm) total das camadas da região dorsal do tegumento de ratas.

Variáveis	Grupo I	Grupo II
Epiderme	21,69 \pm 12,42 ^a	25,16 \pm 14,87 ^b
Derme	673,63 \pm 222,46 ^a	835,04 \pm 203,28 ^b
Hipoderme	186,45 \pm 73,80 ^a	189,48 \pm 80,39 ^b

Valores de p diferem estatisticamente por letras diferentes na mesma linha.
Valor de $p \leq 0,0001$

Tabela 2: Média e desvio padrão da espessura (μm) das camadas da epiderme das regiões dorsal e ventral dos grupos.

	GRUPO I	GRUPO II
Variáveis /região dorsal		
Basal	5,64 \pm 3,59 ^b	10,62 \pm 6,53 ^a
Espinhosa	6,65 \pm 2,26 ^b	11,19 \pm 22,55 ^a
Granulosa	3,90 \pm 1,51 ^b	6,61 \pm 6,80 ^a
Córnea	5,71 \pm 2,45 ^b	8,39 \pm 8,18 ^a

Variáveis/região ventral

Basal	9,05 ± 3,77 ^b	10,79 ± 7,78 ^a
Espinhosa	7,19 ± 2,68 ^b	8,77 ± 5,98 ^a
Granulosa	4,43 ± 2,74 ^b	7,02 ± 5,27 ^a
Córnea	6,76 ± 2,47 ^b	9,55 ± 8,08 ^a

Valores de p diferem estatisticamente por letras diferentes na mesma linha.

Valor de P ≤ 0,0001

Tabela 3: Quantificação dos fibroblastos por área (mm²), ocupada por fibras colágenas (mm²) da região dorsal dos grupos grupo I e grupo II.

VARIÁVEIS	Grupo I	Grupo II
Fibras colágenas	45,26±8,59 ^a	47,62±5,24 ^b
Número de fibroblastos	7,14 ± 4,71 ^a	10,16 ± 6,70 ^b

Valores de p diferem estatisticamente por letras diferentes na mesma linha.

Valor de p: ≤ 0022

DISCUSSÃO

Ao relatarmos as diferenças observadas no grupo II, pode-se dizer que a maior espessura das camadas da epiderme, neste grupo, ocorreu devido a influência dos níveis de estrógeno por meio de seus mecanismos de ação. Haja vista que já foram encontrados dois receptores estrogênicos intracelularmente: α e β (ER- α e ER- β),⁽¹⁶⁾. O estrógeno atua efetivamente nas camadas da epiderme apresentando três tipos que são produzidos naturalmente pelo organismo, o mais potente é o 17-estradiol, seguido pelo estrona e estriol, principal forma de excreção do hormônio⁽¹⁷⁾. O estradiol é considerado 10 vezes mais ativo que o estriol, pois apresenta uma maior afinidade com os receptores e, por isso, é o mais retratado na literatura⁽¹⁸⁾.

Assim como o estrógeno, existem demais fatores e hormônios que exercem influência sobre o tegumento, e entre eles estão o hormônio do crescimento GH. Este apresenta a atividade dos IGHs-1 (fator de crescimento semelhante a insulina) sobre os fibroblastos da derme incluem sobrevivência, migração e produção de fatores do crescimento como o TGF β -1 que podem exercer influência tanto localmente na derme quanto exercer efeitos parácrinos sobre a epiderme⁽¹⁴⁾. Em cultura de fibroblastos, o GH liga-se a estas células por meio do GHR (receptor para hormônio do crescimento), produzindo assim uma atividade proliferativa e reguladora da expressão de IGF-1 e IGFBP-3, o que estimula ou inibe a proliferação das células⁽¹⁹⁾.

Além disso, Póvoa e Diniz (2011) em seus relatos descrevem que além da presença de GHR, também é notável a presença de GHBP (proteína carreadora de hormônio do crescimento) em ambas as camadas da epiderme, assim como nas glândulas e folículos pilosos, encontrando assim, subsídios que comprovam uma possível atuação destes fatores sobre o tegumento conferindo assim maior espessura das camadas⁽¹⁴⁾. Desta forma, os fatores anteriormente citados, explicam médias mais elevadas nas análises do grupo II, onde mesmo com a redução dos níveis de estrógeno, devido a ooforectomia, possivelmente demais hormônios e fatores de crescimento atuaram efetivamente proporcionando uma maior espessura das camadas da epiderme, uma vez que estes são responsáveis pela proliferação e diferenciação epidérmica. Lange (2001), constatou que o aumento na espessura dessas camadas se dá através de uma maior quantidade de colágeno e não apenas da expansão da epiderme por proliferação e maturação dos queratinócitos⁽²⁰⁾. Haja vista que a produção e variação dos tipos de colágeno é regulada por diversos fatores e dentre eles, a ação efetiva dos estrógenos, levando em conta que os fibroblastos apresentam receptores para estes hormônios⁽²¹⁾. O que explica a progressão significativa na proliferação de células da epiderme

