

**EFEITOS DA ADMINISTRAÇÃO DE ÔMEGA TRÊS E VITAMINA B12 SOBRE  
ASPECTOS REPRODUTIVOS DE RATOS WISTAR E SUA CORRELAÇÃO COM  
A TEMPERATURA CORPÓREA**

**LUCI MARA MIURA YAMADA**

**EFEITOS DA ADMINISTAÇÃO DE ÔMEGA TRÊS E VITAMINA B12 SOBRE  
ASPECTOS REPRODUTIVOS DE RATOS WISTAR E SUA CORRELAÇÃO  
COM A TEMPERATURA CORPÓREA**

**LUCI MARA MIURA YAMADA**

Dissertação apresentada a Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação da Universidade do Oeste Paulista como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Ciência Animal – Área de concentração: Fisiopatologia Animal.

Orientador: Marcelo George Mungai Chacur

636.089  
Y21e

Yamada, Luci Mara Miura.

Efeitos da administração de ômega três e vitamina B12 sobre aspectos reprodutivos de ratos Wistar e sua correlação com a temperatura corpórea / Luci Mara Miura Yamada. – Presidente Prudente, 2017.

32 f.: il.

Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) - Universidade do Oeste Paulista – Unoeste, Presidente Prudente, SP, 2017.

Bibliografia.

Orientador: Marcelo George Mungai Chacur.

1. Óleo de Peixe. 2. Vitamina B12. 3. Termograma. 4. Espermatogênese em animais. I. Título.

**LUCI MARA MIURA YAMADA**

**EFEITOS DA ADMINISTRAÇÃO DE ÔMEGA TRÊS E VITAMINA B12 SOBRE  
ASPECTOS REPRODUTIVOS DE RATOS WISTAR E SUA CORRELAÇÃO  
COM A TEMPERATURA CORPÓREA**

Dissertação apresentada a Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação, Universidade do Oeste Paulista, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Ciência Animal – Área de concentração: Reprodução Animal.

Presidente Prudente, 22 de junho de 2017.

**BANCA EXAMINADORA**

---

Prof. Dr. Marcelo George Mungai Chacur (orientador)  
Universidade do Oeste Paulista – UNOESTE  
Presidente Prudente-SP

---

Prof. Dra. Camila Pires Cremasco Gabriel  
Universidade Estadual Paulista – UNESP  
Tupã-SP

---

Prof. Dr. Anthony Cesar de Souza Castilho  
Universidade do Oeste Paulista – UNOESTE  
Presidente Prudente-SP

## **DEDICATÓRIA**

Dedico esse trabalho ao meu esposo Sergio e meus filhos Michele e Lucas pelo apoio, pela paciência e compreensão de muitas ausências. Trabalharam muito para que eu pudesse me dedicar ao estudo. Eternamente grata!

À minha anjinha Mayara, que mesmo nos poucos meses que ficou em mim, me ensinou que nunca devemos nos conformar com a situação, que devemos nos superar sempre! Guiou-me, e ainda me guia, para todas as conquistas dos últimos anos.

## AGRADECIMENTOS

A DEUS, que sempre me mostra o melhor caminho e me dá forças para não desistir.

Ao meu orientador, Prof. Dr. Marcelo George Mungai Chacur, pelo apoio, ensinamentos e atenção nas revisões e sugestões que foram fundamentais para a conclusão desse trabalho. E me fez superar uma fobia à ratos.

À Doutoranda Camila Dutra, que desde o início esteve presente me ensinando o bê-á-bá do Mestrado. Sempre disponível e disposta a ajudar. Foi minha luz nesse trabalho.

À Giovana e Tania que auxiliaram nas primeiras coletas de dados, pesquisas e contribuíram para a estruturação e execução do projeto.

Ao Doutorando Guilherme, que foi parceiro no trabalho. E em vários momentos pudemos compartilhar angustias, inseguranças, raivas, alegrias e conquistas do trabalho e da vida.

Aos demais membros da equipe Isabela (superou-se de um trauma), Isamara, Fernanda, Jailine e João que estiveram presentes independente do horário, do dia da semana, e do lanche light (os decepcionei). Não mediram esforços e contribuíram muito para a execução do trabalho.

Ao meu filho Lucas que me surpreendeu!! Pude conhecer um lado que não conhecia. Um graduando de Nutrição que é proativo, que contribuiu com grande ideias, que conseguiu otimizar as tarefas atribuídas de uma forma simples, que possui habilidades para execução de procedimentos cirúrgicos, que me fez ter muito mais orgulho de ser sua mãe!! Me apaixonei mais ainda!!

Ao Prof. Paulo Goiozo, pela paciência e ensinar o caminho para a análise histológica.

À Profa. Dra. Camila Pires Cremasco por responder às minhas dúvidas.

À todos os professores do mestrado que de alguma forma contribuíram para a minha formação.

À Marilda, nutricionista, minha chefe no Hospital Regional e agora minha coordenadora do curso de Nutrição. Você é minha referência profissional e pessoal! Obrigada pelo apoio e por acreditar tanto em mim!

À farmacêutica Denise que contribuiu com seus conhecimentos e sua equipe.

Ao Dr. Fernando Valejo pela dica em um momento crucial do trabalho.

Aos meus familiares, amigos, nutricionistas e professores da UNOESTE que me apoiaram na busca pelo conhecimento técnico, científico e crescimento para a vida!

OBRIGADA À TODOS!!

## RESUMO

### Efeitos da Administração de Ômega Três e Vitamina B12 sobre Aspectos Reprodutivos de Ratos Wistar e sua Correlação com a Temperatura Corpórea

Este trabalho tem como objetivo estudar os efeitos da administração do ômega três e/ou vitamina B12 sobre parâmetros espermáticos e histomorfométricos dos órgãos reprodutivos de ratos Wistar e sua correlação com a temperatura dessas regiões. Utilizou-se 16 ratos, divididos em quatro grupos (n=4 por grupo) que receberam injeções diárias por 30 dias, sendo: Grupo Controle – solução salina; Grupo Ômega três– óleo de peixe (Equaliv®) 1g/kg; Grupo B12 – vitamina B12 (Monovin B12®) 3µg; e Grupo Ômega + B12 – óleo de peixe 1g/kg e vitamina B12 3µg. Analisados morfologia espermática e as histomorfometrias foram avaliados pelo programa *Motic Images Plus®* versão 2.0. Diariamente, foram obtidas imagens termográficas de áreas do corpo (FLIR E40®, Suécia) e analisadas pelo programa *Flir Tools 2.1®*. Os dados foram submetidos à análise de variância e teste de Tukey a 5%. O ômega 3 reduziu o epitélio seminífero e a B12 minimizou esse efeito deletério ( $P \leq 0,05$ ). A temperatura da superfície do escroto foi superior no grupo B12 ( $P \leq 0,05$ ). Houve alta correlação positiva entre temperatura da superfície do escroto e porcentagem de gota citoplasmática distal ( $P = 0,678$ ).

