

**ANÁLISE MORFOLÓGICA E MORFOMÉTRICA DE ÚTERO, OVÁRIO,
GLÂNDULAS ADRENAIS E PERFIL LIPÍDICO DE RATAS SUPLEMENTADAS
COM CAPSIATE**

Márcia Adriana Miranda Moraes

**ANÁLISE MORFOLÓGICA E MORFOMÉTRICA DE ÚTERO, OVÁRIO,
GLÂNDULAS ADRENAIS E PERFIL LIPÍDICO DE RATAS SUPLEMENTADAS
COM CAPSIATE**

Márcia Adriana Miranda Moraes

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: Fisiopatologia e Saúde Animal.

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Caliê Castilho

636
M827a

Moraes, Márcia Adriana Miranda.

Análise morfológica e morfométrica de útero, ovário, glândulas Adrenais e perfil lipídico de ratas suplementadas com capsiate / Márcia Adriana Miranda Moraes. – Presidente Prudente, 2015.

39 f.: il.

Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) -
Universidade do Oeste Paulista – Unoeste,
Presidente Prudente, SP, 2015.

Bibliografia.

Orientador: Caliê Castilho.

1. Obesidade. 2. Dislipidemia. 3. Capsaicina. 4.
Folículo ovariano. 5. Histologia. I. Título.

MÁRCIA ADRIANA MIRANDA MORAES

**ANÁLISE MORFOLÓGICA E MORFOMÉTRICA DE ÚTERO, OVÁRIO,
GLÂNDULAS ADRENAIS E PERFIL LIPÍDICO DE RATAS SUPLEMENTADAS
COM CAPSIATE**

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: Fisiopatologia e Saúde Animal.

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Caliê Castilho

Presidente Prudente, 22 de junho de 2015.

BANCA EXAMINADORA

Profa. Dra. Alessandra Melchert
Universidade do Estadual Paulista – UNESP
Botucatu-SP

Profa. Dra. Caliê Castilho
Universidade do Oeste Paulista – Unoeste
Presidente Prudente- SP

Profa. Dra. Inês Cristina Giometti
Universidade do Oeste Paulista – Unoeste
Presidente Prudente - SP

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho, a "Deus" pelo milagre da vida e em razão disso sempre está ao meu lado iluminando e guiando-me para que eu atinja todos meus objetivos de forma fraterna e justa .

A minha família, meu esposo Cássio, meu filho Vinícius, que sempre me apoiaram e a todo o amor que sempre dedicaram a mim, me ajudando a construir mais esse projeto.

Finalmente agradeço a todos os professores diretos e indiretamente me ensinaram e me ajudaram a lapidar esse trabalho, em especial à minha orientadora Caliê Castilho bem como o professor Rogério Giuffrida que mesmo em momentos de dúvida e dificuldades estiveram à minha disposição, acreditando sempre no meu potencial e na minha vontade de vencer, com um único intuito ensinar e fazer valer cada tempo dispensado de nossas vidas em troca de um benefício coletivo, o "saber".

AGRADECIMENTOS

Á Deus, que através da força do teu espírito presente, me fez superar as barreiras e dificuldades encontradas no decorrer deste caminho a atingir mais uma conquista em busca de mais conhecimento.

E para a concretização deste estudo se efetivasse: agradeço às inúmeras pessoas que foram incentivadoras neste processo que com seus ensinamentos serão a partir de agora essenciais na minha caminhada pessoal e profissional. Então, por estes extraordinários exemplos, expresso meus sinceros agradecimentos.

Aos professores e doutores que me repassaram seus conhecimentos desprovidos de qualquer vaidade, fazendo com que meu desenvolvimento fosse o melhor possível.

RESUMO

Análise morfológica e morfométrica de útero, ovário, glândulas adrenais e perfil lipídico de ratas suplementadas com capsiate

Obesidade é caracterizada pelo acúmulo excessivo de tecido adiposo, de origem multifatorial. Em busca da redução de peso, indivíduos utilizam alimentos funcionais, como exemplo o Capsiate, CH-19 extrato doce (*Capsicum annuum* L.), que contém capsinóides, é um análogo de Capsaicina, não pungente, com propriedades termogênicas. O capsiate exibe potente atividade contra a angiogênese e permeabilidade vascular induzida pelo fator de crescimento endotelial vascular. O estudo foi desenvolvido face ausência de estudos sobre capsianóides em órgãos reprodutivos na literatura. O objetivo foi avaliar o efeito do capsiate na histologia do útero, ovário, glândula adrenal e perfil lipídico de ratas obesas e não obesas.