Em contrapartida, estudos realizados por Papaléo *et al.*, (2005) e Nascimento, (2001), afirmam que, com o passar dos anos, a pele se torna flácida e fina, por uma diminuição considerável da proliferação de células no estrato basal. Uma vez que a diminuição da síntese dos estrógenos, induz uma menor atividade mitótica das células, conferindo assim uma menor espessura da epiderme. Informação esta que vai de encontro com os achados desta pesquisa, uma vez que, com a redução dos níveis de estrógenos foi observado um maior número de células. Implicando assim, cogitar que outros hormônios exercem influência no tegumento por meio de seus mecanismos de ação⁽²²⁾.

Quanto as médias em relação ao maior aumento das camadas da pele também para o grupo II quando comparadas ao grupo I, foi possível observar que as espessuras das camadas da pele: epiderme, derme e hipoderme variam de acordo com a organização estrutural das células e local do corpo estudados⁽²³⁾, desta forma as áreas utilizadas neste estudo podem variar, já que são locais distintos e por isso ocorre as diferenças significativas nas médias⁽¹⁹⁾. É importante ressaltar que a manutenção do número de células na epiderme depende do balanço entre a morte e proliferação celular existente (diferenciação e apoptose) dos queratinócitos, visto que a epiderme possui capacidade de auto renovação devido a ação de uma população celular mitótica em sua camada basal⁽²⁴⁾.

Com o avançar da idade, síntese do colágeno na derme decresce, devido a redução do índice de estrógenos no organismo⁽²⁵⁾. A ooforectomia induzida nos animais em experimentação, simulou o processo de envelhecimento, que foi observado através da análise da cronologia da pele, exibindo assim alterações na quantidade de colágeno na derme, resultando numa redução da espessura total, resistência e tensão da pele, apresentando assim uma maior fragilidade do órgão.

As maiores médias referentes à presença de fibroblastos e fibras colágenas na derme para o grupo II podem ser explicados pelo fato de que em culturas de fibroblastos, o GH que se liga a estas células através do GHR, produz ação proliferativa ou reguladora⁽¹⁴⁾. o que ocasionou possivelmente um aumento destas células. Para Goldfeder, (2005) o que possivelmente explica estes achados é que, com o passar dos anos, os níveis de colágeno tornam-se estáveis, onde haverá um acúmulo na quantidade de ligações covalentes cruzadas de fibrilas entre cadeias de colágeno o que fez com que a quantidade de fibras colágenas não fossem diminuídas⁽²⁶⁾.

Complementando, Moir, (2004) relata que a quantidade de colágeno no tecido epitelial está intimamente relacionada com a diminuição da ação dos fibroblastos, uma vez que estes são

responsáveis pela síntese do colágeno. E por isto, mesmo ocorrendo redução abrupta dos níveis de estrógenos devido a indução da ooforectomia, o (os) demais hormônios e fatores podem ter atuado significativamente sobre o tegumento, impedindo a ocorrência da diminuição da quantidade de fibras colágenas e fibroblastos. Corroborando assim, com os dados obtidos em nosso estudo⁽²⁷⁾.

Em contrapartida, Duthie e Katz (2002), em estudos para parâmetros semelhantes,relata que,com o avanço da idade, os fibroblastos apresentam-se com um índice de proliferação de células reduzido⁽²⁸⁾. Dados estes que são semelhantes aos achados de Goldfeder, (2005), onde foi verificado uma desaceleração da atividade metabólica dos fibroblastos com o passar dos anos o que fez com que estes perdessem sua capacidade de se relacionar às fibras de colágeno, diminuindo assim, a possibilidade de estruturação e organização do tecido dérmico. Campbell (1996) também relata sobre as diferenças observadas com o aumentar da idade⁽²⁹⁾, entretanto, este ressalta que a pele intrinsicamente apresenta diminuição de fibras colágenas e síntese de colágeno , onde pode-se verificar fibras deformadas e menos flexíveis , isto porque o suporte estrutural proposto pela derme é diminuído com o avançar idade⁽³⁰⁾.dados estes que contradizem os nossos achados , tendo em vista que mesmo com a indução do envelhecimento cronológico, a presença de maiores percentuais de fibras colágenas foi verificado.

Desta forma é importante ressaltar que, a produção dos constituintes dérmicos (fibroblastos e fibras colágenas) em maior quantidade, mesmo com a redução dos níveis de estrógeno, podem ter sido influenciado pela atuação de outros hormônios, deixando claro a importância e necessidade de mais estudos acerca da atividade dos mecanismos de ação, demais hormônios e/ou fatores que contribuem para tais diferenças encontradas.