**Palavras-chave:** óleo de peixe, cianocobalamina, gota citoplasmática distal, termografia infravermelha.

## ABSTRACT

### Effects of the Administration of Omega Three And Vitamin B12 on Reproductive Aspects of Wistar Rats and its Correlation with Body Temperature

This work aims to study the effects of omega 3 and / or vitamin B12 administration on sperm and histomorphometric parameters of the reproductive organs of Wistar rats and their correlation with the temperature of these regions. Sixteen rats were divided into four groups (n = 4 per group) who received daily injections for 30 days, being: Control Group - saline solution; Group Omega three- fish oil (Equaliv®) 1g / kg; Group B12 - vitamin B12 (Monovin B12 ®) 3µg; And Group Omega + B12 - fish oil 1g / kg and vitamin B12 3µg. Analyzed sperm morphology and the histomorphometries were evaluated by the Motic Images Plus® version 2.0 program. On a daily basis, thermographic images of areas of the body (FLIR E40®, Sweden) were analyzed and analyzed by the Flir Tools 2.1® program. Data were submitted to analysis of variance and Tukey test at 5%. Omega 3 reduced the seminiferous epithelium and B12 minimized this deleterious effect ( $P \leq 0.05$ ). The surface temperature of the scrotum was higher in group B12 ( $P \leq 0.05$ ). There was a high positive correlation between scrotum surface temperature and distal cytoplasmic droplet percentage ( $P = 0.678$ ).

**Key words:** fish oil, cyanocobalamin, Distal cytoplasmic droplet, infrared thermography

## LISTA DE SIGLAS

µg	- Microgramas
DHA	- Docosa-hexaenoico
EPA	- Ácido eicosapentanoico
g	- Gramas
n3	- Ômega 3
ROS	- Espécies Reativas de Oxigênio
SC	- Subcutâneo
TI	- Termografia Infravermelha
vitB12	- Vitamina B12

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>ARTIGO CIENTÍFICO.....</b>	<b>10</b>
	<b>ANEXO - NORMAS DA REVISTA ARQUIVOS BRASILEIROS DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA.....</b>	<b>25</b>

## 1 ARTIGO CIENTÍFICO

### **EFEITOS DA ADMINISTRAÇÃO DE ÔMEGA TRÊS E VITAMINA B12 SOBRE ASPECTOS REPRODUTIVOS DE RATOS WISTAR E SUA CORRELAÇÃO COM A TEMPERATURA CORPÓREA**

Luci Mara Miura Yamada  
Camila Dutra de Souza  
Isabela Takehara Branco  
Isamara Batata Andrade  
Fernanda Luiza Guinossi Barbosa Deak  
Guilherme Pepino Bastos  
Jailine Gaspari da Silva  
João Victor Rodrigues Amoris  
Lucas Yukio Yamada  
Paulo Felipe Izique Goiozo  
Camila Pires Cremasco  
Luis Roberto Almeida Gabriel Filho  
Marcelo George Mungai Chacur

Rodovia Raposo Tavares, km572, UNOESTE  
– Campus II, Presidente Prudente- SP, Brazil  
CEP 19067-175

#### RESUMO

Objetivou-se estudar os efeitos do ômega três e vitamina B12 em temperaturas de áreas do corpo com termografia infravermelha, no espermograma e na histomorfometria dos órgãos reprodutores em ratos Wistar. Utilizou-se 16 ratos, divididos em quatro grupos (n=4) que receberam injeções diárias por 30 dias e sacrificados no mesmo dia, sendo: Grupo Controle – solução salina; Grupo Ômega três (n3) – óleo de peixe (Equaliv®) 1g/kg; Grupo B12 – vitamina B12 (Monovin B12®) 3µg; e Grupo Ômega + B12 – óleo de peixe 1g/kg e vitamina B12 3µg. Diariamente, imagens termográficas de áreas do corpo foram obtidas (FLIR E40®, Suécia) e analisadas pelo programa *Flir Tools 2.1*®.

Analisados morfologia espermática e histomorfométrias com o programa *Motic Images Plus*® versão 2.0. Os dados foram submetidos à análise de variância e teste de Tukey a 5%. O n3 reduziu o epitélio seminífero e a B12 minimizou esse efeito deletério ( $P < 0,05$ ). A temperatura da superfície do escroto foi superior no grupo B12 ( $P < 0,05$ ). Não houve diferenças entre grupos ( $P > 0,05$ ) para temperaturas do globo ocular. Houve alta correlação positiva entre temperatura da superfície do escroto e porcentagem de gota citoplasmática distal ( $P = 0,678$ ).

**Palavras-chave:** óleo de peixe, cianocobalamina, aparelho reprodutor, termograma.

## INTRODUÇÃO

A eficiência reprodutiva é influenciada pela nutrição, estado nutricional e peso dos órgãos reprodutivos (Punab *et al.*, 2017). A presença de hábitos alimentares inadequados, deficiências nutricionais e baixa ingestão de antioxidantes causam desequilíbrios na produção de espécies reativas de oxigênio (ROS) promovendo o estresse oxidativo (Mendeluk *et al.* 2015). A qualidade dos espermatozoides está relacionado ao estresse oxidativo. Há redução dos níveis de ATP intracelular que leva à peroxidação lipídica no plasmalema e pode ter impacto negativo na fertilidade (Giahi *et al.*, 2016). Quando há equilíbrio entre a produção de ROS e antioxidantes não provocará estresse oxidativo e prejuízos na fertilização. Dessa forma, a terapia antioxidante pode resultar em espermatogênese normal e não afetar a fertilidade (Sabeti *et al.*, 2016).

Consumir antioxidantes como por exemplo, o óleo de peixe, reduz o estresse oxidativo. Na incapacidade de síntese, há a necessidade de ingestão dietética para suprir funções orgânicas. Em sua composição encontra-se o ômega três, fonte de ácido eicosapentanoico (EPA, C20: 5 n-3) e ácido docosa-hexaenoico (DHA, C22: 6 n-3) (Risso *et al.*, 2016), ambos também possuem efeito antiinflamatório (Kemse *et al.*, 2014). Teores elevados de DHA melhoram a qualidade do sêmen e foram associados com melhor morfologia devido a redução da porcentagem de defeitos de cabeça (Mendeluk *et al.*, 2015).

A vitamina B12 é um micronutriente essencial, obtido na ingestão dietética (Hannibal *et al.* 2016). A vitamina B12 também reduz espécies reativas de oxigênio (ROS) produzidas a partir do estresse oxidativo no sêmen. É ativa durante a divisão celular e síntese de DNA. A deficiência de vitamina B12 eleva a porcentagem de patologias espermáticas (Hamedani *et al.* 2013).

A dieta alimentar é um dos fatores que influenciam na temperatura do corpo e produção de espermatozoides (Mendeluk *et al.* 2015; Griswold, 2016). A temperatura corporal é um parâmetro fisiológico importante para monitorar a saúde. E especificamente, a temperatura do escroto influencia na produção de espermatozoides pelas células germinativas nos túbulos seminíferos (Adamkovicova *et al.*, 2014).

O uso da termografia digital de infravermelho, como exame de imagem para mensurar temperaturas da superfície de áreas do corpo de animais, revela vantagens comparado aos demais métodos. Processa informações e fornece imagens térmicas bidimensionais, facilitando comparações entre as áreas examinadas do corpo, é de fácil e rápida realização, sem contato e de alta acurácia, reduzindo o estresse provocado por outros métodos invasivos de temperatura. (Vogel *et al.*, 2016).

