



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO**  
**CENTRO ACADÊMICO DE VITÓRIA DE SANTO ANTÃO**

**RAQUEL DA SILVA CAVALCANTE**

**ANÁLISE HISTOLÓGICA DO PULMÃO DE RATAS WISTAR SUBMETIDAS A  
OVARIECTOMIA**

**VITÓRIA DE SANTO ANTÃO**

**2019**

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO**  
**CENTRO ACADÊMICO DE VITÓRIA DE SANTO ANTÃO**  
**BACHARELADO EM ENFERMAGEM**  
**NÚCLEO DE ENFERMAGEM**

**RAQUEL DA SILVA CAVALCANTE**

**ANÁLISE HISTOLÓGICA DO PULMÃO DE RATAS WISTAR SUBMETIDAS A  
OVARIECTOMIA**

TCC apresentado ao Curso de Bacharelado em Enfermagem da Universidade Federal de Pernambuco, Centro Acadêmico de Vitória, como requisito para a obtenção do título de Bacharel em Enfermagem.

**Orientador:** Francisco Carlos Amanajás de Aguiar Júnior

**VITÓRIA DE SANTO ANTÃO**

**2019**

Catálogo na fonte  
Sistema de Bibliotecas da UFPE - Biblioteca Setorial do CAV.  
Bibliotecária Fernanda Bernardo Ferreira, CRB4-2165

C376a Cavalcante, Raquel da Silva  
Análise histológica do pulmão de ratas Wistar submetidas a ovariectomia. /  
Raquel da Silva Cavalcante. Vitória de Santo Antão, 2019.  
41 folhas.

Orientador: Francisco Carlos Amanajás de Aguiar Júnior  
TCC (Graduação) - Universidade Federal de Pernambuco. CAV, Bacharelado  
em Enfermagem, 2019.

1. Pulmão. 2. Menopausa. 3. Ovariectomia. I. Aguiar Júnior, Francisco Carlos  
Amanajás de (Orientador). II. Título.

616.24 CDD (23.ed.)

BIBCAV/UFPE-035/2019

RAQUEL DA SILVA CAVALCANTE

**ANÁLISE HISTOLÓGICA DO PULMÃO DE RATAS WISTAR SUBMETIDAS A  
OVARIECTOMIA**

TCC apresentado ao Curso de Bacharelado em Enfermagem da Universidade Federal de Pernambuco, Centro Acadêmico de Vitória, como requisito para a obtenção do título de Bacharel em Enfermagem.

Aprovado em: 04/06/2019.

**BANCA EXAMINADORA**

---

Prof<sup>o</sup>. Dr. Francisco Carlos Amanajás de Aguiar Júnior (Orientador)  
Universidade Federal de Pernambuco

---

Prof<sup>o</sup>. Dr<sup>a</sup>. Viviane Rolim de Holanda (Examinador Interno)  
Universidade Federal de Pernambuco

---

Prof<sup>o</sup>. Dr<sup>a</sup>. Rayana Carla Silva de Moraes (Examinador Externo)  
Faculdades Integradas da Vitória de Santo Antão

## RESUMO

As mulheres durante a menopausa têm maior predisposição a desenvolver problemas respiratórios devido as oscilações hormonais que diminuem a expressão dos receptores de estradiol. Objetivou-se analisar as características histológicas de ratas Wistar submetidas a ovariectomia através de histomorfometria. Os animais com 60 dias de idade foram divididos em grupo GI (ratas sham-ovariectomizadas) e grupo GII que foi submetido ao procedimento cirúrgico com a retirada dos ovários (ratas ovariectomizadas). Decorrido o período de 3 meses, 6 meses e 1 ano, os animais foram anestesiados e eutanasiados por perfusão intracardíaca. O lobo superior do pulmão direito de cada animal foi removido e fixado em formaldeído a 10% neutro tamponado por um período de 48 horas e assim, seguindo processamento histológico de rotina. O órgão foi incluído em blocos de parafina para ser realizado cortes de 4  $\mu\text{m}$ , os quais foram coradas em hematoxilina e eosina (H.E.). Por meio de uma câmera de alta resolução adaptada ao microscópio de luz, foram obtidas 20 fotomicrografias de cada lâmina no aumento final de 100x e com o auxílio do programa imageJ foi realizada a análise histomorfométrica. Os resultados foram submetidas ao teste U de Mann-Whitney para verificação das possíveis diferenças entre os grupos, sendo adotado nível de significância de 5% ou  $< 0,05$ . Observou-se diminuição percentual da área ocupada pelo bronquíolos terminais aos 3 meses (GI 10,14%; GII 8,31%;  $p= 0,003$ ), 6 meses (GI 17,99%; GII 13,24%;  $p=0,002$ ) e 1 ano ( GI 17,30%; GII 14,07%;  $p= 0,002$ ), aumento percentual da área alveolar aos 6 meses (GI 65,18%; GII 71,13%;  $p= 0,004$ ) e 1 ano (GI 59,38%; GII 65,57%;  $p=0,005$ ), diminuição da área alveolar ( $\mu\text{m}^2$ ) aos 3 meses (GI  $26,17 \pm 22,92$ ; GII  $21,58 \pm 15,29$ ;  $p=0,001$ ), e aos 6 meses há um aumento tanto do perímetro ( $\mu\text{m}$ ) (GI  $2,31 \pm 1,15$ ; GII  $2,50 \pm 1,37$ ;  $p=0,001$ ) quanto da área alveolar ( $\mu\text{m}^2$ ) (GI  $19,44 \pm 16,12$ ; GII  $37,19 \pm 32,40$ ;  $p= 0,001$ ), também foi observado diminuição da área ocupada pelas fibras (GI 0,86%; GII 0,09%;  $p=0,003$ ), e aumento da área dos vasos sanguíneos (GI 0,58%; GII 1,57%;  $p=0,002$ ) com 1 ano. Infere-se que a cessação dos hormônios ovarianos causa alterações nas estruturas do parênquima e do estroma pulmonar que podem comprometer a mecânica ventilatória.

**Palavras-chave:** Pulmão. Hormônio. Menopausa.

## ABSTRACT

Women during menopause are more likely to develop respiratory problems due to hormonal oscillations that decrease the expression of estradiol receptors. Aimed at analyzing the histological characteristics of Wistar rats submitted to ovariectomy through histomorphometry. 48 Wistar lineage rats were used. The 60-day-old animals were divided into the GI group (sham-ovariectomized rats) and the GII group who underwent surgical removal of the ovary (ovariectomized rats). After the period of 3 months, 6 months and 1 year, the animals were anesthetized and euthanized by intracardiac perfusion. The upper lobe of the right lung of each animal was removed and fixed in neutral buffered 10% formaldehyde for a period of 48 hours and thus following routine histological processing. The organ was included in paraffin blocks to be cut 4  $\mu\text{m}$ , which were stained in hematoxylin and eosin (H.E.). By means of a high resolution camera adapted to the light microscope, 20 photomicrographs of each slide were obtained in the final magnification of 100x and with the help of the imageJ program the histomorphometric analysis was performed. The results were submitted to the Mann-Whitney U test to verify the possible differences between the groups, with a significance level of 5% or  $<0.05$ . Percentage decrease of the area occupied by terminal bronchioles at 3 months (GI 10,14%; GII 8,31%;  $p= 0,003$ ), 6 months (GI 17,99%; GII 13,24%;  $p=0,002$ ) and 1 year ( GI 17,30%; GII 14,07%;  $p= 0,002$ ), percentage increase of alveolar area at 6 months (GI 65,18%; GII 71,13%;  $p= 0,004$ ) and 1 year (GI 59,38%; GII 65,57%;  $p=0,005$ ), decreased alveolar area ( $\mu\text{m}^2$ ) at 3 months (GI  $26,17 \pm 22,92$ ; GII  $21,58 \pm 15,29$ ;  $p=0,001$ ) and at 6 months there is an increase in both the perimeter ( $\mu\text{m}$ ), (GI  $2,31 \pm 1,15$ ; GII  $2,50 \pm 1,37$ ;  $p=0,001$ ) and alveolar area ( $\mu\text{m}^2$ ) (GI  $19,44 \pm 16,12$ ; GII  $37,19 \pm 32,40$ ;  $p= 0,001$ ), also observed a decrease in the area occupied by the fibers (GI 0,86%; GII 0,09%;  $p=0,003$ ), and increased blood vessel area (GI 0,58%; GII 1,57%;  $p=0,002$ ), with year time. It is inferred that the cessation of ovarian hormones causes changes in the structures of the parenchyma and pulmonary stroma that may compromise ventilatory mechanics.

**Keywords:** Lung. Hormone. Menopause.

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

**Figura 1-** Espaço alveolar dos Grupos Avaliados num corte histológico do Pulmão. Onde observa-se a área ocupada pelos alvéolos (\*). Coloração Hematoxilina-Eosina (H.E.), sob o aumento de 100x. A: grupo sham-ovariectomizado. B: grupo ovariectomizado. p.22

## LISTA DE ABREVIACOES

ER- $\alpha$	Receptor Alfa Estradiol
ER- $\beta$	Receptor Beta Estradiol
FSH	Hormônio Folículo Estimulante
GnRH	Hormônio Liberador de Gonadotrofinas
LH	Hormônio Luteinizante
OMS	Organização Mundial de Saúde

## LISTA DE TABELAS

**Tabela 1** - Porcentagem das estruturas que formam o parênquima pulmonar, nos diferentes grupos avaliados. p. 23

**Tabela 2** - Média e desvio-padrão da área e do perímetro alveolar dos diferentes grupos analisados. p.24

**Tabela 3** - Porcentagem das estruturas que estão presentes no estroma pulmonar, nos diferentes grupos avaliados. p.24

## SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO-----	10
2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA-----	12
2.1- Estrógeno e seus Receptores-----	12
2.2- Pulmão e seus Aspectos Histológicos-----	13
2.3- Função Pulmonar e Menopausa-----	14
3 OBJETIVOS-----	16
3.1- Objetivo Geral -----	16
3.2- Objetivos Específicos -----	16
4 ARTIGO -----	17
5 CONCLUSÃO-----	31
REFERENCIAS -----	32
ANEXO A – NORMAS DE PUBLICAÇÃO DA REVISTA -----	35
ANEXO B – COMITÊ DE ÉTICA EM EXPERIMENTAÇÃO ANIMAL -----	41

## 1 INTRODUÇÃO

O processo de transição demográfica que vem acontecendo nos últimos anos está transformando o perfil epidemiológico do país, a população com mais de 60 anos cresceu consideravelmente nas últimas três décadas, passando de 7,3 milhões para 14,5 milhões. Segundo a Organização Mundial de Saúde (OMS), estima-se que, até 2025, o Brasil alcance a posição do sexto país no mundo em número de idosos (WHO, 2005; MEDEIROS; MORAIS, 2015). No censo de 2012 realizado pelo Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE) mostra que a população feminina tem uma maior perspectiva de vida que os homens, sendo as mulheres com a expectativa de 78,3 anos, enquanto os dos homens é de 71 anos (GONÇALVES *et al.*, 2016).