CONCLUSÃO

Os resultados desta pesquisa revelaram que tanto o grupo I quanto no grupo II apresentam todas as células da epiderme, entretanto no grupo I foi verificada uma maior espessura das camadas da epiderme. Ressaltando que a espessura total da pele que apresentou as maiores médias e maior percentual de fibras colágenas e fibroblastos também pertenciam ao grupo I. O que permite afirmar que além do estrógeno, outros hormônios também atuam significativamente sobre o tegumento.

REFERÊNCIAS

- 1 Brasil; Manual de atenção a mulher no climatério. 1ª Ed. Brasília, 2008. 27 p.

- 2 Nancy GS. Are Research Schools Necessary? Contrasting Models of 20th Century Research at Tale Led by Ross Granvile Harrison, Grace E. Pickford and G. Evelyn Hathinson. *Journal of History of Biology*. 2003: 36:501-529.

- 3 Cavadas LF, Nunes A, Pinheiro M, Silva PT. Abordagem da menopausa nos cuidados de saúde primários. *Revista Portuguesa de Educação*. 2001: 23(2): 277- 236.

- 4 Simmonds RJ. *Chemistry of Biomolecules: An Introduction*: Cambridge: The Royal Society of Chemistry, 1992.

- 5 Pienta KJ, Getzenberg RH, Coffey DS. Characterization of nuclear morphology and nuclear matrices in ageing human fibroblasts. *Mechanisms of Ageing and Development*. 1992:6213-24.

- 6 Buchli L. Radicais livres e antioxidantes. *Cosmet. Toiletries*. 2002: 14:54-57.

- 7 Willians CL, Satncel EGM. Estrogênios e Progestogênios. In: Hardman JG, Limbird LE. Goodman & Gilman: *As Bases Farmacológicas da Terapêutica*. 9 ed. Rio de Janeiro: Mcgraw-Hill, 1996, p.1045-1067.

- 8 Adam S, Willians V, Vessey MP. Cardiovascular disease and hormone replacement treatment: a pilot case-control study. *British Medical Journal (Clinical Research)*, 1981; 282 (6272): 1277-1278.

- 9 Oliveira, MID. Avaliação de bem estar psicológico e da qualidade de vida em mulheres com menopausa. 2013. Available from: <http://biblioteca.versila.com/2271703>

- 10 Steiner M, Dunn E, Born L. Hormones and mood: from menarche to menopause and beyond. *J Affective Disord*, 2003;74:67-83. In: Veras AB, Nardi AE. *Hormônios sexuais femininos e transtornos do humor*, 2005,54 (1):20.

- 11 Hirata L L, Sato MEO, Santos CAM. Radicais Livres e o Envelhecimento Cutâneo. *Acta Farm. Bonaerense*, 2004: 23 (3): 418-24.

- 12 Terauchi M, Hiramitsu S, Akiyoshi M, Owa Y, Kato K, Obayashi S, Matsushima E, Kubota T. Associations among depression, anxiety and somatic Symptoms in peri- and postmenopausal women. *Journal of Obstetrics and Gynaecology Research*,. 2013 May; 39(5): 1007 – 1013.

- 13 Compston JE. Sex steroids and bone. *Physiological Reviews*. 2001: 81(1): 419 447.

- 14 Póvoa G, Diniz ML. O sistema do hormônio de crescimento: interações com a pele. *An Bras. Dermatol.* 2011; 86 (6): 1159-65.
- 15 Brincat MP, Galea R. Collagen: The significance in skin, bone, and carotid arteries. In: Lobo RA. *Treatment of the postmenopausal woman: Basic and Clinical Aspects.* 2^o ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 1999. p. 179-188.
- 16 ÖSTERLUND, M.K. AND HURD, Y.L. Estrogen receptors in the human forebrain and relation to neuropsychiatric disorders. *Prog. Neurobiol.* v.64, p.251-267, 2001.
- 18 CHUERY, A. C. S. *et al.* Hormônio terapia na menopausa. Disponível em: <<http://www.portaldeginecologia.com.br>>
- 19 Mohan S, Baylink DJ. IGF-binding proteins are multifunctional and act via IGF dependent and independent mechanisms. *J. Endocrinol.*; 2002; 175:19-31.
- 20 Lange F, Kroth A, Steffani JA, Lorencetti N. Influência da laserterapia no processo cicatricial de queimaduras de terceiro grau. *Fisioter Bras.* 2003; 4(5):335-40.
- 21 KLUTKE, J.; BERGMAN, A. Hormonal influence on the urinary tract. *Urol. Clin. North Am.*, Philadelphia, v.22, n.3, p.629-639, 1995.
- 22 Papaléo NP, Carvalho FET. *Geriatrics Fundamentos, Clínica e Terapêutica.* São Paulo: Atheneu, 2005: 210p.
- 23 NASCIMENTO L. V.; *Dermatologia Geriátrica. Anais brasileiros de Dermatologia* V.7, n.6, p.649-652, nov./dez. 2001.
- 25 Lapiere CM. The ageing dermis: The main cause for the appearance of “old skin”. *Brit. J. Dermatol* , 1990; Apr; 122 Suppl 35:5-11.
- 26 Goldfeder, E.M. et al; *Envelhecimento Normal.* Santa Catarina. 2005. Disponível em: <http://www.ccb.ufsc.br/~cristina/sm_2005_1_med7002.htm>
- 27 Moir, R.C, *Envelhecimento do sistema tegumentar: Revisão da literatura.* 2004. Dissertação (Mestrado apresentado à Escola de Enfermagem de Ribeirão Preto da universidade de São Paulo) – Departamento de Enfermagem geral e especialização para obtenção do título de mestre em enfermagem vinculado a linha de pesquisa Saúde do Idoso. Ribeirão Preto.
- 28 Duthie, E. H, Katz, P.R, *Geriatrics Prática.* 3 ed. Rio de Janeiro: Ed. Revinter. 2002
- 29 Campbell, G.A.M. A pele do idoso. In: GUIDI, M.L. M, MOREIRA, M.R.L. P, *Rejuvenescer a velhice: novas dimensões da vida.* Brasília: Universidade de Brasília, 1996
- 30 Hargreaves, L.H.H, *Geriatrics.* 1 ed. Brasília: Ed. Seep. 2006