O presente estudo visou mensurar as temperaturas da superfície de áreas do corpo, com o uso de uma câmera termográfica, o que colabora no bem-estar animal. Objetivou-se investigar os efeitos da injeção subcutânea de ômega três e vitamina B12 no espermograma, histomorfometria de testículos, epidídimos e vesículas seminais, bem como temperaturas de áreas do corpo com termografia infravermelha em ratos Wistar.

## MATERIAL E MÉTODOS

### Animais, alimentação e grupos experimentais

O experimento foi aprovado pela Comissão de Ética e Uso de Animais da Universidade do Oeste Paulista sob o protocolo 2995. Foram utilizados ratos machos Wistar (n=16), com peso corpóreo médio de 285g, mantidos 30 dias em ciclo de claro e escuro de 12/12 horas, divididos randomicamente em quatro grupos (n=4 / grupo), cada grupo em uma caixa, com água e ração (Padrão MP77®, Moinho Primor S.A., Brasil) *ad libitum*.

O animais receberam injeções diárias via subcutânea, entre 8:00h e 10:00h sendo: Grupo Controle (GC) - solução salina estéril a 0,9%; ômega três (Gn3) - óleo de peixe (Equaliv®) 1g/kg (Hirabara *et al.*, 2012); vitamina B12 (GB12) - vitamina B12 (Monovin B12®) 3µg (Oliveira, 2012); e ômega três + vitamina B12 (Gn3B12) - óleo de peixe (1g / Kg) e vitamina B12 (3µg).

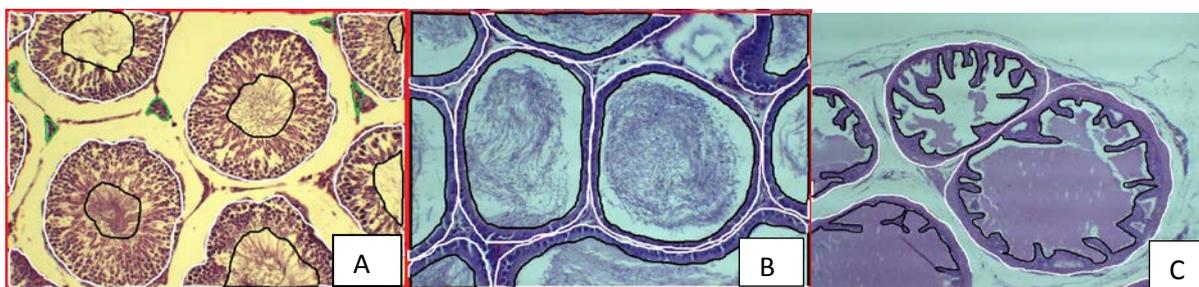
### Análise histomorfométrica de órgãos

No dia 30 do experimento, todos os ratos foram mortos por exsanguinação via punção cardíaca sob anestesia com tiobarbitúrico (Thiopentax®, Cristália, Brasil) com dose de 80 mg/Kg de peso corpóreo via intraperitoneal.

Após a morte, foram colhidos órgãos e pesados em balança de precisão, seguida da separação de fragmentos de testículos, epidídimos e vesículas seminais, fixados imediatamente em solução de formalina tamponada a 10% por 24 horas; e após em álcool 70°GL até o processamento histológico. Após a fixação, os tecidos dos órgãos foram processados e corados com hematoxilina e eosina (HE) para análises histológica e morfométrica em cortes de 5 µm de espessura.

Para as análises morfométricas, utilizou-se programa computacional (*Software Motic Images Plus® version 2.0*) (*Motic China Group CO., LTD, 2010*) e foram realizadas mensurações de 10 campos, dos componentes teciduais dos testículos, epidídimos e vesículas seminais. Nos testículos determinou-se a área tubular, área do lúmen tubular, área de células de Leydig, área de estroma e a área do epitélio germinativo (área do lúmen tubular e área tubular). Nos epidídimos mensurou-se a área tubular, área de estroma e área da massa espermática. Nas vesículas seminais, área do epitélio tubular (área do lúmen e área tubular) (Figura 1).

**Figura 1: Esquema das análises morfométricas**



**A - Histomorfometria Testicular:** Linha vermelha = área total; Linha preta = área de luz tubular; Linha branca = área tubular; Linha verde = área de células de Leydig; Área de epitélio germinativo = área tubular - área de luz tubular; Área de estroma = área total - ( $\Sigma$  área tubular +  $\Sigma$  área de células de Leydig). HE 400x.

**B - Histomorfometria Epididimária:** Linha vermelha = área total; Linha preta = área de luz tubular; Linha branca = área tubular; Área de epitélio = área tubular - área de luz tubular; Área de estroma = área total -  $\Sigma$  área tubular. HE 400x.

**C - Histomorfometria Vesícula Seminal:** Linha preta = área do lúmen; Linha branca = área tubular; Área do epitélio tubular = área tubular - área do lúmen. HE 400x.

## Análise da morfologia espermática

Após coletar e dissecar os epidídimos, realizou-se uma secção em sua porção caudal com o auxílio do bisturi e depositou-se os espermatozoides na lâmina. Em seguida, acrescentou-se 5 gotas de solução salina e após 1 minuto realizou-se o esfregaço. Posteriormente, corou-se as lâminas pelo método Panótico Rápido, sendo 10 imersões em cada uma das três soluções. A leitura da morfologia espermática foi realizada em microscópio ótico (1000x), contando 200 espermatozoides e considerando os seguintes defeitos: patologia de cabeça, patologia de cauda, gota citoplasmática distal e gota citoplasmática proximal (Filler, 1993).

## Exames de termografia infravermelha

Antes das injeções via subcutânea, foram realizadas termografias digitais por infravermelho, diariamente durante 30 dias, entre 8:00h e 10:00h, com câmera termográfica (E-40®, Flir, Suécia). Para mitigar o estresse, os animais foram retirados da caixa, e as imagens capturadas com o foco emissor a 30 cm do escroto, região perianal, ísquio, prepúcio, focinho, globo ocular e entre olhos. As imagens foram processadas pelo programa (*Flir Tools 2.1®*) com uso de polígonos para mensurar temperaturas das áreas estudadas (Figura 2). A temperatura corporal é representada graficamente e para cada escala de temperatura há uma tonalidade de coloração diferente atribuída.

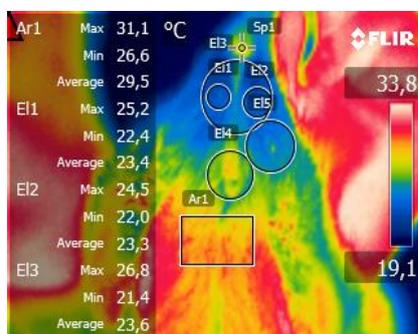


Figura 2: Termograma do abdômen e períneo de ratos Wistar, para mensuração das temperaturas do prepúcio, escroto, região perianal e ísquios.

## Análise estatística

Para análise deste projeto, foi utilizada Análise de Variância (ANOVA - Analysis of Variance) para comparação dos vários grupos. A ANOVA permitiu investigar a existência de diferenças significativas entre os grupos estudados a um nível de confiança 95%. O teste utilizado para comparação das médias foi realizado o teste de Tukey (procedimento means), a 5% de probabilidade ( $P \leq 0,05$ ), por meio do *software Minitab*<sup>®</sup> 16.0.

## RESULTADOS

Nas análises do peso dos órgãos do aparelho reprodutor dos ratos Wistar machos, não houve diferença ( $P \leq 0,05$ ) entre os tratamentos. (Tabela 1). Todos os órgãos analisados não apresentaram alteração macroscópicas.