O envelhecimento é um processo acompanhado por uma série de mudanças físicas, fisiológicas e psicológicas, além de ser caracterizado pelo declínio de diferentes funções motoras, cognitivas e endócrinas. Com o aumento da expectativa de vida, as mulheres passaram a viver cerca de um terço de suas vidas no climatério, período que corresponde ao declínio da função ovariana. O hipoestrogenismo resultante desta fase predispõem as mulheres a desenvolverem inúmeras doenças não transmissíveis, incluindo doenças cardíacas, acidente vascular cerebral, câncer e doenças respiratórias crônicas (JIA; DAHLMAN-WRIGHT; GUSTAFSSON, 2015).

Têm sido amplamente demonstrado que os hormônios ovarianos exercem várias ações não reprodutivas em múltiplos sistemas fisiológicos, incluindo o ósseo, o sistema nervoso central, o sistema imune, o sistema cardiovascular e o sistema respiratório. A descoberta de receptores estrogênicos (ER $\alpha$ , ER $\beta$ , ERX e ER de membrana) demonstra que os estrógenos possuem vários e diferentes mecanismos de ações. Portanto, a ausência desse hormônio pode ocasionar diversos efeitos deletérios em diferentes tecidos-alvos (GOMEZ; PLACKETT; KOVACS, 2007; SILVA, 2016; LAZZARETTI *et al.*, 2010).

Mulheres adultas com ciclo reprodutivo normal secretam pelos ovários hormônios esteroidais como os estrogênios e progesteronas. A função ovariana é regulada pelo eixo hipotálamo-hipofisário-ovariano. A partir de um neuro-hormônio elaborado no hipotálamo – o hormônio liberador de gonadotrofinas (GnRH), a hipófise secreta os hormônios folículo estimulante (FSH) e luteinizante (LH). O FSH regula o crescimento folicular e a produção crescente de estradiol pelas células da granulosa e o LH é responsável por aumentar a captação de colesterol e estimular as células intersticiais da teca dos folículos ovarianos a secretar androstenediona e testosterona. Após a ovulação, FSH e principalmente LH agem nas células

da camada granulosa e da teca do folículo rompido aumentando a produção de estradiol e, em maior quantidade, de progesterona (IGNACIO *et al.*, 2009; BORGES *et al.*, 2015).

Entre as fases fisiológicas da vida da mulher, destaca-se o climatério, refere-se ao ciclo da vida da mulher em que abrange os períodos de pré- menopausa, menopausa e pós-menopausa, corresponde a transição da fase reprodutiva para a não reprodutiva, ocorre geralmente na faixa etária de 45 a 65 anos. É caracterizado pela queda progressiva dos níveis circulantes de estrogênio e interrupção dos ciclos menstruais (menopausa), durante esse estágio ocorrem diversas alterações físicas, psíquicas e fisiopatológicas, decorrente às oscilações hormonais que geram inúmeros sintomas que interferem na qualidade de vida da mulher, deixando-as vulneráveis aos mais diversos agravos à saúde (Carvalho *et al.*, 2015; VALENÇA *et al.*, 2010; LOPES *et al.*, 2013)

A menopausa é um marco natural no processo de envelhecimento feminino tem início a partir da data da última menstruação, consiste na interrupção permanente da menstruação, após 12 meses de amenorreia, em média ocorre aos 51 anos de idade. Apesar de ser associada a alterações de hormônios hipotalâmicos e hipofisários que regulam o ciclo menstrual, a menopausa não é um evento central, e sim uma insuficiência ovariana primária (SELBAC *et al.*, 2018).

As modificações determinadas pelo envelhecimento afetam desde os mecanismos de controle da função pulmonar até as estruturas parenquimatosas, devido às alterações corporais intrínsecas a este processo como a diminuição da estatura, da massa corporal e a substituição dos músculos por tecido adiposo e fraqueza muscular, acarretando alterações na mecânica respiratória (PEREIRA *et al.*, 2018).

## 2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

### 2.1- Estrógeno e seus Receptores

O estrogênio é um hormônio esteroide pleiotrópico que está envolvido em inúmeros processos fisiológicos, incluindo o desenvolvimento do sistema reprodutivo feminino, regulação do metabolismo, a manutenção das características sexuais secundárias. Além disso, o estrogênio participa do desenvolvimento e funcionamento do pulmão em homens e mulheres por meio da ativação de seus receptores, que são amplamente expresso no epitélio pulmonar. Sua ligação a esses receptores provoca uma sinalização celular de caráter genômico por meio da transcrição do RNAm ou por mecanismos de cascatas de reações citoplasmáticas (RODRIGUEZ-LARA; HERNANDEZ-MARTINEZ; ARRIETA, 2018; ZHANG *et al.*, 2009).

Os ovários são a principal fonte de estrogênio circulante. No entanto, existem muitos tecidos que têm a capacidade de sintetizar estrogênios a partir de andrógenos e usá-lo de forma parácrina ou intrácrina, por exemplo, o tecido adiposo pode contribuir significativamente com a quantidade circulante de estrogênios, o encéfalo e as adrenais podem também sintetizar pequenas quantidades. O principal produto secretório é o estradiol, sintetizado pelas células granulosas, a partir de precursores androgênicos (androstenediona ou testosterona), proporcionados pelas células da teca. O estrogênio mais potente de ocorrência natural nos seres humanos é o E-estradiol, seguido pelo estrona e pelo estriol. Cada uma de suas moléculas é um esteróide de 18 carbonos contendo um anel fenólico A (anel aromático com um grupo hidroxil no carbono 3) e um grupamento E-hidroxila ou cetona na posição 17 do anel D. (JÚNIOR GIMENES, 2013)

Os estrógenos apresentam-se sob três formas diferentes: estrona (E1) mais importante após a menopausa quando é sintetizado no tecido adiposo a partir da desidroepiandrosterona (DHEA) liberada pelas adrenais, 17  $\beta$ -estradiol (E2) o esteroide mais potente sintetizado pelos ovários, e o estriol (E3) o menos ativo eles, produzido principalmente pela placenta. O E2 é o estrogênio predominante durante os anos reprodutivos tanto em termos de níveis séricos absolutos como em termos de atividades estrogênicas, tendo inúmeros efeitos sobre a cognição, funções cerebrais e apresentando um importante papel cardioprotetor (FORTES, 2017).

Os efeitos dos hormônios sexuais resultam fundamentalmente da sua interação com receptores localizados em diversos tecidos e células. Os receptores para o estradiol são classificados em ER -  $\alpha$  e ER-  $\beta$ , podem ser encontrados na superfície da membrana celular ou no núcleo. O ER - $\alpha$  ativa diretamente a produção de Oxido Nítrico no endotélio, por um efeito

não genômico, já o ER-  $\beta$  exerce uma ação genômica com efeito geral antiaterogênica e antiproliferativa. Ao se acoplar com seu receptor ocorre ativação por uma dimerização do receptor, que aumenta a afinidade com o DNA. Ao se ligar ao DNA, o complexo receptor + DNA recruta uma cascata de coativadores e proteínas para a região promotora dos genes-alvo. Esse tipo de interação do hormônio com o DNA é chamado de via genômica (MELGAREJO, 2014; FABRICIO *et al.*, 2016).

Nos pulmões, a expressão do receptor ER- $\beta$  é duas vezes maior que a do receptor ER- $\alpha$ , a maior parte da expressão se encontra no citoplasma, mas uma menor parcela é observada na mitocôndria e no núcleo. O ER- $\alpha$  garante que os pulmões se diferenciem adequadamente durante o desenvolvimento, levando a um número normal de alvéolos por área de superfície. Por outro lado, o ER- $\beta$ , modula o desenvolvimento da matriz extracelular, levando à pressão de recolhimento do tecido elástico normal nos pulmões (TAM *et al.*, 2011).

Esses receptores pertencem à superfamília de receptores hormonais nucleares que ao formarem o complexo hormônio-receptor passam a ativar diferentes fatores de transcrição gênica. O gene responsável para expressão da proteína do receptor de estrogênio alfa (ER-  $\alpha$ ), em humanos, está presente no cromossomo 6 (seis), cuja expressão origina uma proteína de 595 resíduos de aminoácidos, já o gene que expressa na proteína do receptor de estrogênio beta (ER-  $\beta$ ) humana é encontrado no cromossomo 14(quatorze), levando a expressão da proteína com 590 aminoácidos (PEDROSA *et al.*, 2014).

## **2.2- Pulmão e seus Aspectos Histológicos**

O sistema respiratório é constituído por uma porção condutora (nariz, faringe, laringe e traqueia) e por uma porção respiratória onde ocorre a hematose (pulmões e brônquios). Possui outras diversas funções como: fonação, termorregulação, manutenção do equilíbrio ácido – base, metabolização de substâncias como a serotonina, prostaglandina, corticoides e leucotrienos. (ANGELIN *et al.*, 2012; JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2013). Recentemente, supõe-se ser um reservatório de células progenitoras hematopoéticas e importante local de produção de plaquetas (LEFRANÇAIS *et al.*, 2017). A porção respiratória é revestida por um epitélio pseudoestratificado cilíndrico ciliado e com grande quantidade de células caliciformes, tem a função de filtrar, aquecer e umedecer o ar inspirado visando proteger o delicado revestimento dos alvéolos pulmonares (JUNQUEIRA & CARNEIRO, 2013).

Os pulmões são órgãos pares fundamentais no processo respiratório, estão situados na

cavidade torácica. O pulmão direito possui três lobos, superior, médio e inferior que são divididos entre si pela fissura oblíqua (divide o lobo superior do médio) e horizontal (divide o lobo médio do inferior). O pulmão esquerdo possui dois lobos, superior e inferior, que são divididos pela fissura oblíqua. Cada lobo pulmonar recebe seu próprio brônquio lobar que no interior do pulmão estes brônquios lobares se ramificam e dão origem aos brônquios segmentares estes por sua vez originam os bronquíolos respiratórios (TORTORA, 2010; GUYTON, 2008).