5 CONCLUSÃO

Diante dos resultados obtidos e considerando os métodos utilizados, conclui-se que o grupo I (ooforectomizados) e o grupo II (Sham- ooforectomia) apresentaram todas as células do tegumento. Entretanto, vale ressaltar que o grupo I apresentou uma maior espessura da pele demonstrando que mesmo ocorrendo redução abrupta dos níveis de estrógenos devido a indução da ooforectomia, demais hormônios e fatores podem ter atuado significativamente sobre o tegumento impedindo a ocorrência da diminuição da atividade mitótica, e conseqüentemente, mantendo a espessura das camadas. Todavia, constatou-se que a redução dos níveis de estrógeno influencia na espessura total das camadas da pele evidenciadas histologicamente pelo aumento das células da epiderme e o aumento de fibroblastos e fibras colágenas. No entanto, sugere-se a realização de mais estudos para dados mais precisos acerca da atuação dos hormônios esteróides sobre o tegumento.

REFERÊNCIAS

ADAM, S.; WILLIAMS, V.; VESSEY, M. P. Cardiovascular disease and hormone replacement treatment: a pilot case-control study. **British medical journal**, v.282, p.1277-1278, 1981.

ANDREW, W.; BEHNKE, R. H.; SATO, T. Changes with advancing age in the cell population of human dermes. **Gerontology**, v.10, p.1-19, 1965.

AVERETTE, H.E.; NGUYEN, H.N. The role of prophylactic oophorectomy in cancer prevention. **Gynecologic Oncology**, Miami, v.55, p. 38-41, 1994.

BATISTELA, M.A.; CHORILLI, M.; RICCI, G.L. Abordagens no estudo do envelhecimento cutâneo em diferentes etnias. **Revista Brasileira de Farmácia**, Piracicaba, v.88, p. 59-62, 2007.

BRINCAT, M.P; GALEA, R. Collagen : The significance in skin, bone, and carotid arteries. In: LOBO, R.A. **Treatment of the postmenopausal woman: Basic and Clinical Aspects**. 2^a ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 1999. p. 179-188.

BUCHLI, L. Radicais livres e antioxidantes. **Cosmet. Toiletries**, São Paulo, v.14, p.54-57, 2002.

CASANOVA, G.; SPRITZER, P. M. Aspectos fisiopatológicos: estrogênios menopausa e terapia hormonal. **Hipertensão**, v.10, p.131-134, 2007.

CATÃO, L.I.C. **Sintomatologia Climatérica e Sexualidade na mulher de meia-idade**. 100 f. 2008. Dissertação (Mestrado em Psicologia) - Universidade Fernando Pessoa, Porto, 2008.

CHUERY, A. C. S. *et al.* **Hormonio terapia na menopausa**. Disponível em: <<http://www.portaldeginecologia.com.br>> Acesso em: 20 jan. 2005.

COMPSTON, J. E. Sex steroids and bone. **Physiological Reviews**, v. 81, p. 419-447, 2001.

HILL, M.W. Influence of age on the morphology and transit time of murine stratified squamous epithelia. **Archives of Oral Biology**, Australia, v.33, p. 221-229, 1988.

KATCH, F. I.; MCARDLE, W.D. **Nutrição, controle de peso e exercício**. 3. ed. Rio de Janeiro: Medsi, 1990.

KLINGMAN, A. M.; BALIN, A. K. Aging of human skin. In: BALIN, A. K.; KLINGMAN, A. M. (Eds). **Ageing and the skin**: Ravenpress. New York: Moderna, 1989. p.1-8.

KONO, T. *et al.* Correlation between ageing and collagen gel contractility of human fibroblasts. **Acta Dermato-Venereologica**, v.70. p. 241-244, 1990.