**Tabela 1.** Peso relativo em gramas (g) de órgãos de ratos Wistar machos.

<b>Grupos e órgãos</b>	<b>GC</b>	<b>Gn3</b>	<b>GB12</b>	<b>Gn3B12</b>
<b>Testículo</b>	2,7±0,3	2,9±0,1	2,9±0,0	2,4±0,1
<b>Epidídimo</b>	2,6±1,0	2,7±0,5	1,5±0,0	1,5±0,1
<b>Vesícula Seminal</b>	8,6±2,5	7,5±3,8	12,5±11,9	5,8±4,8

Nas análises histomorfométricas do testículo (tabela 2) observa-se que no grupo Gn3 houve aumento do estroma e diminuição do epitélio seminífero comparado aos GC e GB12 que são semelhantes. Não houve efeito da suplementação para epidídimo e vesícula seminal. Encontrou-se no GC 80,8 para % de estroma e 19,2 para % de epitélio e 85,8 para % de epitélio, respectivamente.

**Tabela 2.** Médias e desvios-padrão para testículos considerando % de estroma e % de epitélio nos grupos experimentais de ratos Wistar.

<b>Tecidos e grupos</b>	<b>GC</b>	<b>Gn3</b>	<b>Gb12</b>	<b>Gn3B12</b>
<b>% Estroma</b>	26,08±11,55 b	37,38±13,03 a	22,01±13,62 b	30,59±11,38 ab
<b>% Epitélio</b>	73,92±11,55 a	62,62±13,03 b	77,99±13,62 a	69,41±11,38 ab

Médias seguidas por letras minúsculas diferentes nas linhas ( $P \leq 0,05$ ) pelo teste Tukey.

Para a morfologia espermática, o grupo B12 apresentou uma porcentagem de espermatozoides normais superior ( $P \leq 0,05$ ) comparada aos demais grupos. Também com média menor ( $P \leq 0,05$ ) de espermatozoides com patologia de cabeça e maior ( $P \leq 0,05$ ) de presença de gota distal, no GB12. Para patologia de cauda e gota proximal não apresentaram diferenças entre os grupos (Tabela 3).

**Tabela 3.** Médias e desvios-padrão para porcentagens de defeitos espermáticos nos grupos experimentais de ratos Wistar.

<b>Classes e grupos</b>	<b>GC</b>	<b>Gn3</b>	<b>GB12</b>	<b>Gn3B12</b>
Normais	75,8±9,3 b	70,8±13,8 b	79,5±4,2 a	71,0±20,0 b
Patologia de cabeça	20,8±7,6 a	23,0±14,4 a	8,5±3,7 b	28,0±16,4 a
Patologia de Cauda	5,8±0,9 a	7,5±4,1 a	5,0±4,5 a	6,0±1,7 a
Gota distal	1,8±1,5 b	0,5±0,6 b	9,5±3,1 a	2,3±1,5 b
Gota proximal	0,0±0,0 a	0,5±0,3 a	0,0±0,0 a	0,0±0,0 a

Letra minúscula comparando os grupos tratamento em linhas ao longo do tempo, letras iguais não diferem entre si estatisticamente ( $p \leq 0,05$ ) de acordo com o teste Tukey

Os animais do GB12 apresentaram temperatura do escroto superior ( $P \leq 0,05$ ) em relação aos demais grupos. Encontra-se nos animais do Gn3 temperatura maior comparado ao GC, assim como no focinho observou-se diferenças entre os tratamentos do GN3 e GC, no entanto sem diferença estatística com os demais grupos. Avaliações realizadas nas regiões: perianal, ísquio, globo ocular e entre olhos não apresentaram diferenças significativas entre os grupos (Tabela 4).

**Tabela 4.** Médias e desvios-padrão para temperatura média (°C) nos grupos experimentais de ratos Wistar.

Área do corpo	GC	Gn3	GB12	Gn3B12
<b>Escroto</b>	27,2±1,8 c	27,8±2,2 b	28,5±2,2 a	27,8±1,8 bc
<b>Perianal</b>	30,8±1,5 a	30,8±1,2 a	30,8±1,3 a	30,2±1,2 a
<b>Ísquio</b>	28,7±1,8 a	29,0±1,8 a	29,1±1,6 a	28,7±1,4 a
<b>Prepúcio</b>	29,4±1,7 b	29,8±2,0 ab	30,3±1,6 a	29,7±1,5 ab
<b>Focinho</b>	24,6±0,3 b	26,5±1,0 a	26,2±1,1 ab	26,6±1,3 ab
<b>Globo Ocular</b>	33,0±0,9 a	33,8±0,6 a	33,3±1,0 a	35,0±0,8 a
<b>Entre olhos</b>	28,7±0,5 a	29,8±0,7 a	29,0±0,9 a	30,4±0,7 a

Médias seguidas por letras minúsculas diferentes nas linhas ( $P \leq 0,05$ ) pelo teste Tukey.

Observa-se que a gota citoplasmática distal está altamente correlacionada de forma positiva com a temperatura do escroto mensurada com termografia infravermelha. Nas demais correlações, não houve correlações ( $P > 0,05$ ) (Tabela 5 \*).

**Tabela 5.** Correlações entre temperatura do escroto com termografia infravermelha e morfologia espermática de ratos Wistar.

	Normais	<i>P</i>	Patologia de cabeça	<i>P</i>	Patologia de Cauda	<i>P</i>	Gota distal	<i>P</i>	Total de defeitos	<i>P</i>
T (°C) escroto	0,053	0,856	-0,347	0,224	0,010	0,972	0,678*	0,008	-0,133	0,651

## DISCUSSÃO

O ômega três pode desempenhar o papel antioxidante e diminuir fatores inflamatórios (Kemse *et al.*, 2014) e a suplementação com vitamina B12 previne peroxidação lipídica, tem ação antioxidante combatendo ROS, produzido a partir do estresse oxidativo no sêmen (Hamedani *et al.*, 2013) e auxilia na replicação celular, especialmente na síntese de DNA e RNA (Almeida, 2014). Dessa forma, ambos podem

inibir lesões na espermatogênese e conseqüentemente favorecer a fertilidade e reprodução.

A membrana plasmática do espermatozoide é rica em ácidos graxos polinsaturados, ácido docosaheptaenoico (DHA) que possui seis duplas ligações por molécula, tornando-o vulnerável ao estresse oxidativo e outras modificações químicas e estruturais. Os ROS atacam bases de DNA e os esqueletos fosfodiéster, provocando desestabilização celular, resultando em fragmentação do DNA (Gharagozloo e Aitken, 2011). Em nosso estudo não foi avaliado parâmetros relacionados ao estresse oxidativo, no entanto outros parâmetros podem ser utilizados para analisar a espermatogênese.

O peso dos órgãos reprodutivos é um parâmetro que pode indicar alterações nos níveis de hormônios sexuais (Fernandes *et al.*, 2012; Punab *et al.*, 2017). Nesse estudo, os tratamentos não alteraram o peso dos testículos, epidídimos e vesícula seminal.