Os alvéolos correspondem à última porção da árvore brônquica, são responsáveis pelo aspecto esponjoso do parênquima pulmonar. Microscopicamente são semelhantes aos favos de colmeia cortados de um lado, revestidos por epitélio simples pavimentoso, sustentado por uma membrana basal elástica, na qual é nutrida por uma rede de capilares sanguíneos. As paredes alveolares são formadas por dois tipos de células pneumócitos tipo I e pneumócitos tipo II. Os pneumócitos tipo I (célula alveolar pavimentosa) constituem uma barreira que possibilita as trocas gasosas e impede a passagem de líquido do interstício para o interior dos alvéolos. Os pneumócitos tipo II (células septais) localizam-se entre as células alveolares pavimentosas, apresentam microvilosidades, tem a função de secretar o líquido alveolar, incluso neste líquido está um surfactante constituído por uma mistura complexa de fosfolipídios e lipoproteínas que reduz a tensão superficial dos alvéolos diminuindo assim a tendência destes colabarem (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2008); (TORTORA, 2010; GUYTON, 2008; PARANAÍBA *et al.*, 2016; SILVA *et al.*, 2012)

### **2.3- Função pulmonar e menopausa**

O sistema respiratório é um dos primeiros sistemas a ser afetado durante o processo de envelhecimento, a deficiência de estradiol após a menopausa acelera os efeitos adversos da envelhecimento na mecânica respiratória. Ocorre alterações na caixa torácica, bem como a redução da retração elástica do pulmão, redução da elasticidade dos alvéolos, da complacência torácica e da força dos músculos respiratórios, consequentemente subtração da capacidade vital (BORGES *et al.*, 2015; FECHINE *et al.*, 2012).

Mulheres durante a menopausa tem maior predisposição a desenvolver problemas respiratórios devido às oscilações hormonais, que resulta em alterações da função pulmonar, uma vez que o estradiol tem efeito anti-inflamatorio sobre o parênquima pulmonar (SATHISH; MARTIN; PRAKASH, 2015).

Existem fortes evidências que o estrogênio é o hormônio ovariano responsável por

manter a estabilidade estrutural alveolar e por induzir a regeneração alveolar em mulheres. Com a diminuição circulante deste hormônio a área alveolar aumenta, porém a área de superfície alveolar e o número de alvéolos diminuem com a idade devido ao rompimento dos septos alveolares (STUPINA et al., 1985; MASSARO et al., 2006).

O envelhecimento pulmonar está associado ao aumento dos espaços alveolares, diminuição da superfície de troca gasosa e perda de tecido de sustentação das vias áreas periféricas, culminando em diminuição das fibras elásticas com aumento do volume residual e da capacidade residual funcional (PETTA, 2014).

### **3 OBJETIVOS**

#### **3.1 Objetivo Geral**

Analisar as características microscópicas pulmonares de ratas ovariectomizadas através de histomorfometria.

#### **3.2 Objetivos Específicos**

- Determinar a fração volumétrica e volume total do parênquima pulmonar.
- Quantificar o número de alvéolos, a área e perímetro destes por campo.
- Comparar os resultados obtidos nos animais ovariectomizados com aqueles obtidos em um grupo controle (sham-ovariectomizados) através de análise estatística.

## 4 ARTIGO

**ANÁLISE HISTOLÓGICA DO PULMÃO DE RATAS WISTAR  
SUBMETIDAS A OVARIECTOMIA**

**HISTOLOGICAL ANALYSIS OF WISTAR RATS LUNG SUBMITTED TO  
OVARIECTOMY**

Raquel da Silva Cavalcante<sup>1</sup>; Jeanderson Marcelino da Silva<sup>1</sup>; Maria Nayara de Lima Silva<sup>1</sup>;  
Wanessa Botelho Marques Cabral<sup>2</sup>; Katharine Raquel Pereira dos Santos<sup>3</sup>; Francisco Carlos  
Amanajás de Aguiar Júnior<sup>3</sup>

1. Universidade Federal de Pernambuco, Vitória de Santo Antão, PE, Brasil.

2. Doutoranda do Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas, Recife, PE, Brasil

3. Professor Associado II da Universidade Federal de Pernambuco, Vitória de Santo Antão,  
PE, Brasil.

**RESUMO**

**Introdução:** As mulheres durante a menopausa têm maior predisposição a desenvolver problemas respiratórios devido as oscilações hormonais que diminuem a expressão dos receptores de estradiol. **Objetivo:** Analisar as características histológicas de ratas Wistar submetidas a ovariectomia através de histomorfometria. **Métodos:** Foram utilizadas 48 ratas da linhagem Wistar, divididas em grupo GI (ratas sham-ovariectomizadas) e grupo GII que (ratas ovariectomizadas). Decorrido o período de 3 meses, 6 meses e 1 ano, os animais foram anestesiados e eutanasiados o órgão foi coletado e processado seguindo a técnica histológica de rotina, posteriormente foram corados em hematoxilina e eosina (H.E.) para análise histomorfométrica. **Resultados:** Observou-se diminuição percentual da área ocupada pelo bronquíolos terminais aos 3 meses (GI 10,14%; GII 8,31%; p= 0,003), 6 meses (GI 17,99%; GII 13,24%; p=0,002) e 1 ano ( GI 17,30%; GII 14,07%; p= 0,002), aumento percentual da área alveolar aos 6 meses (GI 65,18%; GII 71,13%; p= 0,004)e 1 ano(GI 59,38%; GII 65,57%; p=0,005), diminuição da área alveolar ( $\mu\text{m}^2$ )aos 3 meses (GI  $26,17 \pm 22,92$ ; GII  $21,58 \pm 15,29$ ; p=0,001), e aos 6 meses há um aumento tanto do perímetro( $\mu\text{m}$ ) (GI  $2,31 \pm 1,15$ ; GII  $2,50 \pm 1,37$ ; p=0,001) quanto da área alveolar ( $\mu\text{m}^2$ ) (GI  $19,44 \pm 16,12$ ; GII  $37,19 \pm 32,40$ ; p= 0,001), também

foi observado diminuição da área ocupada pelas fibras (GI 0,86%; GII 0,09%;  $p=0,003$ ), e aumento da área dos vasos sanguíneos (GI 0,58%; GII 1,57%;  $p=0,002$ ) com 1 ano. **Conclusão:** Infere-se que a cessação dos hormônios ovarianos causa alterações nas estruturas do parênquima e do estroma pulmonar que podem comprometer a mecânica ventilatória.

**Palavras-chave:** Pulmão; Hormônio; Menopausa

## ABSTRACT

**Introduction:** Women during menopause are more likely to develop respiratory problems due to hormonal oscillations that decrease the expression of estradiol receptors. **Objective:** To analyze the histological characteristics of Wistar rats submitted to ovariectomy through histomorphometry. **Methods:** 48 Wistar rats were divided into GI (sham-ovariectomized rats) and GII rats (ovariectomized rats). After the period of 3 months, 6 months and 1 year, the animals were anesthetized and euthanized. The organ was collected and processed following the routine histological technique, later stained in hematoxylin and eosin (H.E.) for histomorphometric analysis. **Results:** Percentage decrease of the area occupied by terminal bronchioles at 3 months (GI 10,14%; GII 8,31%;  $p=0,003$ ), 6 months (GI 17,99%; GII 13,24%;  $p=0,002$ ) and 1 year (GI 17,30%; GII 14,07%;  $p=0,002$ ), percentage increase of alveolar area at 6 months (GI 65,18%; GII 71,13%;  $p=0,004$ ) and 1 year (GI 59,38%; GII 65,57%;  $p=0,005$ ), decreased alveolar area ( $\mu\text{m}^2$ ) at 3 months (GI  $26,17 \pm 22,92$ ; GII  $21,58 \pm 15,29$ ;  $p=0,001$ ) and at 6 months there is an increase in both the perimeter ( $\mu\text{m}$ ), (GI  $2,31 \pm 1,15$ ; GII  $2,50 \pm 1,37$ ;  $p=0,001$ ) and alveolar area ( $\mu\text{m}^2$ ) (GI  $19,44 \pm 16,12$ ; GII  $37,19 \pm 32,40$ ;  $p=0,001$ ), also observed a decrease in the area occupied by the fibers (GI 0,86%; GII 0,09%;  $p=0,003$ ), and increased blood vessel area (GI 0,58%; GII 1,57%;  $p=0,002$ ), with year time. **Conclusion:** It is inferred that the cessation of ovarian hormones causes changes in the structures of the parenchyma and pulmonary stroma that may compromise ventilatory mechanics.

**Key words:** Lung; Hormone; Menopause

## INTRODUÇÃO

O processo de transição demográfica que vem acontecendo nas últimas décadas está transformando o perfil epidemiológico do país, a população com mais de 60 anos cresceu

consideravelmente, passando de 7,3 milhões para 14,5 milhões. E, segundo a Organização Mundial de Saúde (OMS) estima-se que, até 2025, o Brasil alcance a posição do sexto país no mundo em número de idosos<sup>(1,2)</sup>.

O envelhecimento promove uma série de mudanças físicas, fisiológicas e psicológicas, gerando declínio de diferentes funções motoras, cognitivas e endócrinas. Com o aumento da expectativa de vida, as mulheres passaram a viver cerca de um terço de suas vidas no climatério, período que envolve o declínio da função ovariana. O hipoestrogenismo resultante desta fase predispõem as mulheres a desenvolverem inúmeras doenças não transmissíveis, incluindo doenças cardíacas, acidente vascular cerebral, câncer e doenças respiratórias crônicas<sup>(3)</sup>.

A função ovariana é regulada pelo eixo hipotálamo-hipofisário-ovariano, a partir de um neuro-hormônio elaborado no hipotálamo – o hormônio liberador de gonadotrofinas (GnRH), a hipófise secreta os hormônios folículo estimulante (FSH) e luteinizante (LH). O FSH regula o crescimento folicular e a produção crescente de estradiol pelas células da granulosa e o LH é responsável por aumentar a captação de colesterol e estimular as células intersticiais da teca dos folículos ovarianos a secretar androstenediona e testosterona<sup>(4,5)</sup>.

O climatério, refere-se ao ciclo da vida da mulher em que abrange os períodos de pré-menopausa, menopausa e pós-menopausa, corresponde a transição da fase reprodutiva para a não reprodutiva, ocorre geralmente na faixa etária de 45 a 65 anos. É caracterizado pela queda progressiva dos níveis circulantes de estrogênio e interrupção dos ciclos menstruais. A menopausa é um marco natural no processo de envelhecimento feminino tem início a partir da data da última menstruação, consiste na cessação permanente da menstruação, após 12 meses de amenorreia, em média ocorre aos 51 anos de idade.<sup>(6-10)</sup>

Sob o aspecto morfofuncional do sistema respiratório, as modificações inerentes do envelhecimento afetam desde os mecanismos de controle da função pulmonar até as estruturas parenquimatosas, devido às alterações corporais intrínsecas a este processo como a diminuição da estatura, da massa corporal e a substituição dos músculos por tecido adiposo, além de provocar dilatação dos alvéolos e dos ductos alveolares sem destruição dos septos alveolares e modificações do tecido conjuntivo<sup>(11)</sup>.

A saúde da mulher no período pós menopausa torna-se cada vez mais importante, os efeitos da supressão estrogênica compromete a função de inúmeros tecidos e sistemas fisiológicos, a respeito do sistema respiratório os impactos da cessação de estradiol ainda não são amplamente elucidados, portanto objetivou-se neste estudo avaliar os aspectos histológicos do pulmão de ratas *Wistar* submetidas a ovariectomia.