LEAL, W. B.; RIBEIRO, C. B. L. Fisiopatologia da pré-menopausa. **Revista Clínica e Terapêutica**, São Paulo, v. 32, n. 5, 2006. Disponível em: <http://www.moreirajr.com.br/revistas.asp?fase=r003&id_materia=3255>. Acesso em: 22 jan. 2016.

LIMA, S.M.R.R. *et al.* Efeitos da suplementação do 17-estradiol no dano oxidativo cardíaco de ratas submetidas à privação dos hormônios ovarianos. **Revista Brasileira de Ginecologia e Obstetrícia**, São Paulo, v.29, n. 1, p.27-33, Jan. 2007.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Manual de atenção a mulher no climatério**. Brasília: Ministério da Saúde, 2008. (Caderno 9).

MORAGAS, A. *et al.* Image analysis of dermal collagen changes during skin aging. **Analytical and Quantitative Cytology Histology**, [s.l],v.20, p.493-499, 1998.

NAMNOUM, A.B *et al.* Incidence of symptom recurrence after hysterectomy for endometriosis. **Fertility and Sterility**, Barcelona,v. 64, p.898-902, 1995.

NANCY, G.S. Are Research Schools Necessary? Contrasting Models of 20th Century Research at Tale Led by Ross Granvile Harrison, Grace E. Pickford and G. Evelyn Hathinson. **Journal of History of Biology**. Nova Iorque, v.36, p. 501-529, 2003.

NETTO, J. R. C. **Mulheres no climatério**: Nível de informações, ansiedade, depressão, qualidade de vida e resultados de uma intervenção psicológica. 2002. 130 f. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto/ USP, Ribeirão Preto, 2002.

OIKARINEN, A. Systemic estrogens have no conclusive beneficial effect on human skin connective tissue. **Acta Obstetricia et Gynecologia Scandinavica**, Finlândia v.79, p.244-249, 2000.

PIENTA K.J.; GETZENBERG, R.H.; COFFEY, D.S. Characterization of nuclear morphology and nuclear matrices in ageing human fibroblasts. **Mechanisms of Ageing and Development**, v. 62, p. 13-24, 1992.

SANTOS, M.O. **Ablação da pele queimada com laser de pulsos ultra-curtos para promoção da cicatrização**. Avaliação por tomografia por coerência óptica, histologia, μ ATR-FTIR e microscopia não linear. 2012. 88f. Tese – (Doutorado) Ipen- Autarquia associada à Universidade de São Paulo, São Paulo, 2012.

SEIDENARI S. *et al.* Thickness and echogenicity of the skin in children as assessed by 20-MHz ultrasound. **Dermatology**, v. 201, p. 218-222, 2000.

SIMMONDS, R.J. **Chemistry of Biomolecules: An Introduction**. Cambridge: The Royal Society of Chemistry, 1992.

STEINER, M.; DUNN, E.; BORN, L. Hormones and mood: from menarche to menopause and beyond. **Journal of Affective Disorders**, Toronto, v.74, p.67-83, 2003.

SUMINO, H. *et al.* Effects of aging and postmenopausal hypoestrogenism on skin elasticity and bone mineral density in Japanese women. **Endocrine Journal**. Tokyo, v. 51, p. 159-164, 2004.

TAKEDA K, GOSIEWSKA A, PETERKOFISKY B. Similar, but not identical, modulation of expression of extracellular matrix components during in vitro and in vivo aging of human skin fibroblasts. **Journal of Cellular Physiology**, Estados Unidos, v.153, p. 450-459, 1992.

TERAUCHI, M. *et al.* Associations among depression, anxiety and somatic Symptoms in peri- and postmenopausal women. **Journal of Obstetrics and Gynaecology Research**, Tokyo, v.39, p.1007 – 1013, 2013.

WHITEMAN, M.K. *et al.* Inpatient hysterectomy surveillance in the United States, 2000-2004. **American Journal of Obstetrics Gynecology**, v.198, p. 1-34, 2008.

WILLIAMS, C.L. E SATNCEL, G.M. Estrogênios e Progestogênios. In: HARDMAN, J.G.; LIMBIRD, L.E. **Goodman & Gilman: as Bases Farmacológicas da Terapêutica**. 9. ed. Rio de Janeiro: McGraw-Hill, 1996 p. 1045-1067.