Quanto aos aspectos histomorfológicos de testículo, o ômega três provocou alterações no epitélio e estroma. Quando associados ômega três e vitamina B12, observa-se que o efeito deletério do ômega três é mitigado, demonstrado na porcentagem de epitélio seminífero e porcentagem de estroma, não diferindo estatisticamente do GC. A presença do ômega três, na dose utilizada, pode ter provocado um desequilíbrio entre antioxidantes e teores de ROS e na homeostase celular. E a vitamina B12 amenizou esse processo.

A toxicidade nos espermatozoides pode ocorrer, mesmo sem alterações histopatológicas e ser detectáveis na análise direta do espermatozoide (De Grava e Klinefelter, 2014).

Ao avaliar a morfologia espermática, os ratos que receberam apenas a vitamina B12 apresentaram maior porcentagem de espermatozoides normais, menor porcentagem de espermatozoides com patologias de cabeça, comparado aos demais grupos. Estudos confirmam que a deficiência de vitamina B12 aumenta o número de espermatozoides anormais e a adequação na ingestão auxilia na espermatogênese (Almeida, 2014).

Danos induzidos por ROS resultam em defeitos espermáticos, como cabeça anormal, defeitos de acrossomo, gota citoplasmática e defeitos de cauda. Entre diferentes anomalias espermáticas, o citoplasma residual ou a gota citoplasmática podem ser considerados como os mais importantes na produção de ROS (Sabeti *et al.*, 2016).

Encontramos no grupo GB12, elevação da porcentagem de gota distal. A presença de gota citoplasmática está relacionada com a interrupção ou cessação da espermiogênese e/ou maturação epididimária (Rengan *et al.*, 2012) devido não ter fechado os ciclos do epitélio seminífero. Em ratos Wistar a duração da espermatogênese completa requer entre 4,0 e 4,5 ciclos do epitélio seminífero (Russel *et al.*, 1990), com duração de 13 dias cada (Huckins, 1965), totalizando aproximadamente 52 dias. O sacrifício dos animais ocorreu aos 30 dias do experimento o que pode ter influenciado na maturação espermática do grupo vitB12 que presume-se ter aumentado a produção de espermatozoides. No epidídimo acontece o processo de maturação espermática e a aceleração do trânsito do espermatozoide pelo epidídimo reduz o tempo disponível para os processos necessários para a maturação, o que pode comprometer a sua função (De Grava e Klinefelter, 2014). Durante o trânsito epididimário, na maioria dos espermatozoides, a gota protoplasmática migra ao longo da cauda do espermatozoide e é eliminada na ejaculação (Rengan *et al.*, 2012). A retenção das gotas nos espermatozoides ejaculados tem sido associada à infertilidade (García-Vásquez *et al.*, 2015).

No presente estudo, o aumento da porcentagem de gota distal está altamente correlacionado de forma positiva com a elevação da temperatura do escroto. A hipertermia escrotal eleva o estresse oxidativo e apoptose de células germinativas (Lin *et al.* 2016).

Entre 29 a 34°C encontra-se a zona termoneutral murina (David *et al.*, 2013). Ratos e camundongos controlam a temperatura corporal central, principalmente, pela vasorregulação da cauda. No entanto, a área da superfície da cabeça é também um conhecido dissipador de calor, pela convecção de calor e evaporação de lágrimas que permitem a transmissão do calor do crânio para a superfície do globo ocular (Eguibar *et al.*, 2017). Uma vez que os olhos são irrigados pela artéria oftálmica do cérebro, a temperatura da superfície ocular pode ser uma abordagem não invasiva para medir a temperatura do eixo cérebro-coração ou da temperatura retal que estão relacionadas com a temperatura corporal (Vogel *et al.*, 2016).

Uma imagem termográfica de infravermelho, ou termograma, mostra de forma clara e precisa uma elevação local ou queda da temperatura, refletindo o aporte de sangue de uma determinada área, que está diretamente relacionada a uma série de processos fisiológicos ou patológicos (Usamentiaga *et al.*, 2014). Tanto a temperatura do globo ocular como da orelha, usando uma tecnologia como a termografia

infravermelha, são eficazes para monitorar e representar a temperatura corporal de forma passiva e sem ter contato físico com o animal (Zanghi, 2016).

Observa-se, no presente estudo, que a ação do ômega três e vitamina B12, isolados ou associados, não influenciaram de forma significativa na temperatura do globo ocular, e provavelmente não alteraram a temperatura corpórea.

Um elemento significativo observado na pesquisa é o aumento da temperatura do escroto no GB12 em relação aos demais grupos. A exposição do escroto ao calor, pode acarretar alterações morfológicas nos testículos e inibir a espermatogênese em várias espécies de mamíferos, incluindo seres humanos, ratos, macacos touros e ovelhas. O aquecimento testicular tem sido associado a um aumento no estresse oxidativo e sua avaliação pode desencadear a compreensão da patogênese em muitas doenças (Calkosinski *et al.*, 2015). Como resultado da produção excessiva de ROS, os espermatozoides podem sofrer danos no DNA mitocondrial e nuclear, juntamente com lesão peroxidativa da membrana plasmática, e levar à supressão da espermatogênese e afetar a fragmentação do DNA. A integridade do DNA afeta a competência funcional do gameta (Cissen *et al.*, 2016).

Nas imagens de prepúcio e focinho, observaram-se diferenças entre os tratamentos, mas os resultados podem sofrer influências que não foram controladas nesse estudo. Ao realizar as imagens termográficas, resíduos de urina do próprio animal podem umedecer a região e alterar a leitura da temperatura do prepúcio, corroborando resultados previamente relatados (Calkosinski *et al.*, 2015).

## CONCLUSÕES

O ômega três reduz o epitélio seminífero e a vitamina B12 minimiza esse efeito. A elevação da temperatura do escroto resulta no aumento da porcentagem de gotas citoplasmáticas distais. A temperatura do globo ocular não sofre influência significativa do ômega três e da vitamina B12.

## AGRADECIMENTOS

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq).

## REFERÊNCIAS

ADAMKOVICOVA, M.; TOMAN, R.; CABAJ M. *et al.* Effects of subchronic exposure to cadmium and diazinon on testis and epididymis in rats. *The Scientific World Journal*, 2014. ID 632581.

ALMEIDA, T. B. Avaliação de parâmetros morfométricos e morfofuncionais em testículos de ratos tratados com fluoxetina e suplementados com vitamina B12. 2014. 55f. Trabalho (Graduação) - Universidade Estadual Paulista, Araraquara-SP.

CAŁKOSIŃSKI, I.; DOBRZYNSKI, M.; ROSINCZUK, J. *et al.* The use of infrared thermography as a rapid, quantitative, and noninvasive method for evaluation of inflammation response in different anatomical regions of rats. *BioMed Research International*, 2015. ID 972535.

CISSEN, M.; WELY, M.V.; SCHOLTEN, I. *et al.* Measuring sperm DNA fragmentation and clinical outcomes of medically assisted reproduction: a systematic review and meta-analysis. *PLoS ONE*, v.11, n.11, p.e0165125, 2016.

DAVID, J. M.; CHATZIOANNOU, A.F.; TASCHEREAU, R. *et al.* The hidden cost of housing practices: using noninvasive imaging to quantify the metabolic demands of chronic cold stress of laboratory mice. *Comparative Medicine*, v.63, n.5, p. 386-391, 2013.

DE GRAVA K.W.; KLINEFELTER, G.R. Interpreting histopathology in the epididymis. *Spermatogenesis*, v.4, n.2, 2014.