## **MATERIAIS E MÉTODO**

### **Obtenção dos Animais.**

Neste projeto foram utilizados 48 ratas de linhagem Wistar (*Rattus Norvegicus Albinus*), adultas jovens, pesando entre 100g e 200g, oriundas do Biotério do Departamento de Nutrição - UFPE. Os animais foram mantidos em um período de 10 dias no biotério do Centro Acadêmico de Vitória-CAV/UFPE para adaptação ao novo ambiente. Durante todo protocolo experimental receberam ração e água *ad libitum*. Todo protocolo experimental foi previamente autorizado pelo Comitê de Ética em Experimentação Animal CCB/UFPE (processo 0009/2017).

### **Grupos experimentais**

Passando o período de aclimação os animais foram aleatoriamente divididos em dois grupos (cada grupo com 8 animais): Grupo I: ratas sham- ovariectomizadas com 60 dias de idade e Grupo II: ratas ovariectomizadas com 60 dias de idade.

### **Procedimentos cirúrgicos.**

Dez minutos antes do procedimento cirúrgico foi realizada a medicação antibiótica (Ampicilina sódica) 20mg/kg por via intraperitoneal. A ooforectomia foi realizada com os animais pertencentes a GII após anestesia com 0,1 ml de xilazina (20mg/ml) e quetamina (50 mg/ml) por 100 gramas de peso, por via intraperitoneal. Os animais foram posicionados lateralmente para a localização dos ovários. Foi realizada tricomia manual bilateralmente e antisepsia com álcool 70% na região a ser incisada. Ocorreu divulsão dos tecidos adiposo e muscular subjacente até exposição do ovário. A ligadura foi realizada utilizando-se fio de nylon seguindo a remoção do órgão. Em seguida, os órgãos removidos foram fixados em formol tamponado a 10% e processados seguindo a técnica histológica de rotina para confirmação da remoção bilateral dos ovários. Os animais do grupo GI passaram pelos mesmos procedimentos cirúrgicos descritos acima, porém não sofreram remoção bilateral dos ovários.

No período pós-operatório os animais de ambos os grupos foram colocados em gaiolas isoladas para a recuperação anestésica, com administração de dipirona 200mg/kg por via oral em dose única. Após a fase pós-operatória, os animais foram acomodados em gaiolas e separados nas condições de ciclo claro/escuro 12/12h.

Decorrido um período de 3 meses, 6 meses e 1 ano os animais foram novamente pesados, anestesiados e eutanasiados por perfusão intracardíaca inicialmente com soro fisiológico (0,9%) e então com formaldeído a 10% neutro tamponado (NBF). Após a toracotomia, o pulmão direito de cada animal foi removido, sendo imediatamente pesado e mergulhado em formaldeído a 10% neutro tamponado (NBF) por um período de 48h para posterior processamento histológico.

#### **Processamento do material obtido.**

Os órgãos fixados na solução de formol a 10 % neutro tamponado (NBF) foram clivados na região do lobo superior direito. Após esse procedimento, os fragmentos obtidos foram desidratados em álcool etílico em concentrações crescentes, diafanizados pelo xilol, impregnados e incluídos em blocos de parafina. Os blocos foram cortados em micrótomo (Leica RM 2125) ajustado para 4 $\mu$ m e cortes semi-seriados foram corados por Hematoxilina e Eosina (H.E.) para a avaliação histológica e morfométrica.

#### **Avaliação histológica e morfométrica.**

Inicialmente foi realizada uma descrição dos achados microscópicos nos preparados histológicos confeccionados. Imagens digitais de 20 campos aleatórios e não justapostos do parênquima pulmonar foram obtidas através câmera digital (Moticam 3.0) acoplada ao microscópio óptico (Nikon-E200), sob foco fixo e clareza de campo, com aumento final de 100X utilizando o *software* Motic Images Plus 3.0. As fotomicrografias foram avaliadas através do software ImageJ versão 1.50 (Research Services Branch, U.S. National Institutes of Health, Bethesda, MD, USA.), os plugins “cell counter”, “grid”, “measure” e “measure and label” foram utilizados na determinação da fração volumétrica do parênquima pulmonar (alvéolos e ductos alveolares) conforme metodologia descrita por Willet *et al*, 2000. Assim, a fração volumétrica do parênquima e do estroma pulmonar foi determinada através da sobreposição de um “grid” nas imagens digitais histológicas obtidas. A fração de volume é igual a  $P_i/P_t$ , onde  $P_i$  representa o número de pontos de teste que atingem as estruturas do parênquima (brônquios, bronquíolos, bronquíolos terminais e bronquios respiratório) e do estroma (cartilagem, músculo, fibras, tecido linfóide associados a mucosas e vasos sanguíneos) pulmonar e  $P_t$  é o número total de pontos presentes no “grid”. Para a determinação do número e média da área e perímetro dos alvéolos por campo empregou-se a metodologia descrita por Okamoto *et al*, 2009. Toda a avaliação microscópica e morfométrica foi realizada de uma forma cega sem o

observador ter conhecimento do grupo a ser analisado. Por fim, calculou-se as médias e os desvios-padrões para cada uma das variáveis analisadas.

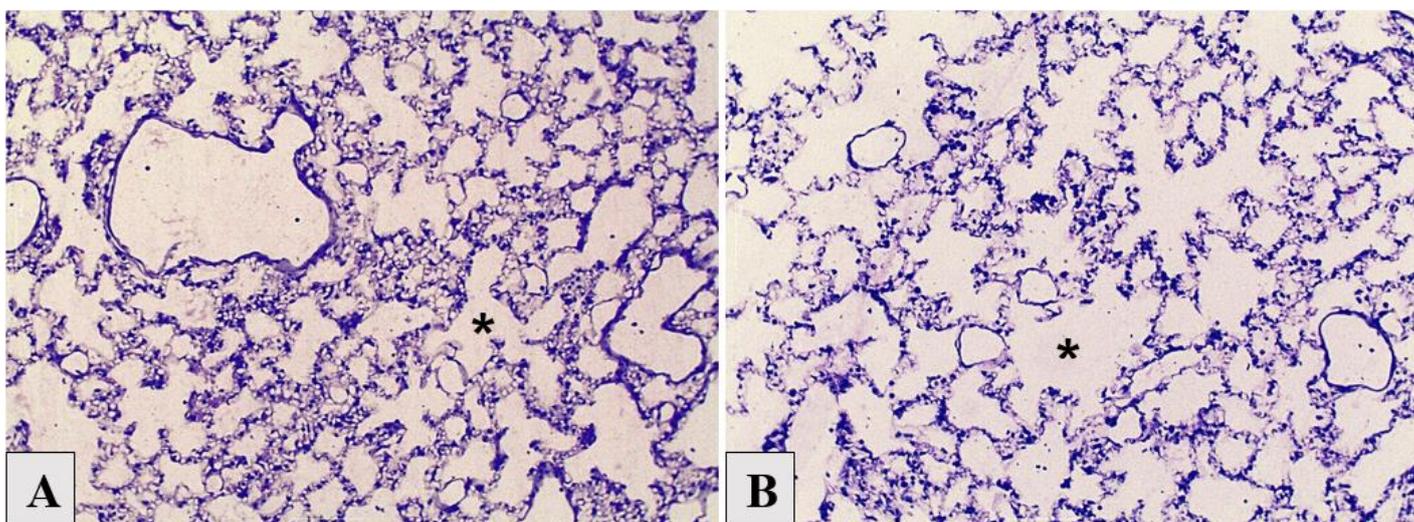
### **Análise estatística.**

As mensurações obtidas através da avaliação histomorfométrica foram inicialmente avaliadas pelo teste de Kolmogorov-Smirnov para verificação do padrão de distribuição dos dados e posteriormente através do teste U de Mann-Whitney com o intuito de se verificar possíveis diferenças entre os grupos. Para tanto, adotou-se o nível de significância de 5% ou  $p < 0,05$ .

## **RESULTADOS**

O tecido que constitui o parênquima pulmonar é formado por alvéolos responsáveis por efetuar as trocas gasosas, estão apensos aos bronquíolos que são as últimas ramificações da árvore brônquica. Microscopicamente são revestidos por epitélio simples pavimentoso, separados por septos interalveolares formados por dois tipos de células pneumócitos tipo I e pneumócitos tipo II. O estroma pulmonar corresponde ao tecido de sustentação do arranjo alveolar, é composto principalmente por fibras elásticas e fibras colágenas tipo III<sup>(14,15)</sup>.

### **Análise da Área Alveolar**



**Figura 1-** Espaço alveolar dos Grupos Avaliados num corte histológico do Pulmão. Onde observa-se a área ocupada pelos alvéolos (\*). Coloração Hematoxilina-Eosina (H.E.), sob o aumento de 100x. A: grupo sham-ovariectomizado. B: grupo ovariectomizado.

**Tabela 1** - Porcentagem das estruturas que formam o parênquima pulmonar, nos diferentes grupos avaliados.

<b>Variáveis</b>	<b>GI (3 meses)</b>	<b>GII (3 meses)</b>	<b>Valor de p (<math>\leq 0,005</math>)</b>
<b>Brônquios</b>	1,89%	2,36%	0,456
<b>Bronquíolos</b>	1,09%	1,12%	0,685
<b>Bronquíolos terminais</b>	10,14%	8,31%	0,003*
<b>Bronquíolos respiratórios</b>	13,62%	13,68%	0,276
<b>Alvéolos</b>	73,24%	74,50%	0,078
<b>Variáveis</b>	<b>GI (6 meses)</b>	<b>GII (6 meses)</b>	<b>Valor de p (<math>\leq 0,005</math>)</b>
<b>Brônquios</b>	1,57%	2,04%	0,833
<b>Bronquíolos</b>	2,33%	1,55%	0,106
<b>Bronquíolos terminais</b>	17,99%	13,24%	0,002*
<b>Bronquíolos respiratórios</b>	12,91%	12,02%	0,092
<b>Alvéolos</b>	65,18%	71,13%	0,004*
<b>Variáveis</b>	<b>GI (1 ano)</b>	<b>GII (1 ano)</b>	<b>Valor de p (<math>\leq 0,005</math>)</b>
<b>Brônquios</b>	5,29%	3,76%	0,752
<b>Bronquíolos</b>	1,39%	1,29%	0,955
<b>Bronquíolos terminais</b>	17,30%	14,07%	0,002*
<b>Bronquíolos respiratórios</b>	13,54%	11,09%	0,197
<b>Alvéolos</b>	59,38%	65,57%	0,005*

\*teste U de Mann-Whitney

A tabela 1 evidencia um aumento em relação ao grupo da área ocupada pelos alvéolos pulmonares(\*) (GII: 6 meses e 1 ano), juntamente com a redução da área ocupadas pelos bronquíolos terminais(\*) (GII:3 meses, 6 meses e 1 ano). Não foram encontradas diferenças significantes para área ocupada pelos brônquios, bronquíolos e bronquíolos respiratórios de todos os grupos.