ANEXO A – NORMAS DA REVISTA

SUBMISSÕES

DIRETRIZES PARA AUTORES

Os trabalhos podem ser redigidos em português ou inglês. Os nomes dos autores, bem como a filiação institucional de cada um dos mesmos, devem ser inseridos nos campos adequados a serem preenchidos durante a submissão e não devem aparecer no arquivo. *Ciência Animal Brasileira* sugere que o número máximo de autores por artigo seja 6 (seis). Artigos com número superior a 6 (seis) serão considerados exceções e avaliados pelo Conselho Editorial e, se necessário, solicitada a correção. O não atendimento de tal proposta pode implicar em recusa de sua publicação. Sugere-se um número máximo de 20 páginas e as figuras, gráficos e tabelas devem ser colocados no corpo do texto onde forem citados. É importante ressaltar que pesquisas feitas com animais devem citar a aprovação da pesquisa pelo Comitê de Ética em Pesquisas com Animais da instituição onde o trabalho foi realizado. A falta dessa aprovação impede a publicação do artigo. Os textos devem ser organizados da seguinte forma:

Para submissões em português:

Título em português: Fonte Times New Roman 14, caixa alta, centrado, negrito;

Resumo: Fonte Times New Roman 11, espaço 1, justificado, com um máximo de 200 palavras;

Palavras-chave: idem, e no máximo 5 palavras chave;

Título em inglês (obrigatório): Fonte Times New Roman 12, caixa alta, centrado;

Abstract (obrigatório): Fonte Times New Roman 11, espaço 1, justificado;

Keywords: idem

Introdução: Fonte Times new Roman 12, justificado, espaçamento 1,5;

Material e Métodos: Fonte Times new Roman 12, justificado, espaçamento 1,5;

Resultados: Fonte Times new Roman 12, justificado, espaçamento 1,5;

Discussão: Fonte Times new Roman 12, justificado, espaçamento 1,5 (Os tópicos Resultados e Discussão podem ser apresentados juntos dependendo das especificidades da área);

Conclusões: Fonte Times new Roman 12, justificado, espaçamento 1,5;

Agradecimentos: (opcional) Fonte Times new Roman 12, justificado, espaçamento 1,5;

Referências (e não bibliografia): Usar fonte Times New Roman 11, espaço 1 entre linhas e colocar espaço 6 pontos acima e abaixo do parágrafo. As referências devem ser numeradas na ordem em que aparecem no texto. A lista completa de referências, no final do artigo, devem estar de acordo com o estilo Vancouver (norma completa <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK7256/>;

norma resumida http://www.nlm.nih.gov/bsd/uniform_requirements.html).

Para as submissões em língua inglesa, a tipografia e espaçamentos são os mesmos, na seguinte sequência:

Título em inglês (Title);

Abstract;

Keywords;

Título em português (obrigatório);

Resumo em português (obrigatório);

Palavras-chave;

Introduction;

Material and Methods;

Results and Discussion;

Conclusions;

Acknowledgments (opcional),

References

Artigos do tipo **Nota Científica, Relato de Caso e similares** não estão sendo aceitos para submissão. **Artigos de Revisão de Literatura** somente serão publicados quando solicitados por convite do Conselho Editorial.

As referências a partir de resumos simples ou expandidos e trabalhos completos em anais de eventos são, em muitas ocasiões, de difícil recuperação. Por essa razão, solicitamos que esse tipo de fonte **não** seja utilizada como referência.

Com relação às teses, dissertações e monografias, solicitamos que sejam utilizados apenas documentos dos **últimos três anos** e quando não houver o respectivo artigo científico publicado em periódico. Esse tipo de referência deve, obrigatoriamente, **apresentar o link** que remeta ao cadastro nacional de teses da CAPES e os bancos locais das universidades que publicam esses documentos no formato .pdf.

Solicita-se, também, priorizar referências de periódicos e não de livros-texto.

O editor científico pode solicitar mais informações em relação às referências no momento de editoração do artigo. Seu pronto atendimento agilizará a sua publicação. O processo de resgate fácil das informações é o ponto principal de uma referenciação bibliográfica, técnica ou eletrônica.

Exemplos de referências

Trabalho em Periódicos:

(<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK7282/#A32362>)

Kalavathy R, Abdullah, N, Jalaludin, S, Ho YW. Effects of Lactobacillus cultures on growth performance, abdominal fat deposition, serum lipids and weight of organs of broiler chickens. British Poultry Science. 2003;44(1):139-144.

Trabalho em Periódicos Online:

(<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK7281/#A55587>)

Gueiros VA, Borges APB, Silva JCP, Duarte, TS, Franco KL. Utilização do adesivo Metil-2-Cianoacrilato e fio de náilon na reparação de feridas cutâneas de cães e gatos [Utilization of the methyl-2-cyanoacrylate adhesive and the nylon suture in surgical skin wounds of dogs and cats]. *Ciência Rural* [Internet]. 2001 Apr [cited 2008 Oct 10];31(2):285-289. Available from: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0103-84782001000200015. Portuguese.

Livro Inteiro:

(<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK7271/#A34171>)

Reis JC. Estatística aplicada à pesquisa em ciência veterinária. 1st ed. Olinda: Luci Artes Gráficas; 2003. 651p. Portuguese.