EGUIBAR, J.R.; URIBE, C.A.; CORTES, C. *et al.* Yawning reduces facial temperature in the high-yawning subline of Sprague-Dawley rats. *BMC Neuroscience*, v.18, n.3, 2017.

FERNANDES G.S.; ARENA, A.C.; CAMPOS, K.E. *et al.* Glutamate-induced obesity leads to decreased sperm reserves and acceleration of transit time in the epididymis of adult male rats. *Reproductive Biology and Endocrinology*, v.10, n.105, 2012.

FILLER, R. Methods for evaluation of rats epididymal sperm morphology. In: CHAPIN, J.H.H. (ed.). Male reproductive toxicology. California: Academic Press, 1993. p.334-343.

GARCÍA-VÁZQUEZ, F. A.; HERNANDEZ-CARAVACA, I; MATÁS, C. *et al.* Morphological study of boar sperm during their passage through the female genital tract. *The Journal of Reproduction and Development*, v.61, n.5, p.407-413, 2015.

GHARAGOZLOO, P.; AITKEN R.J. The role of sperm oxidative stress in male infertility and the significance of oral antioxidant therapy. *Hum Reprod.*, n.26, p.1628–1640, 2011.

GIAHI, L.; MOHAMMADMORADI, S.; JAVIDAN, A. *et al.* Nutritional modifications in male infertility: a systematic review covering 2 decades. *Nutrition Reviews*, v.74, n.2, p.118-130, 2016.

GRISWOLD, M.D. Spermatogenesis: The Commitment to Meiosis. *Physiological Reviews*, v.96, n.1, p.1-17, 2016.

HAMEDANI, M.A.; TAHMASBI, A.M.; AHANGARI, Y.J. Effects of vitamin B<sub>12</sub> supplementation on the quality of Ovine spermatozoa. *Open Veterinary Journal*, v.3, n.2, p.140-144, 2013.

HANNIBAL, L.; LYSNE, V.; BJØRKE-MONSEN, A. L. *et al.* Biomarkers and algorithms for the diagnosis of vitamin B<sub>12</sub> Deficiency. *Frontiers in Molecular Biosciences*, v.3, n.27, 2016.

HIRABARA, S. M.; FOLADOR, A.; FIAMONCINI, J. *et al.* Fish oil supplementation for two generations increases insulin sensitivity in rats. *J Nutr Biochem*, v.24, n.6, 1136-45, 2012.

HUCKINS, C. Duration of spermatogenesis in pre- and post puberal Wistar rat. *Anat. Record*, v.151, n.364, 1965.

KEMSE, N.G.; KALE, A.A.; JOSHI, S.R. A combined supplementation of Omega-3 fatty acids and micronutrients (Folic Acid, Vitamin B<sub>12</sub>) reduces oxidative stress markers in a rat model of pregnancy induced hypertension. *PLoS ONE*, v. 9, n.11, e111902, 2014.

LIN, C.; CHOI, Y.S.; PARK, S.G. et al. Enhanced Protective Effects of Combined Treatment with  $\beta$ -Carotene and Curcumin against Hyperthermic Spermatogenic Disorders in Mice. *BioMed Research International*, v. 2016, 2016. ID 2572073.

MENDELUK G.R.; COHEN, M.I.; FERRERI, C.; CHATGILIALOGLU, C. Nutrition and Reproductive Health: Sperm versus Erythrocyte Lipidomic Profile and  $\omega$ -3 Intake. *Journal of Nutrition and Metabolism*, 2015. ID 670526.

MINITAB 16 Software estatístico [software informático]. Belo Horizonte: Minitab, 2010.

OLIVEIRA, B. Vitamina B12 exerce um efeito benéfico sobre a espermatogênese após depleção de espermatogônias causada pelo Busulfan®. 2013. 50f. Trabalho (Graduação em Ciências Farmacêuticas) - Universidade Estadual Paulista, Araraquara-SP.

PUNAB, M.; POOLAMETS, O.; PAJU P. *et al.* Causes of male infertility: a 9-year prospective monocentre study on 1737 patients with reduced total sperm counts. *Human Reproduction (Oxford, England)*, v.32, n.1, p.18–31, 2017.

RENGAN, A. K.; AGARWAL, A.; VAN DER LINDE, M.; PLESSIS, S.S. An investigation of excess residual cytoplasm in human spermatozoa and its distinction from the cytoplasmic droplet. *Reproductive Biology and Endocrinology*, v.10, n. 92, 2012.

RISSE, A.; PELLEGRINO, F. J.; RELLING, A.E.; CORRADA, Y. Effect of long-term fish oil supplementation on semen quality and serum testosterone concentrations in male dogs. *International Journal of Fertility & Sterility*, v. 10, n. 2, p.223–231, 2016.

RUSSEL, L. D.; ETTLIN, R.A.; HIKIN, A.P.S.; CLEGG, E.D. The classification and timing of spermatogenesis. In: *Histological and histopathological evaluation of the testis*. Clearwater: Cache River Press, 1990. p.41-58.

SABETI, P.; POURMASUMI, S.; RAHIMINIA, T. *et al.* Etiologies of sperm oxidative stress. *International Journal of Reproductive Biomedicine*, v.14, n.4, p.231-240, 2016.

USAMENTIAGA, R.; VENEGAS, P.; GUEREDIAGA, J. *et al.* Infrared thermography for temperature measurement and non-destructive testing. *Sensors (Basel, Switzerland)*, v.14, n.7, p.12305-12348, 2014.

VOGEL, B.; WAGNER, H.; GMOSE, J. *et al.* Touch-free measurement of body temperature using close-up thermography of the ocular surface. *MethodsX*, n. 3, p. 407–416, 2016.

ZANGHI, B. M. Eye and ear temperature using infrared thermography are related to rectal temperature in dogs at rest or with exercise. *Frontiers in Veterinary Science*, n.3, p.111, 2016.

---

<sup>2</sup>Artigo redigido segundo normas da Revista Arquivos Brasileiros de Medicina Veterinária e Zootecnia

**ANEXO**  
**NORMAS DA REVISTA**  
**ARQUIVOS BRASILEIROS DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA**



ISSN 1678-4162 *versão  
online*

## INSTRUÇÕES AOS AUTORES

- [Política Editorial](#)
- [Reprodução de artigos publicados](#)
- [Orientações Gerais](#)
- [Comitê de Ética](#)
- [Tipos de artigos aceitos para publicação](#)
- [Preparação dos textos para publicação](#)
- [Formatação do texto](#)
- [Seções de um artigo](#)
- [Taxas de submissão e de publicação](#)
- [Recursos e diligências](#)

*Atualizado: 09/08/2016*

### Política Editorial

O periódico **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia** (Brazilian Journal of Veterinary and Animal Science), ISSN 0102-0935 (impresso) e 1678-4162 (on-line), é editado pela FEPMVZ Editora, CNPJ: 16.629.388/0001-24, e destina-se à publicação de artigos científicos sobre temas de medicina veterinária, zootecnia, tecnologia e inspeção de produtos de origem animal, aquacultura e áreas afins.