**Tabela 2** - Média e desvio-padrão da área e do perímetro alveolar dos diferentes grupos analisados

<b>Variáveis</b>	<b>GI (3 meses)</b> (Media ± desvio padrão)	<b>GII (3 meses)</b> (Media ± desvio padrão)	<b>Valor de p (≤ 0,005)</b>
<b>Área (µm<sup>2</sup>)</b>	26,17±22,92	21,58±15,29	0,001*
<b>Perímetro(µm)</b>	2,68±1,47	2,43±1,11	0,010
<b>Variáveis</b>	<b>GI (6 meses)</b> (Media ± desvio padrão)	<b>GII (6 meses)</b> (Media ± desvio padrão)	<b>Valor de p (≤ 0,005)</b>
<b>Área(µm<sup>2</sup>)</b>	19,44±16,12	37,19± 32,40	0,001*
<b>Perímetro(µm)</b>	2,31±1,15	3,35±1,87	0,001*
<b>Variáveis</b>	<b>GI (1 ano)</b> (Media ± desvio padrão)	<b>GII (1 ano)</b> (Media ± desvio padrão)	<b>Valor de p (≤ 0,005)</b>
<b>Área(µm<sup>2</sup>)</b>	20,23±15,76	22,25± 23,69	0,108
<b>Perímetro(µm)</b>	2,32±1,04	2,50±1,37	0,035

\*teste U de Mann-Whitney

A tabela 2 mostra que os animais do GII comparado ao GI demonstram diminuição da área aos 3 meses de idade, enquanto que aos 6 meses há um aumento tanto do perímetro quanto da área alveolar. Já a mesma observação no período de 1 ano não apresentou diferença estatisticamente significativa, apesar que o GII possui uma maior média.

### **Análise do Estroma Pulmonar**

**Tabela 3** - Porcentagem das estruturas que estão presentes no estroma pulmonar, nos diferentes grupos avaliados.

<b>Variáveis</b>	<b>GI (3 meses)</b>	<b>GII (3 meses)</b>	<b>Valor de p (≤0,005)</b>
<b>Cartilagem</b>	0%	0%	0,100
<b>Fibras</b>	20,42%	19,03%	0,349
<b>Músculo liso</b>	16,25%	18,31%	0,257
<b>Tecido linfoide associado a mucosa</b>	13,33%	13,10%	0,305
<b>Vasos sanguíneos</b>	49,98%	49,54%	0,879
<b>Variáveis</b>	<b>GI (6 meses)</b>	<b>GII (6 meses)</b>	<b>Valor de p (≤0,005)</b>
<b>Cartilagem</b>	1,14%	6,27%	0,310
<b>Fibras</b>	57,85%	45,67%	0,981
<b>Músculo liso</b>	22,95%	21,64%	0,889
<b>Tecido linfoide associado a mucosa</b>	9,57%	18,61%	0,295
<b>Vasos sanguíneos</b>	8,42%	7,79%	0,234
<b>Variáveis</b>	<b>GI (1 ano)</b>	<b>GII (1 ano)</b>	<b>Valor de p (≤0,005)</b>
<b>Cartilagem</b>	0%	0,21%	0,317
<b>Fibras</b>	0,86%	0,09%	0,003*
<b>Músculo liso</b>	1,14%	1,27%	0,396
<b>Tecido linfoide associado a mucosa</b>	0,47%	1,07%	0,763
<b>Vasos sanguíneos</b>	0,58%	1,57%	0,002*

\*teste U de Mann-Whitney

A tabela 3 apresenta a distribuição percentual das estruturas histológicas do estroma pulmonar nos vários tempos experimentais, onde só houveram diferença estatísticas no GII (1 ano) em relação a diminuição da área ocupada pelas fibras, e aumento da área dos vasos sanguíneos, pois estes apresentavam dilatação. Porém no GII (3 meses) e GII (6 meses) a quantidade de fibras diminuíram, contudo não foram estatisticamente significantes. Também se observou que os grupos submetidos à ovariectomia, com exceção do GII (3 meses), apresentaram aumento do tecido linfoide associado a mucosa.

## DISCUSSÃO

Mulheres com ciclo reprodutivo normal secretam pelos ovários hormônios esteroidais como os estrogênios e progesteronas. O estrogênio é um hormônio esteroide pleiotrópico que regula inúmeros processos fisiológicos, incluindo o desenvolvimento do sistema reprodutivo feminino, regulação do metabolismo e a manutenção das características sexuais secundárias. No sistema respiratório participa do desenvolvimento e funcionamento do pulmão em homens e mulheres por meio da ativação de seus receptores, que são amplamente expresso no epitélio pulmonar. Sua ligação a esses receptores provoca uma sinalização celular de caráter genômico por meio da transcrição do RNAm ou por mecanismos de cascatas de reações citoplasmáticas<sup>(16,17)</sup>.

A ação dos hormônios sexuais resultam fundamentalmente da sua interação com receptores localizados em diversos tecidos e células. Os receptores para o estradiol são classificados em ER -  $\alpha$  e ER-  $\beta$ , podem ser encontrados na superfície da membrana celular ou no núcleo. Nos pulmões, a expressão do receptor ER- $\beta$  é duas vezes maior que a do receptor ER- $\alpha$ , a maior parte da expressão se encontrada no citoplasma, mas uma menor parcela é observada na mitocôndria e no núcleo. O ER- $\alpha$  garante que os pulmões se diferenciem adequadamente durante o desenvolvimento, levando a um número normal de alvéolos por área de superfície. Por outro lado, o ER- $\beta$ , modula o desenvolvimento da matriz extracelular, levando à pressão de recolhimento do tecido elástico normal nos pulmões<sup>(18)</sup>.

O sistema respiratório é um dos primeiros sistemas a ser afetado durante o processo de envelhecimento. Mulheres durante a menopausa têm maior predisposição a desenvolver problemas respiratórios devido às oscilações hormonais, que resulta em alterações da função pulmonar, uma vez que o estradiol tem efeito anti-inflamatório sobre o parênquima pulmonar<sup>(19)</sup>.

<sup>22</sup>). Amaral et al. (2016) avaliaram a capacidade pulmonar de mulheres no período da menopausa por meio do teste espirométrico, e destacou que quanto mais precoce a cessação da menstruação menor é a função pulmonar. Assim, o significativo aumento da área ocupada pelo alvéolos pulmonares nos grupos experimentais (GII: 06 meses e 01 ano) pode ser associado a supressão dos hormônios ovarianos.

Por outro lado, o aumento da área alveolar no (GII de 03 meses), mesmo sem ser estatisticamente significativo também pode implicado pelo declínio hormonal. Há evidências que o estrogênio é o hormônio ovariano responsável por manter a estabilidade estrutural alveolar e por induzir a regeneração alveolar nas mulheres. A diminuição circulante desse hormônio associado com o envelhecimento promove aumento da área alveolar devido ao rompimento dos septos alveolares resultando na diminuição da superfície respiratória e do número total de alvéolos pulmonares <sup>(24)</sup>. Massaro et al., 2006 observaram que em camundongos submetidos a ovariectomia ou ovariectomia mais reposição hormonal, a menopausa é uma importante causa de perda alveolar acelerada, devido a diminuição dos níveis séricos de estrogênio, porém a terapia hormonal promove a regeneração alveolar. Logo, a ausência de estrogênio implica em diversas modificações dos alvéolos, sendo este o hormônio ovariano responsável por manter o equilíbrio alveolar e induzir a regeneração alveolar em mulheres durante a reposição de estradiol<sup>(26)</sup>. Observamos uma diminuição da área ocupada pelos bronquíolos terminais em todos os grupos experimentais. Isso pode ser associado a uma baixa expressão do receptor-  $\beta$  estradiol, visto que, estes estão presentes no epitélio dos brônquios e com a diminuição da expressão deste receptor haverá uma redução da área ocupada pelo mesmo. Também, os estrogênios são moléculas-chave da sinalização que regula vários processos fisiológicos, como crescimento, desenvolvimento e diferenciação celular<sup>(27)</sup>.

Quanto a área ocupada pelos brônquios, bronquíolos e bronquíolos respiratórios, os resultados demonstram que estes se mantiveram sem alterações significativas. No entanto, com o aumento da área alveolar nos supomos que fisiologicamente ocorra uma diminuição da área ocupada por essas estruturas, uma vez que estão em contato direto com os alvéolos. Além do mais, o aumento da área ocupada pelos alvéolos pulmonares juntamente com o aumento do perímetro alveolar (tabela 2) deve-se a destruição da parede alveolar ocasionando a perda da superfície respiratória processo muito comum em quadros de enfisema pulmonar <sup>(28)</sup>.

Verificou-se também que a cessação dos hormônios ovarianos acarretou diminuição das fibras no (GII: 01 ano) e aumento da área ocupada pelos vasos sanguíneos. Nos tempos experimentais de 6 meses e 1 ano ocorreu aumento do tecido linfóide associado as mucosas,

porém não foram estatisticamente significantes, vale ressaltar que o estrogênio é o hormônio responsável pela proliferação dos linfócitos T e diferenciação, proliferação dos linfócitos B<sup>(29)</sup>.

O envelhecimento pulmonar está associado ao aumento dos espaços alveolares, diminuição da superfície de troca gasosa e perda de tecido de sustentação das vias áreas periféricas, culminando em diminuição das fibras elásticas com aumento do volume residual e da capacidade residual funcional<sup>(30)</sup>. Sendo assim, os resultados encontrados no presente estudo indicam que a ovariectomia provoca modificações na histologia pulmonar de ratas *Wistar*.

## CONCLUSÃO

A supressão dos hormônios ovarianos causa alterações nas estruturas microscópicas do parênquima e do estroma pulmonar, sobretudo na área ocupada pelos alvéolos, bronquíolos terminais e fibras, o que pode comprometer a mecânica ventilatória, uma vez que a distribuição dos receptores de estradiol no pulmão são responsáveis por controlar a composição da matriz extracelular, regeneração alveolar e secreção do surfactante pulmonar.