Capítulo de Livro:

(<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK7271/#A34915>)

Pascoe PJ. Cuidados pós-operatórios do paciente. In: Slatter D. Manual de cirurgia de pequenos animais. 2nd ed. São Paulo: Manole; 1998. p. 287-299. Portuguese.

Legislação:

Os modelos aqui foram adaptados porque a normalização proposta no Estilo Vancouver não corresponde à realidade brasileira.

Brasil. Constituição 1988. Constituição da República Federativa do Brasil. Brasília, DF: Senado; 1988. Portuguese.

Brasil. Ministério da Educação e Ministério da Saúde. Portaria interministerial no. 1000 de 15 de abril de 2004. Resolvem certificar como Hospital de Ensino das Instituições Hospitalares

que servirem de campo para a prática de atividades curriculares na área da saúde, sejam Hospitais Gerais e, ou Especializados. Diário Oficial da União. 2004 Abr 16; Seção 1. Portuguese.

Programas de Computador:

(<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK7244/>)

SAS Institute. Statistical Analysis System: user guide [CD-ROM]. Version 8. Cary (NC): SAS Institute Inc., 2002.

Websites:

(<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK7274/#A59404>)

Silva MET, Flemming S, Martinez JL, Thomazini PL. Rendimento de carcaça de búfalos (*bubalus bubalis* L.) confinados em terminação, com dietas contendo diferentes relações de volumoso e concentrado. 2 - Características Quantitativas [Internet]. Brasília: Associação Brasileira de Zootecnia; 2010 Oct 8 [cited 2013 Jun 27]. Available from: <http://www.abz.org.br/publicacoes-tecnicas/anais-zootec/artigos-cientificos/reproducao-melhoramento-animal/23861-Rendimento-carcaa-bfalos-bubalus-bubalis-confinados-terminao-com-dietas-contendo-diferentes-relaes-volumoso-concentrado---Caractersticas-Quantitativas.html>. Portuguese.

Solicita-se que o número DOI, ou o link correspondente, dos artigos assim identificados seja acrescentado ao final da referência.

Ribeiro Carina Teixeira, De Souza Diogo Benchimol, Medeiros Jr. Jorge Luiz, Costa Waldemar Silva, Pereira-Sampaio Marco Aurélio, Sampaio Francisco José Barcellos. Pneumoperitoneum induces morphological alterations in the rat testicle. Acta Cir. Bras.

[periódico na Internet]. 2013 Jun [citado 2013 Jun 27]; 28(6): 419-422. Disponível em:<http://dx.doi.org/10.1590/S0102-86502013000600003>.

Exemplo de citação

Reports of *L. similis* lesion are scarce in the literature. Histopathological studies with three *Loxosceles* species of clinical importance, *L. intermedia*, *L. laeta* and *L. reclusa*, showed that the venom induces vasodilation, edema, inflammatory infiltrate (mainly neutrophilic), hemorrhage, cutaneous muscle necrosis, thrombosis and arteriolar walls degeneration^(6, 13-15). It is necessary to elucidate whether the histological lesion induced by the *Loxosceles similis* venom is similar to that observed in other species of medical importance. Furthermore, it is important to determine the pathogenesis of the loxoscelic dermonecrotic lesion(...)

According to Zanetti et al.⁽¹⁷⁾ and Nowatzki et al.⁽¹⁸⁾ who studied the action of the *L. intermedia* venom in vitro on endothelial cells, it was observed that 18 hours after the venom action, cells showed plasmatic membrane convolutions and chromatin condensation.

6. Futrell J. Loxoscelism. Am J Med Sci. 1992;304(4):261-7.

13. Smith WC, Micks WD. The role of polymorphonuclear leukocytes in the lesion caused by the venom of the brown spider (*Loxosceles reclusa*). Lab Invest. 1970;22:90-3.

14. Strain GM, Snider TG, Tedford BL, Cohn GH. Hyperbaric oxygen effects on brown recluse spider (*Loxosceles reclusa*) envenomation in rabbits. Toxicol. 1991;29(8):989-96.

15. Ospedal KZ, Appel MH, Neto JF, Mangili OC, Sanches Veiga S, Gremski W. Histopathological findings in rabbits after experimental acute exposure to the *Loxosceles intermedia* (Brown spider) venom. Int J Exp Pathol. 2002;83(6):287-94.

17. Zanetti VC, da Silveira RB, Dreyfuss JL, Haoach J, Mangili OC, Veiga SS, et al. Morphological and biochemical evidence of blood vessel damage and fibrinogenolysis triggered by brown spider venom. Blood Coagul Fibrinolysis. 2002;13(2):135-48.