Os artigos encaminhados para publicação são submetidos à aprovação do Corpo Editorial, com assessoria de especialistas da área (relatores). Os artigos cujos textos necessitarem de revisões ou correções serão devolvidos aos autores. Os aceitos para publicação tornam-se propriedade do **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia (ABMVZ)** citado como **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.** Os autores são responsáveis pelos conceitos e informações neles contidos. São imprescindíveis originalidade, ineditismo e destinação exclusiva ao **ABMVZ**.

### Reprodução de artigos publicados

A reprodução de qualquer artigo publicado é permitida desde que seja corretamente referenciado. Não é permitido o uso comercial dos resultados.

A submissão e tramitação dos artigos é feita exclusivamente on-line, no endereço eletrônico <<http://mc04.manuscriptcentral.com/abmvz-scielo>>.

Não serão fornecidas separatas. Os artigos encontram-se disponíveis no endereço [www.scielo.br/abmvz](http://www.scielo.br/abmvz).

### Orientações Gerais

- Toda a tramitação dos artigos é feita exclusivamente pelo Sistema de publicação online do Scielo – ScholarOne, no endereço <http://mc04.manuscriptcentral.com/abmvz-scielo> sendo necessário o cadastramento no mesmo.
- Leia "[PASSO A PASSO – SISTEMA DE SUBMISSÃO DE ARTIGOS POR INTERMÉDIO DO SCHOLARONE](#)"
- Toda a comunicação entre os diversos autores do processo de avaliação

e de publicação (autores, revisores e editores) será feita apenas de forma eletrônica pelo Sistema, sendo que o autor responsável pelo artigo será informado automaticamente por e-mail sobre qualquer mudança de status do mesmo.

- Fotografias, desenhos e gravuras devem ser inseridos no texto e quando solicitados pela equipe de editoração também devem ser enviados, em separado, em arquivo com extensão JPG, em alta qualidade (mínimo 300dpi), zipado, inserido em "Figure or Image" (Step 6).
- É de exclusiva responsabilidade de quem submete o artigo certificar-se de que cada um dos autores tenha conhecimento e concorde com a inclusão de seu nome no texto submetido.
- O **ABMVZ** comunicará a cada um dos inscritos, por meio de correspondência eletrônica, a participação no artigo. Caso um dos produtores do texto não concorde em participar como autor, o artigo será considerado como desistência de um dos autores e sua tramitação encerrada.

### **Comitê de Ética**

É indispensável anexar cópia, em arquivo PDF, do Certificado de Aprovação do Projeto da pesquisa que originou o artigo, expedido pelo CEUA (Comitê de Ética no Uso de Animais) de sua Instituição, em atendimento à Lei 11794/2008. O documento deve ser anexado em "Ethics Conmittee" (Step 6). Esclarecemos que o número do Certificado de Aprovação do Projeto deve ser mencionado no campo Material e Métodos.

### **Tipos de artigos aceitos para publicação**

#### **Artigo científico**

É o relato completo de um trabalho experimental. Baseia-se na premissa de que os resultados são posteriores ao planejamento da pesquisa.

Seções do texto: Título (português e inglês), Autores e Afiliação (somente na "Title Page" – Step 6), Resumo, Abstract, Introdução, Material e Métodos, Resultados, Discussão (ou Resultados e Discussão), Conclusões, Agradecimentos (quando houver) e Referências.

O número de páginas não deve exceder a 15, incluindo tabelas, figuras e Referências.

O número de Referências não deve exceder a 30.

#### **Relato de caso**

Contempla principalmente as áreas médicas em que o resultado é anterior ao interesse de sua divulgação ou a ocorrência dos resultados não é planejada.

Seções do texto: Título (português e inglês), Autores e Afiliação (somente na "Title Page" - Step 6), Resumo, Abstract, Introdução, Casuística, Discussão e Conclusões (quando pertinentes), Agradecimentos (quando houver) e Referências.

O número de páginas não deve exceder a dez, incluindo tabelas e figuras.

O número de Referências não deve exceder a 12.

### **Comunicação**

É o relato sucinto de resultados parciais de um trabalho experimental digno de publicação, embora insuficiente ou inconsistente para constituir um artigo científico.

Seções do texto: Título (português e inglês), Autores e Afiliação (somente na "Title Page" - Step 6). Deve ser compacto, sem distinção das seções do texto especificadas para "Artigo científico", embora seguindo àquela ordem. Quando a Comunicação for redigida em português deve conter um "Abstract" e quando redigida em inglês deve conter um "Resumo".

O número de páginas não deve exceder a oito, incluindo tabelas e figuras.

O número de Referências não deve exceder a 12.

### **Preparação dos textos para publicação**

Os artigos devem ser redigidos em português ou inglês, na forma impessoal.

### **Formatação do texto**

- O texto **NÃO** deve conter subitens em nenhuma das seções do artigo, deve ser apresentado em arquivo Microsoft Word e anexado como "Main Document" (Step 6), no formato A4, com margem de 3cm (superior, inferior, direita e esquerda), na fonte Times New Roman, no tamanho 12 e no espaçamento de entrelinhas 1,5, em todas as páginas e seções do artigo (do título às referências), **com linhas numeradas**.
- Não usar rodapé. Referências a empresas e produtos, por exemplo, devem vir, obrigatoriamente, entre parêntesis no corpo do texto na seguinte ordem: nome do produto, substância, empresa e país.

### **Seções de um artigo**

**Título:** Em português e em inglês. Deve contemplar a essência do artigo e não ultrapassar 50 palavras.

**Autores e Filiação:** Os nomes dos autores são colocados abaixo do título, com identificação da instituição a qual pertencem. O autor e o seu e-mail para correspondência devem ser indicados com asterisco somente no "Title Page" (Step 6), em arquivo Word.

**Resumo e Abstract:** Deve ser o mesmo apresentado no cadastro contendo até 200 palavras em um só parágrafo. Não repetir o título e não acrescentar revisão de literatura. Incluir os principais resultados numéricos, citando-os sem explicá-los, quando for o caso. Cada frase deve conter uma informação

completa.

**Palavras-chave e Keywords:** No máximo cinco e no mínimo duas\*.  
\* na submissão usar somente o Keyword (Step 2) e no corpo do artigo constar tanto keyword (inglês) quanto palavra-chave (português), independente do idioma em que o artigo for submetido.

**Introdução:** Explanação concisa na qual os problemas serão estabelecidos, bem como a pertinência, a relevância e os objetivos do trabalho. Deve conter poucas referências, o suficiente para balizá-la.

**Material e Métodos:** Citar o desenho experimental, o material envolvido, a descrição dos métodos usados ou referenciar corretamente os métodos já publicados. Nos trabalhos que envolvam animais e/ou organismos geneticamente modificados **deverão constar obrigatoriamente o número do Certificado de Aprovação do CEUA**. (verificar o Item Comitê de Ética).

**Resultados:** Apresentar clara e objetivamente os resultados encontrados.

*Tabela.* Conjunto de dados alfanuméricos ordenados em linhas e colunas. Usar linhas horizontais na separação dos cabeçalhos e no final da tabela. O título da tabela recebe inicialmente a palavra Tabela, seguida pelo número de ordem em algarismo arábico e ponto (ex.: Tabela 1.). No texto, a tabela deve ser referida como Tab seguida de ponto e do número de ordem (ex.: Tab. 1), mesmo quando referir-se a várias tabelas (ex.: Tab. 1, 2 e 3). Pode ser apresentada em espaçamento simples e fonte de tamanho menor que 12 (o menor tamanho aceito é oito). A legenda da Tabela deve conter apenas o indispensável para o seu entendimento. As tabelas devem ser obrigatoriamente inseridas no corpo do texto de preferência após a sua primeira citação.