## REFERENCIAS

1. World Health Organization (WHO). Envelhecimento ativo: uma política de saúde. Trad. de Suzana Gontijo. Brasília: OPAS; 2005
2. Medeiros SG, Morais FRR. Organização dos serviços na atenção à saúde da idosa: percepção de usuárias. *Interface* 2015;109-120. Disponível em: [http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S141432832015000100109&lng=en](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S141432832015000100109&lng=en).
3. Gonçalves JT, Silveira MF, Campos MC, Costa LH. Overweight and obesity and factors associated with menopause. *Ciencia & saude coletiva*. 2016 Apr;21(4):1145-56.
4. Jia M, Dahlman-Wright K, Gustafsson JA. Estrogen receptor alpha and beta in health and disease. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab* (2015) 29:557-68. Disponível em:

<https://www.journals.elsevier.com/best-practice-and-research-clinical-endocrinology-and-metabolism>

5. Borges ND, Ferreira RG, Rodrigues TN, Bonardi JM. Envelhecimento e Força muscular Respiratória de Idosos Independentes Residentes de uma Instituição de Longa Permanência em Regime Aberto. *Jornal de Ciências Biomédicas e Saúde*. 2015 Nov 30;1(2):4.
6. Carvalho AFN, Cabau DALG, Miquelão AKMB, Hasenack BS, Pinheiro EHT, Marquez AS. Prevalência de cervicite, vaginites e vaginose bacteriana em mulheres climatéricas e não climatéricas. *Journal of Health Sciences*. 2015;9:37–43.
7. Valença CN, Nascimento FJM, Germano RM. Mulher no climatério: reflexões sobre desejo sexual, beleza e feminilidade. *Saúde Soc*. 2010;19:273–85.
8. Lopes MEL, Costa SFG da, Gouveia EML et al. Assistência à mulher no climatério: discurso de enfermeiras. *Rev enferm UFPE on line*, Recife, 7(1):665-71, mar., 2013. Disponível em: <https://periodicos.ufpe.br/revistas/revistaenfermagem/>
9. Selbac MT, Fernandes CGC, Marrone LCP et al. Mudanças comportamentais e fisiológicas determinadas pelo ciclo biológico feminino – climatério à menopausa. *Aletheia* 2018;51, n.1-2:177-190.
10. Pereira DCL, Lima SMRR. Prevalência de sobrepeso e obesidade em mulheres após a menopausa. *Arq Med Hosp Fac Cienc Med Santa Casa São Paulo*. 2015;60:1-6.
11. SGARIBOLDI, Dayla et al. Influence of body mass index and age on the lung function of obese women. *Rev Br Geriatria e Gerontologia*, [s.l.], v. 19, n. 4, p.635-641, ago. 2016. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1590/1809-98232016019.150073>.
12. Willet KE, Jobe AH, Ikegami M, Newnham J, Brennan S, Sly PD. Antenatal endotoxin and glucocorticoid effects on lung morphometry in preterm lambs. *Pediatr Rev*. 2000 Dec;48(6):782.
13. Okamoto CT, Bahr JA, Silva LLG, Noronha L. Análises histopatológica e morfométrica no diagnóstico da “nova” displasia broncopulmonar e comparação clinicopatológica com a forma clássica da doença. *J Bras Patol Med Lab*. 2009; 155-160.

14. Paranaíba JF, Lima FC, Pereira DK, Araújo EG, Pereira KF. Morphohistology of the lungs and bronchial tree of the Procyon cancrivorus (Carnivora: Procyonidae). *Arq Br Med Vet Zoot.* 2016 Apr;68(2):353-60.
15. Silva LC, Lessa TB, da Silva Santos PR, Rici RE, Bombonato PP, Ambrósio CE. Arquitetura da árvore brônquica no sagui-de-tufo-preto: um modelo animal experimental para lesões do sistema respiratório. *Arc Vet Sci.* 2012 Oct 4;17(4).
16. Rodriguez-Lara V, Hernandez-Martinez JM, Arrieta O. Influence of estrogen in non-small cell lung cancer and its clinical implications. *J Thorac Dis.* 2018;10:482–97. Disponível em: <http://jtd.amegroups.com/article/view/18368/14711>
17. Zhang G, Liu X, Farkas AM, Parwani AV, Lathrop KL, Lenzner D, Land SR, Srinivas H. Estrogen receptor  $\beta$  functions through nongenomic mechanisms in lung cancer cells. *Mol Endocrinol.* 2009 Feb 1;23(2):146-56.
18. Simoes DC, Psarra A-MG, Mauad T, Pantou I, Roussos C, Sekeris C, et al. Glucocorticoid and estrogen receptors are reduced in mitochondria of lung epithelial cells in asthma. *PLoS ONE.* 2012;7:1e12.
19. Sathish V, Martin YN, Prakash YS. Sex steroid signaling: Implications for lung diseases. *Pharmacol Ther.* 2015; 150:94-108. Disponível em: <https://www.journals.elsevier.com/pharmacology-and-therapeutics>
20. Zeglin Nicolau JA, Foresti Faria P, de Oliveira Marques L, Fabiane Hoepers D, Dias da Rocha A, Lira Sobral AC. Análise do efeito do estradiol e progesterona tópicos na cicatrização de feridas em ratos. *Surgical & Cosmetic Dermatology.* 2014;6(2).
21. Fachine BR, Trompieri N. O processo de envelhecimento: as principais alterações que acontecem com o idoso com o passar dos anos. *InterSciencePlace.* 2015 Jun 11;1(20).
22. Triebner K, Accordini S, Calciano L, Johannessen A, Benediksdóttir B, Bifulco E, Demoly P, Dharmage SC, Franklin KA, Garcia-Aymerich J, Blanco JA. Exogenous female sex steroids may reduce lung ageing after menopause: A 20-year follow-up study of a general population sample (ECRHS). *Maturitas.* 2019 Feb 1;120:29-34.
23. Amaral AF, Strachan DP, Gómez Real F, Burney PG, Jarvis DL. Lower lung function associates with cessation of menstruation: UK Biobank data. *Eur Respir J.* 2016;48:1288–1297.

24. Stupina AS, Chermiy IM. Sterologic analysis of the respiratory zone of the lungs of the laboratory rat and man during aging. *Arkh Anat Gistol Embriol* 1985;88:65–69.
25. Massaro D, Massaro GD. Toward therapeutic pulmonary alveolar regeneration in humans. *Proc Am Thorac Soc*. 2006 Nov;3(8):709-12.
26. Stipic I, Polasek O, Vulic M, Punda H, Grandic L, Strinic T. Estrogen replacement therapy improves pulmonary function in postmenopausal women with genital prolapse. *Rejuvenation Res* 2012;15:596-600.
27. Perez PA, Petiti JP, Picech F, Guido CB, dV Sosa L, Grondona E, Mukdsi JH, De Paul AL, Torres AI, Gutierrez S. Estrogen receptor  $\beta$  regulates the tumoral suppressor PTEN to modulate pituitary cell growth. *J Cell Physiol*.. 2017 Feb;233(2):1402-13.
28. Di-Petta A. Características histopatológicas do enfisema pulmonar em modelo experimental. *Einstein*. 2014;12(3):382-3..
29. Faria AM, Simões RS, Santos MA, Júnior JMS, Carbonel AAF. Pós-menopausa e sistema imune. *Reprod Clim*. 2013;28(1):30–35
30. Glassberg MK, Choi R, Manzoli V, Shahzeidi S, Rauschkolb P, Voswinckel R, et al. 17 $\beta$ -estradiol replacement reverses age-related lung disease in estrogen-deficient C57BL/6J mice. *Endocrinology*, 2014. 155(2): p. 441-8

## **5 CONCLUSÃO**

A supressão dos hormônios ovarianos causa alterações nas estruturas microscópicas do parênquima e do estroma pulmonar, sobretudo na área ocupada pelos alvéolos, bronquíolos terminais e fibras, o que pode comprometer a mecânica ventilatória, uma vez que a distribuição dos receptores de estradiol no pulmão são responsáveis por controlar a composição da matriz extracelular, regeneração alveolar e secreção do surfactante pulmonar.

## REFERÊNCIAS

ADRIANA DE FÁTIMA, N. Carvalho et al. Prevalência de cervicite, vaginites e vaginose bacteriana em mulheres climatéricas e não climatéricas. **Journal of Health Sciences**, Londrina, 9, n. 1, p. 37-43, 2015.

ANGELIM, Jacqueline Loureiro et al. Avaliação de três métodos de aerostasia bronquial-estudo experimental em árvores traqueobrônquicas de suínos. **Brazilian Journal of Veterinary Medicine**, Rio de Janeiro v. 34, n. 4, p. 341-348, 2012.

BORGES, Tiago Ferreira Campos; DA SILVA TAMAZATO, Ana Paula; FERREIRA, Maria Silvana Cardoso. Terapia com Hormônios Sexuais Femininos e Fenômenos Tromboembólicos: uma Revisão de Literatura/Female Sex Hormone Therapy and Thromboembolic Phenomena: Literature Review. **Revista Ciências em Saúde**, v. 5, n. 2, p. 158-168, 2015.

GOMEZ, C; PLACKETT, T; KOVACS, e. Aging and estrogen: Modulation of inflammatory responses after injury. **Experimental Gerontology**, [s.l.], v. 42, n. 5, p.451-456, maio 2007. Elsevier BV. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.exger.2006.11.013>. Acesso em: 10 Jan 2019

FABRICIO, Victor et al. Resveratrol Treatment Normalizes the Endothelial Function and Blood Pressure in Ovariectomized Rats. **Arquivos brasileiros de cardiologia**, São Paulo, v. 108, n. 2, p. 116-121, 2017.

FECHINE, Basílio Rommel Almeida. O processo de envelhecimento: as principais alterações que acontecem com o idoso com o passar dos anos. **Inter Science Place**, [s.l.], v. 1, n. 20, p.106-132, 13 fev. 2012. Interscience Place. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.6020/1679-9844/2007>. Acesso em: 10 Jan 2019

FORTES, Luis Henrique Santos. Efeito do 17 $\beta$  estradiol na amígdala central nas respostas cardiovasculares e comportamentais ao estresse em ratas ovariectomizadas. 2017. 123 f. Tese (Doutorado em Ciências Biológicas) - Núcleo de Pesquisas em Ciências Biológicas, Universidade Federal de Ouro Preto, Ouro Preto, 2017.

GIMENES JÚNIOR, João Antonio. **Papel dos hormônios sexuais femininos na inflamação pulmonar aguda e na reatividade das vias aéreas após instilação nasal de LPS em camundongos**. 2013. Tese (Doutorado em)- Universidade de São Paulo, São Paulo, 2013.

GONÇALVES, Jaqueline Teixeira Teles et al. Sobrepeso e obesidade e fatores associados ao climatério. **Ciência & Saúde Coletiva**, [s.l.], v. 21, n. 4, p.1145-1156, abr. 2016. FapUNIFESP (SciELO). Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1590/1413-81232015214.16552015>. Acesso em: 20 Fev 2019

GUYTON, A. C.; HALL. J. E. **Fisiologia humana e mecanismos de doenças**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2008.

IGNACIO D. L., FRANKENFELD T. G. P., FORTUNATO R. S., VAISMAN M., WERNECK-DE-CASTRO J. P. S., CARVALHO D. P. Regulação da massa corpórea pelo

estrogênio e pela atividade física. **Arq Bras Endocrinol Metab.**, São Paulo, v. 53, n. 3, p.310-17, 2009.