18. Nowatzki J, de Sene RV, Paludo KS, Veiga SS, Oliver C, Jamur MC, et al. Brown spider venom toxins interact with cell surface and are endocytosed by rabbit endothelial cells. Toxicol. 2010;56(4):535-43

(Fonte: Pereira NB, Kalapothakis E, Vasconcelos AC, Chatzaki M, Campos LP, Vieira FO et al . Histopathological characterization of experimentally induced cutaneous loxoscelism in rabbits inoculated with *Loxosceles similis* venom. J. Venom. Anim. Toxins incl. Trop. Dis [periódico na Internet]. 2012 [citado 2013 Nov 04]; 18(3): 277-286. Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1678-91992012000300005&lng=pt. <http://dx.doi.org/10.1590/S1678-91992012000300005>)

CONDIÇÕES PARA SUBMISSÃO

Como parte do processo de submissão, os autores são obrigados a verificar a conformidade da submissão em relação a todos os itens listados a seguir. As submissões que não estiverem de acordo com as normas serão devolvidas aos autores.

1. A contribuição é original, e não está sendo avaliada para publicação por outra revista.
2. Os autores devem estar cientes de que são os responsáveis diretos por todo o conteúdo de seu artigo.
3. Os arquivos para submissão estão em formato Microsoft Word, OpenOffice ou RTF (desde que não ultrapasse os 2MB). No arquivo da submissão, excluir apenas os nomes e identificação dos autores, todos os outros elementos (título em português e em inglês, resumo, palavras chave, abstract e key words) devem permanecer no arquivo. O preenchimento do cadastro inclui todos os autores envolvidos (máximo de 6 autores), selecionando o contato principal. Atentar para o item 6 destas normas.
4. Todos os endereços de URLs no texto (Ex.:<http://www.ibict.br>) estão ativos e prontos para clicar.
5. O texto está em espaço 1,5 com linhas numeradas; usa uma fonte de 12-pontos Times New Roman; emprega itálico ao invés de sublinhar (exceto em endereços URL); com figuras e tabelas inseridas no texto, e não em seu final.
6. O texto segue os padrões de estilo e requisitos bibliográficos descritos em **Diretrizes para Autores**, na seção Sobre a Revista.
7. A identificação de autoria deste trabalho foi removida do arquivo e da opção Propriedades no Word, garantindo desta forma o critério de sigilo da revista, caso submetido para avaliação por pares (ex.: artigos). Os nomes de TODOS os autores,

com sua respectiva identificação institucional, foi cadastrada nos métodos da submissão, usando a opção incluir autor.

8. Nos casos de artigos que envolvam pesquisa com animais, é obrigatória a inserção da aprovação pelo Comitê de Ética da instituição de origem do trabalho. Caso a pesquisa tenha envolvido questionário aplicado a pessoas, será necessário a aprovação pelo Comitê de Ética Humano da instituição, também.
9. Incluir em documentos suplementares a declaração de anuência com a assinatura de todos os autores do artigo, conforme explicado em notícia da página principal. Veja o modelo da declaração:

Modelo da carta

DECLARAÇÃO DE ANUÊNCIA

Os autores abaixo-assinados declaram, para fins de submissão à Revista Ciência Animal Brasileira, publicada pela Escola de Veterinária e Zootecnia da Universidade Federal de Goiás, que o artigo "Título" é original, inédito e não foi submetido a outro periódico.

Os autores expressam sua anuência acerca da submissão, assim como da Política Editorial, das Diretrizes para Publicação e da Declaração de Direito Autoral, que se aplicarão em caso de aceite e posterior publicação do artigo. Ao lado de cada nome e assinatura, consta uma descrição breve de como o autor participou da referida pesquisa.

Cidade, data.

Autores

1. Nome, descrição breve da participação, Assinatura
2. Nome, descrição breve da participação, Assinatura
3. Nome, descrição breve da participação, Assinatura
4. Nome, descrição breve da participação, Assinatura
5. Nome, descrição breve da participação, Assinatura
6. Nome, descrição breve da participação, Assinatura

DECLARAÇÃO DE DIREITO AUTORAL

Autores que publicam nesta revista concordam com os seguintes termos:

- a. Autores mantêm os direitos autorais e concedem à revista o direito de primeira publicação, com o trabalho simultaneamente licenciado sob a **Licença Creative Commons Attribution** que permite o compartilhamento do trabalho com reconhecimento da autoria e publicação inicial nesta revista.
- b. Autores têm autorização para assumir contratos adicionais separadamente, para distribuição não-exclusiva da versão do trabalho publicada nesta revista (ex.: publicar em repositório institucional ou como capítulo de livro), com reconhecimento de autoria e publicação inicial nesta revista.
- c. Autores têm permissão e são estimulados a publicar e distribuir seu trabalho online (ex.: em repositórios institucionais ou na sua página pessoal) a qualquer ponto antes ou durante o processo editorial, já que isso pode gerar alterações produtivas, bem como aumentar o impacto e a citação do trabalho publicado (Veja **O Efeito do Acesso Livre**).

POLÍTICA DE PRIVACIDADE

Os nomes e endereços informados nesta revista serão usados exclusivamente para os serviços prestados por esta publicação, não sendo disponibilizados para outras finalidades ou à terceiros.