*Figura.* Compreende qualquer ilustração que apresente linhas e pontos: desenho, fotografia, gráfico, fluxograma, esquema etc. A legenda recebe inicialmente a palavra Figura, seguida do número de ordem em algarismo arábico e ponto (ex.: Figura 1.) e é citada no texto como Fig seguida de ponto e do número de ordem (ex.: Fig.1), mesmo se citar mais de uma figura (ex.: Fig. 1, 2 e 3). Além de inseridas no corpo do texto, fotografias e desenhos devem também ser enviados no formato JPG com alta qualidade, em um arquivo zipado, anexado no campo próprio de submissão, na tela de registro do artigo. As figuras devem ser obrigatoriamente inseridas no corpo do texto de preferência após a sua primeira citação.

**Nota:** Toda tabela e/ou figura que já tenha sido publicada deve conter, abaixo da legenda, informação sobre a fonte (autor, autorização de uso, data) e a correspondente referência deve figurar nas Referências.

**Discussão:** Discutir somente os resultados obtidos no trabalho. (Obs.: As seções Resultados e Discussão poderão ser apresentadas em conjunto a juízo do autor, sem prejudicar qualquer uma das partes).

**Conclusões:** As conclusões devem apoiar-se nos resultados da pesquisa executada e serem apresentadas de forma objetiva, **SEM** revisão de literatura, discussão, repetição de resultados e especulações.

**Agradecimentos:** Não obrigatório. Devem ser concisamente expressados.

**Referências:** As referências devem ser relacionadas em ordem alfabética, dando-se preferência a artigos publicados em revistas nacionais e internacionais, indexadas. Livros e teses devem ser referenciados o mínimo possível, portanto, somente quando indispensáveis. São adotadas as normas gerais da ABNT, **adaptadas** para o ABMVZ, conforme exemplos:

**Como referenciar:**

### 1. Citações no texto

A indicação da fonte entre parênteses sucede à citação para evitar interrupção na sequência do texto, conforme exemplos:

- autoria única: (Silva, 1971) ou Silva (1971); (Anuário..., 1987/88) ou Anuário... (1987/88);
- dois autores: (Lopes e Moreno, 1974) ou Lopes e Moreno (1974);
- mais de dois autores: (Ferguson *et al.*, 1979) ou Ferguson *et al.* (1979);
- mais de um artigo citado: Dunne (1967); Silva (1971); Ferguson *et al.* (1979) ou (Dunne, 1967; Silva, 1971; Ferguson *et al.*, 1979), sempre em ordem cronológica ascendente e alfabética de autores para artigos do mesmo ano.

*Citação de citação.* Todo esforço deve ser empreendido para se consultar o documento original. Em situações excepcionais pode-se reproduzir a informação já citada por outros autores. No texto, citar o sobrenome do autor do documento não consultado com o ano de publicação, seguido da expressão **citado por** e o sobrenome do autor e ano do documento consultado. Nas Referências deve-se incluir apenas a fonte consultada.

*Comunicação pessoal.* Não faz parte das Referências. Na citação coloca-se o sobrenome do autor, a data da comunicação, nome da Instituição à qual o autor é vinculado.

**2. Periódicos** (até quatro autores citar todos. Acima de quatro autores citar três autores *et al.*):

ANUÁRIO ESTATÍSTICO DO BRASIL. v.48, p.351, 1987-88.

FERGUSON, J.A.; REEVES, W.C.; HARDY, J.L. Studies on immunity to alphaviruses in foals. *Am. J. Vet. Res.*, v.40, p.5-10, 1979.

HOLENWEGER, J.A.; TAGLE, R.; WASERMAN, A. et al. Anestesia general del canino. *Not. Med. Vet.*, n.1, p.13-20, 1984.

**3. Publicação avulsa** (até quatro autores citar todos. Acima de quatro autores citar três autores *et al.*):

DUNNE, H.W. (Ed). Enfermedades del cerdo. México: UTEHA, 1967. 981p.

LOPES, C.A.M.; MORENO, G. Aspectos bacteriológicos de ostras, mariscos e mexilhões. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE MEDICINA VETERINÁRIA, 14., 1974, São Paulo. *Anais...* São Paulo: [s.n.] 1974. p.97. (Resumo).

MORRIL, C.C. Infecciones por clostridios. In: DUNNE, H.W. (Ed).

Enfermedades del cerdo. México: UTEHA, 1967. p.400-415.

NUTRIENT requirements of swine. 6.ed. Washington: National Academy of Sciences, 1968. 69p.

SOUZA, C.F.A. *Produtividade, qualidade e rendimentos de carcaça e de carne em bovinos de corte*. 1999. 44f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) – Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte.

**4. Documentos eletrônicos** (até quatro autores citar todos. Acima de quatro autores citar três autores *et al.*):

QUALITY food from animals for a global market. Washington: Association of American Veterinary Medical College, 1995. Disponível em: <<http://www.org/critca16.htm>>. Acessado em: 27 abr. 2000.

JONHNSON, T. Indigenous people are now more combative, organized. Miami Herald, 1994. Disponível em: <<http://www.summit.fiu.edu/MiamiHerld-Summit-RelatedArticles/>>. Acessado em: 5 dez. 1994.

### Taxas de submissão e de publicação

- **Taxa de submissão:** A taxa de submissão de R\$50,00 deverá ser paga por meio de boleto bancário emitido pelo sistema eletrônico do Conveniar <http://conveniar.fepmvz.com.br/eventos/#servicos> (necessário preencher cadastro). Somente artigos com taxa paga de submissão serão avaliados. Caso a taxa não seja quitada em até 30 dias será considerado como desistência do autor.
- **Taxa de publicação:** A taxa de publicação de R\$150,00 por página, por ocasião da prova final do artigo. A taxa de publicação deverá ser paga por meio de depósito bancário, cujos dados serão fornecidos na aprovação do artigo.  
**OBS.:** Quando os dados para a nota fiscal forem diferentes dos dados do autor de contato deve ser enviado um e-mail para [abmvz.artigo@abmvz.org.br](mailto:abmvz.artigo@abmvz.org.br) comunicando tal necessidade.

### SOMENTE PARA ARTIGOS INTERNACIONAIS

- **Submission and Publication fee.** The publication fee is of US\$100,00 (one hundred dollars) per page, and US\$50,00 (fifty dollars) for manuscript submission and will be billed to the corresponding author at the final proof of the article. The publication fee must be paid through a bank slip issued by the electronic article submission system. When requesting the bank slip the author will inform the data to be intle invoice issuance.

### Recursos e diligências

- No caso de o autor encaminhar resposta às diligências solicitadas pelo ABMVZ ou documento de recurso o mesmo deverá ser anexado em arquivo Word, no item "Justification" (Step 6), e também enviado por e-mail, aos

- cuidados do Comitê Editorial, para [abmvz.artigo@abmvz.org.br](mailto:abmvz.artigo@abmvz.org.br).
- No caso de artigo não aceito, se o autor julgar pertinente encaminhar recurso o mesmo deve ser feito pelo e-mail [abmvz.artigo@abmvz.org.br](mailto:abmvz.artigo@abmvz.org.br).