JIA, Min; DAHLMAN-WRIGHT, Karin; GUSTAFSSON, Jan-Åke. Estrogen receptor alpha and beta in health and disease. **Best Practice & Research Clinical Endocrinology & Metabolism**, [s.l.], v. 29, n. 4, p.557-568, ago. 2015.

JUNQUEIRA, L.C.; CARNEIRO, J. **Histologia Básica**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2013.

LAZZARETTI, Camilla et al. Comparação da resposta inflamatória aguda entre animais machos e fêmeas da linhagem wistar. **Revista EVS-Revista de Ciências Ambientais e Saúde**, Goiânia, v. 37, n. 2, p. 329-349, 2010.

LEFRANÇAIS, Emma et al. The lung is a site of platelet biogenesis and a reservoir for haematopoietic progenitors. **Nature**, Nova York, v. 544, n. 7648, p. 105, 2017.

LOPES, Maria Emília Limeira et al. Assistência à mulher no climatério: discurso de enfermeiras. **Rev. enferm. UFPE on line**, Recife, v. 7, n. 3, p. 665-671, 2013.

MASSARO, Donald; MASSARO, Gloria DeCarlo. Toward therapeutic pulmonary alveolar regeneration in humans. **Proceedings of the American Thoracic Society**, Nova York, v. 3, n. 8, p. 709-712, 2006.

MEDEIROS, Suzane Gomes de; MORAIS, Fátima Raquel Rosado. Organização dos serviços na atenção à saúde da idosa: percepção de usuárias. **Interface - Comunicação, Saúde, Educação**, [s.l.], v. 19, n. 52, p.109-120, mar. 2015.

MELGAREJO, Enrique. Endotelio y mujer: similaridad y diferencias con el hombre. **Anales de la Facultad de Medicina**, Lima, v. 75, n. 4, p. 339-344, 2014.

PARANAÍBA, J.f.f.s. et al. Morfo-histologia dos pulmões e árvore bronquial de *Procyon cancrivorus* (Carnivora: Procyonidae). **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, [s.l.], v. 68, n. 2, p.353-360, abr. 2016.

PEREIRA, Daniella Christiane Leite; LIMA, Sônia Maria Rolim Rosa. Prevalência de sobrepeso e obesidade em mulheres após a menopausa/Prevalence of overweight and obesity in postmenopausal women. **Arquivos Médicos dos Hospitais e da Faculdade de Ciências Médicas da Santa Casa de São Paulo**, São Paulo, v. 60, n. 1, p. 1-6, 2018.

PETTA, Antonio di. Características histopatológicas do enfisema pulmonar em modelo experimental. **Einstein (São Paulo)**, [s.l.], v. 12, n. 3, p.382-383, 29 ago. 2014.

PEDROSA, Diego França et al. Efeitos benéficos do estrogênio no sistema cardiovascular. **PerspectivasOnline 2007-2011**, Vitória, v. 3, n. 12, p. 190-196, 2014.

RODRIGUEZ-LARA, Vianey; HERNANDEZ-MARTINEZ, Juan-manuel; ARRIETA, Oscar. Influence of estrogen in non-small cell lung cancer and its clinical implications. **Journal Of Thoracic Disease**, [s.l.], v. 10, n. 1, p.482-497, jan. 2018

SATHISH, Venkatachalem; MARTIN, Yvette N.; PRAKASH, Y.s.. Sex steroid signaling: Implications for lung diseases. **Pharmacology & Therapeutics**, [s.l.], v. 150, p.94-108, jun. 2015.

SELBAC, Mariana Terezinha et al. Mudanças comportamentais e fisiológicas determinadas pelo ciclo biológico feminino–climatério à menopausa. **Aletheia**, Canoas, v. 51, n. 1 e 2, 2018.

SILVA, Maria CR et al. Análise histomorfométrica dos cardiomiócitos e deposição de colágeno no músculo cardíaco de ratas ooforectomizadas. **Pesqui. vet. bras**, Rio de Janeiro, v. 36, n. 3, p. 216-220, 2016.

SILVA, Luana Célia Stunitz da et al. Arquitetura da árvore brônquica no sagui-de-tufo-preto: um modelo animal experimental para lesões do sistema respiratório. **Archives Of Veterinary Science**, [s.l.], v. 17, n. 4, p.4-17, 2012.

STUPINA, A. S.; CHERNYĪ, IaM. Stereologic analysis of the respiratory zone of the lungs of the laboratory rat and man during aging. **Arkhiv anatomii, gistologii i embriologii**, Leningrad, v. 88, n. 4, p. 61-64, 1985.

TAM, Anthony *et al.* The role of female hormones on lung function in chronic lung diseases. **BMC women's health**, Boston, v. 11, n. 1, p. 1-9, 2011.

TORTORA, G. J, DERRICKSON, B. **Princípios de Anatomia e Fisiologia**. 12<sup>a</sup> ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2010.

VALENÇA, Cecília Nogueira; NASCIMENTO FILHO, José Medeiros do; GERMANO, Raimunda Medeiros. Mulher no climatério: reflexões sobre desejo sexual, beleza e feminilidade. **Saúde e Sociedade**, São Paulo, v. 19, p. 273-285, 2010.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). Envelhecimento ativo: uma política de saúde. Trad. de Suzana Gontijo. Geneva: OPAS, 2005.

ZHANG, GuangFeng et al. Estrogen receptor  $\beta$  functions through nongenomic mechanisms in lung cancer cells. **Molecular endocrinology**, Boston, v. 23, n. 2, p. 146-156, 2009.

## **ANEXO A - INSTRUÇÕES AOS AUTORES**

### **INSTRUÇÕES AOS AUTORES**

#### **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial ( JBPML)**

#### **RESUMOS E UNITERMOS**

Independentemente do idioma no qual o trabalho foi escrito, devem constar dois resumos: um em português (Resumo) e outro em inglês (Abstract). Os resumos devem identificar os objetivos, os procedimentos e as conclusões do trabalho (máximo de 250 palavras para artigos originais e artigos de revisão; e máximo de 100 palavras para relatos de caso e comunicações breves).

Os unitermos, palavras que representam o assunto tratado no trabalho, devem ser em número de três a seis, utilizando o vocabulário controlado Descritores em Ciências da Saúde (DeCS) da BIREME, acrescidos de outros termos, quando necessário. Devem ser apresentados em português e inglês.

#### **AGRADECIMENTOS**

Devem ser breves, diretos e dirigidos apenas à pessoa ou à instituição que contribuiu substancialmente para a elaboração do trabalho. Devem ser incluídos após as conclusões e antes das referências bibliográficas.

#### **ESTRUTURA DO TEXTO**

##### **Artigos originais**

São contribuições destinadas a divulgar resultados de pesquisa original, inédita, que possam ser replicados ou generalizados. Os artigos podem conter até 4 mil palavras. A sua estrutura formal deve seguir o esquema de apresentação do texto para esse tipo de artigo: Introdução, Objetivos, Material e Método, Resultados, Discussão, Conclusões e Referências.

O uso de subtítulos é recomendado, particularmente na Discussão. Implicações clínicas e limitações do estudo devem ser claramente apontadas. Sugere-se o detalhamento do tópico Material e Método. Para esses artigos, exige-se a apresentação de resumos estruturados em português e inglês, com cabeçalhos obedecendo à apresentação formal do artigo: Introdução, Objetivos, Material e Método, Resultados, Discussão, Conclusões e Referências. O *Abstract* (resumo em inglês) deve ser precedido pelo título em inglês. As referências devem aparecer no final do texto, obedecendo às normas especificadas a seguir.

##### **Comunicações breves**

São relatos curtos que devem apresentar: 1) dados de estudos preliminares com achados sugestivos que garantam uma investigação mais definitiva; 2) estudos de replicação; e 3)

estudos negativos de tópicos importantes. Esses artigos devem ter até 1.500 palavras, incluir resumo não estruturado e, no máximo, uma tabela ou figura, além das referências.

### **Arte na ciência**

Nesta seção, serão aceitas manifestações artísticas relacionadas com a ciência e documentações científicas que possam ser consideradas como arte. Incluem-se, mas não esgotam as possibilidades, textos literários, poemas, fotografias, quadros e figuras.

### **Artigos de revisão**

Serão aceitos apenas mediante convite.

Avaliações críticas sistematizadas da literatura sobre determinado assunto, devem incluir conclusões e ter até 5 mil palavras. A organização do texto, com exceção de Introdução, Discussão e Conclusão, fica a critério do autor. Para esses artigos, exige-se um resumo estruturado no idioma do texto e outro em inglês. Uma lista extensa de referências bibliográficas deve aparecer no final do texto.

### **Artigos de atualização**

São trabalhos descritivos e interpretativos com base na literatura recente sobre a situação global em que se encontra determinado assunto. Devem conter até 3 mil palavras. A estrutura do texto fica a critério do autor, mas deve haver um resumo não estruturado no idioma do texto e outro em inglês, além de referências bibliográficas.

### **Relatos de caso**

São trabalhos de observações clinicolaboratoriais originais, acompanhados de análise e discussão. Devem conter até 1.500 palavras. A estrutura deve apresentar, no mínimo, os seguintes tópicos: Introdução, Relato(s) dos(s) caso(s) e Discussão. Incluir um resumo não estruturado no idioma do texto e outro em inglês.

### **Cartas aos editores**

Inclui cartas que visam a discutir artigos recentes publicados na revista ou a relatar pesquisas originais ou achados científicos significativos. Cartas breves, com no máximo 500 palavras (incluindo referências, sem tabelas ou figuras), serão consideradas se estiver explícita a frase "para publicação".

## **REFERÊNCIAS**

As referências bibliográficas devem aparecer no final do artigo, e ser numeradas sucessivamente pela ordem em que são mencionadas pela primeira vez no texto. Devem seguir as normas do Estilo Vancouver. Os títulos dos periódicos deverão ser referidos na forma abreviada de acordo com o Index Medicus (List of Journals Indexed in Index Medicus). Se a lista de referências não seguir a norma adotada, os trabalhos serão imediatamente rejeitados, sem revisão de conteúdo.

Os autores devem certificar-se de que as referências citadas no texto constam da lista de referências com datas exatas e nomes de autores corretamente grafados. A exatidão das referências bibliográficas é de responsabilidade dos autores. Comunicações pessoais, trabalhos inéditos ou em andamento poderão ser citados, quando absolutamente necessários, mas não

devem ser incluídos na lista de referências bibliográficas; apenas mencionados no texto ou em nota de rodapé. A lista de referências deve seguir o estilo dos exemplos abaixo.

**Exemplos:**

- **Artigos de periódicos (um só autor)**  
Fry PH. O significado da anemia falciforme no contexto da 'política racial' do governo brasileiro 1995-2004. *Hist Cienc Saude Manguinhos*. 2005; 12: 347-70. PubMed PMID: 16353330.
- **Artigos de periódicos (até seis autores)**  
Barbosa AJA, Queiroz DM, Mendes EN, Rocha GA, Lima GF Jr, Oliveira CA. Immunocytochemical identification of *Campylobacter pylori* in gastritis and correlation with culture. *Arch Pathol Lab Med*. 1988 May; 112(5): 523-5. PubMed PMID: 3282485.
- **Artigos de periódicos (mais de seis autores)**  
Rocha GA, Queiroz DM, Mendes EN, et al. Indirect immunofluorescence determination of the frequency of anti-H. pylori antibodies in Brazilian blood donors. *Braz J Med Biol Res*. 1992; 25(7): 683-9. PubMed PMID: 1342599.
- **Artigo de periódico on-line**  
Polgreen PM, Diekema DJ, Vandenberg J, et al. Risk factors for groin wound infection after femoral artery catheterization: a case-control study. *Infect Control Hosp Epidemiol* [Internet]. 2006 Jan; 27(1): 34-7. Disponível em: <http://www.journals.uchicago.edu/ICHE/journal/issues/v27n1/2004069/2004069.web.pdf>.
- **Livros no todo (dois autores)**  
Eyre HJ, Lange DP. *Informed decisions: the complete book of cancer diagnosis, treatment, and recovery*. 2nd ed. Atlanta: American Cancer Society; 2002.
- **Capítulos ou parte de livro editado por outro autor**  
Mendenhall WM. Treatment of head and neck cancer. In: DeVita VT Jr, Lawrence TS, Rosenberg SA, editors. *Cancer: principles and practice of oncology*. 9th ed. Philadelphia, PA: Lippincott Williams & Wilkins; 2011. p. 729-80.
- **Parte de livro em meio eletrônico**  
São Paulo (Estado). Secretaria do Meio Ambiente. *Tratados e organizações ambientais em matéria de meio ambiente*. In: São Paulo (Estado). *Entendendo o meio ambiente*. São Paulo; 1999. v. 1. Disponível em: <http://www.bdt.org/sma/entendendo/atual/htm>.
- **Evento em meio eletrônico**  
Christensen S, Oppacher F. An analysis of Koza's computational effort statistic for genetic programming. In: Foster JA, Lutton E, Miller J, Ryan C, Tettamanzi AG, editores. *Genetic programming. EuroGP 2002: Proceedings of the 5th European Conference on Genetic Programming*; 2002 Apr 3-5; Kinsdale, Ireland. Berlin: Springer; 2002. p. 182-91.
- **Tese ou dissertação**  
Silva MAL. Estudo da identificação de haplótipos e a relação com as manifestações clínicas em pacientes com doença falciforme. 2008. [dissertação]. Programa de pós-graduação em Ciências Médicas, Universidade Federal do Rio Grande do Sul; 2008.
- **Citações no texto**  
Devem ser identificadas por algarismos arábicos (números-índice). Podem também ser acrescentados o nome do autor e o ano. As referências com mais de um autor devem conter o sobrenome do autor seguido da expressão et al., como, por exemplo, Higashi et al.

**TABELAS E FIGURAS**

As tabelas deverão ser numeradas consecutivamente com algarismos arábicos e encabeçadas por seu título, recomendando-se a não repetição dos mesmos dados em gráficos. Na montagem das tabelas, seguir as normas de apresentação tabular estabelecidas pelo Conselho Nacional de Estatística e publicadas pela Fundação Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE, 1993).

As ilustrações (gráficos, fotografias, desenhos etc.) deverão ser numeradas consecutivamente com algarismos arábicos e citadas como figuras. Devem ser suficientemente claras para permitir sua produção. Os gráficos deverão vir preparados em programa processador de gráficos. Deverão ser indicados os locais aproximados no texto onde as ilustrações serão intercaladas como figuras.

O SGP aceita a importação de tabelas, imagens e gráficos em arquivo eletrônico nos seguintes formatos: jpg, gif, psd, tif e png.

### **ABREVIACÕES E NOMES DE MEDICAMENTOS**

As abreviações devem ser indicadas no texto no momento de sua primeira utilização. Empregar o nome genérico de medicamentos e indicar a fonte de componentes não disponíveis para prescrição.

As unidades de medida, inclusive suas abreviaturas, devem ser expressas no sistema métrico decimal e, quando o autor assim o desejar, também no Sistema Internacional (SI) entre parênteses.

### **CONTATO COM A SECRETARIA DO JBPML**

Sociedade	Brasileira	de	Patologia	Clínica/Medicina	Laboratorial
Tel.:		+55		(21)	3077-1400
e-mail: jbpml@sbpc.org.br					

### **COMO SUBMETER UM ARTIGO AO JPBML**

1. Entre em [www.jbpml.org.br](http://www.jbpml.org.br).
2. Se você já é cadastrado, digite seu login e sua senha e clique no botão

"Entrar no SGP".

Se ainda não é cadastrado, clique em "Quero me Cadastrar".

3. Primeiro passo: no campo "Informe seu Email", cadastre o e-mail que será usado para receber os avisos e informações do Sistema de Gestão de Publicações (SGP).

Clique em "Continuar cadastro".

4. Segundo passo: preencha os campos do cadastro. Atenção: os campos marcados com \* são obrigatórios.

Clique em "Continuar cadastro". Aparecerá a mensagem "Seu cadastro no SGP foi concluído com sucesso". Um e-mail com o login e a senha informados será enviado para seu endereço cadastrado.

Nesta mesma página, clique em "Voltar".

5. Você será encaminhado à página inicial do SGP, com login e senha. Nesta página, digite o login e a senha que você cadastrou e clique em "Entrar no SGP".

Obs.: o login e a senha estão no e-mail que o SGP lhe enviou no final do seu cadastro.

6. Na página de abertura do SGP aparece uma mensagem informando ser esta a primeira vez que você acessa o sistema. Caso contrário, a mensagem informa quantas vezes já o acessou, data e hora do último acesso e que você tem acesso com nível de autor.

7. Observe o menu do lado esquerdo da tela. Se você ainda não submeteu nenhum artigo pelo SGP, todos os itens do menu estão indicados com quantidade "zero".

8. Para submeter um artigo, clique em "Submeter novo artigo para Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial".

9. Janela "Passo 1": informar a classificação do artigo (manuscrito):

- Artigo de revisão
- Artigo original
- Carta ao editor
- Comunicação breve
- Relato de caso

Clique na opção correspondente à classificação do artigo. Por exemplo: Artigo original.

10. Janela "Passo 2": anexar imagens e/ou gráficos usados no artigo. Todas as imagens e/ou gráficos devem estar em um dos seguintes formatos: jpg, gif, png, pdf ou tif.

Após anexar imagens/gráficos, clique em "Enviar imagens". Caso o artigo não tenha imagens, clique em "Não necessito enviar imagens".

11. Nesta janela o autor pode conferir as imagens que enviou e enviar mais. Caso não tenha enviado imagens, aparecerá a mensagem "Nenhuma imagem foi enviada pelo autor".

Clique em "Próximo".

12. Janela "Passo 3": inserir/editar/excluir novos coautores. Para cada novo coautor devem ser preenchidos os campos "Nome", "Titulação", "Cargo" e, opcionalmente, CPF (pedido para posteriormente gerar o termo de Copyright, que garante os direitos autorais).

A ordem de importância dos autores pode ser alterada clicando nas setas amarelas (para cima ou para baixo). O primeiro nome será considerado o autor principal, e os demais, coautores. Após inserir/editar/excluir novos coautores, clique em "Gravar" e em "Próximo".

Se não houver novos coautores, clique em "Próximo".

13. Janela "Passo 4": preencher com o título do artigo e descritores (palavras-chave ou key words). Essas informações devem ser escritas na língua nativa do autor (por exemplo, português ou espanhol) e em inglês.

Clique em "Próximo".

14. Janela "Passo 5": preencher com o resumo (abstract). O autor também pode incluir informações adicionais, como o nome da instituição, nome e endereço para correspondência e se recebeu suporte financeiro. Também é possível redigir uma Carta ao Editor contendo informações adicionais que considere importantes. Somente o editor terá acesso a esta carta. Clique em "Próximo".

15. Janela "Passo 6": redigir o artigo propriamente dito. É fornecido um editor de texto com os comandos necessários para formatação. É possível "colar" um texto já escrito e formatado em MS Word. Clicar em "Próximo".

16. Janela "Passo 7": Transferência de Declaração de Direitos Autorais (Copyright Transfer Statement). Preencher os campos solicitados, imprimir e enviar para a SBPC/ML pelo fax (21) 2205-3386. Clicar em "Próximo".

15. Janela "Passo 8": formato de visualização do artigo (html ou pdf). Nesta janela, o autor decide se vai submeter o artigo ou vai excluí-lo e desistir de fazê-lo.

16. Janela "Concluído": indica que você terminou o processo de submissão do artigo.

19. Você receberá um e-mail comunicando que o artigo foi submetido a avaliação.

## ANEXO B – COMITÊ DE ÉTICA EM EXPERIMENTAÇÃO ANIMAL



Universidade Federal de Pernambuco  
Centro de Biotecnologia

Av. Prof. Nelson Cavale, s/n  
50670-920 / Recife - PE - Brasil  
Fones: (51) 312 2126 8940 / 2126 8333

fax: 2126 8330  
www.ccb.ufpe.br

Recife, 02 de maio de 2017.

Ofício nº 33/17

Da Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da UFPE  
Para: **Prof.º Francisco Carlos Amanajás de Aguiar Júnior**  
Centro de Acadêmico de Vitória CAV  
Universidade Federal de Pernambuco  
Processo nº 0009/2017

Certificamos que a proposta intitulada "Efeitos Tissulares Sistêmicos da Ovariectomia Experimental em Ratos Wistar: Um Estudo Histomorfométrico," registrada com o nº0009/2017 sob a responsabilidade de **Prof.º Francisco Carlos Amanajás de Aguiar Júnior**- que envolve a produção, manutenção ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto humanos), para fins de pesquisa científica (ou ensino) - encontra-se de acordo com os preceitos da Lei nº 11.794, de 8 de outubro de 2008, do Decreto nº 6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo - CONSELHO NACIONAL DE CONTROLE DE EXPERIMENTAÇÃO ANIMAL (CONCEA), e foi aprovada pela COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS (CEUA) DA UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO (UFPE), em reunião de 26/04/2017.

Finalidade	<input type="checkbox"/> Ensino <input checked="" type="checkbox"/> Pesquisa Científica
Vigência da autorização	A partir da data de aprovação pela CEUA, o mesmo tem o prazo de vigência de 2 anos
Espécie/inhagem/raça	Rattus Novergicus/ Wistar
Nº de animais	48
Peso/idade	100-200g 02 meses
Sexo	Fêmea
Origem	Biotério do Departamento de Nutrição, UFPE.

*Pedro V. Cavali*  
Atenciosamente

Prof. Dr. Pedro V. Cavali  
Presidente do CEUA / CCB - UFPE  
SAPE 1801584