Material e Métodos: Sessenta e quatro ratas Wistar divididas em quatro grupos (n=16): Controle; Obeso; Capsiate e Capsiate Obeso. Os Grupos Controle e Capsiate receberam ração comercial. Já Grupo Obeso e Capsiate Obeso receberam dieta palatável hiperlipídica. Para os grupos Capsiate e Capsiate Obeso foi administrado por gavagem 10 mg de capsiate diluído em 0,5 ml de água filtrada, 1 vez dia, para os grupos Controle e Obeso foi administrado por gavagem 0,5 ml de água filtrada (placebo). Após 12 semanas, os animais anestesiados, sangue coletado e eutanasiados. Órgãos reprodutivos e as glândulas adrenais foram corados pela técnica de HE e submetidos à análise morfológica e morfométrica. Análise estatística foi verificada pelo teste de Levene, empregou-se (ANOVA *one-way*), com contrastes pelo método de Tukey. Realizadas com auxílio do Software SPSS 16.0 e com nível de significância de 5%. **Resultados:** significativa elevação nos níveis de HDL – Col nos grupos Capsiate e Capsiate Obeso. A espessura do endométrio foi menor ($p < 0,05$) no grupo Capsiate e foi observado aumento ($p < 0,05$) no número de folículo secundário e corpos lúteos no grupo Capsiate Obeso. As regiões glomerular, reticulada e medular apresentaram espessura menor ($p < 0,05$) no grupo Capsiate comparado ao Controle. **Conclusão:** O capsiate reduz proliferação endometrial em ratas não obesas, aumenta o número de corpos lúteos em ratas obesas e induz o aumento do HDL-colesterol, porém não evitou aumento no peso corporal das ratas. Porém, novos estudos são necessários para avaliar o efeito do capsiate em órgãos reprodutivos, devido à escassez na literatura científica.

Palavras-Chave: obesidade; dislipidemia; capsaicina; folículo ovariano; histologia.

ABSTRACT

Morphological and morphometric analysis of the uterus, ovary, adrenal glands and lipid profile of rats supplemented with capsiate

Obesity is characterized by excessive accumulation of adipose tissue, of multifactorial origin. In pursuit of weight reduction, individuals use functional foods, for example the Capsiate, CH-19 extract sweet (*Capsicum annum* L.), which contains capsinoids, it is a capsaicin analog, not pungent, with thermogenic properties. The capsiate exhibits potent activity against angiogenesis and vascular permeability induced by vascular endothelial growth factor. The study was conducted face lack studies on capsianóides in reproductive organs in the literature. The aim: was to evaluate the effect of capsiate on the histology of the uterus, ovary, adrenal gland and lipid profile of obese and non-obese rats. Material and methods: Sixty-four male Wistar rats were divided into four groups (n = 16): Control; Obese; Capsiate and Capsiate Obeso. Groups Control and Capsiate received commercial feed. Group Obese and Capsiate Obese received palatable high fat die. For groups Capsiate and Capsiate Obese it was administered by gavage 10 mg capsiate diluted in 0.5 ml of filtered water, 1 once day, for groups Control and Obese it was administered by gavage 0,5 ml of filtered water (placebo). After 12 weeks, the animals anesthetized, blood collected and euthanized. Reproductive organs and the adrenal glands they were stained with HE technique and submitted to morphological analysis and morphometric. Statistical analysis, it was verified by the Levene test, was employed (one-way ANOVA), contrasts with the Tukey method. Performed using SPSS 16.0 software and 5% significance level. **Results:** significant elevation in HDL – Col in the groups Capsiate and Capsiate Obese. The thickness of the endometrium was lower (p <0.05) in Capsiate and was observed increase (p <0.05) in the number of secondary follicles and corpus luteum in group Capsiate Obese. The glomerular regions, crosslinked and medullary they had a lower thickness (p <0.05) in Capsiate group compared to the control. **Conclusion:** The capsiate reduces endometrial proliferation no obese rats, increases the number of corpus luteum in obese rats and induces an increase in HDL-cholesterol, but not prevented increase in body weight of rats. However, further studies are needed to evaluate the effect of capsiate reproductive organs because of the shortage in the scientific literature.

Keywords: obesity; dyslipidemia; capsaicin; ovarian follicle; histology.

SUMÁRIO

1 ARTIGO ORIGINAL.....	09
ANEXOS	28
ANEXO 1 APROVAÇÃO DO COMITÊ DE ÉTICA.....	29
ANEXO 2 NORMAS PARA AUTORES	31

1 **1 ARTIGO ORIGINAL**

2

3 **Análise morfológica e morfométrica de útero, ovário, glândulas adrenais e perfil**
4 **lipídico de ratas suplementadas com capsiate**

5

6 **AUTORES**

7 **Márcia Adriana Miranda Moraes:** Aluna Mestrado em Fisiopatologia e Saúde
8 Animal da Universidade do Oeste Paulista – UNOESTE - Presidente Prudente, São Paulo, Brasil.

9 **Alessandra Melchert:** Docente do Departamento de Clínica Veterinária da
10 Universidade Estadual Paulista – UNESP – Botucatu, São Paulo, Brasil.

11 **Franciele Alves Caldato:** Aluna Mestrado em Fisiopatologia e Saúde Animal da
12 Universidade do Oeste Paulista – UNOESTE - Presidente Prudente, São Paulo, Brasil.

13 **Luciane de Souza Romero:** Aluna Mestrado em Fisiopatologia e Saúde Animal da
14 Universidade do Oeste Paulista – UNOESTE - Presidente Prudente, São Paulo, Brasil.

15 **Rogério Giuffrida:** Docente Mestrado em Fisiopatologia e Saúde Animal da
16 Universidade do Oeste Paulista – UNOESTE - Presidente Prudente, São Paulo, Brasil.

17 **Cecília Braga Laposy:** Docente Mestrado em Fisiopatologia e Saúde Animal da
18 Universidade do Oeste Paulista – UNOESTE - Presidente Prudente, São Paulo, Brasil.

19 **Caliê Castilho:** Docente Mestrado em Fisiopatologia e Saúde Animal da
20 Universidade do Oeste Paulista – UNOESTE - Presidente Prudente, São Paulo, Brasil.

21 Universidade do Oeste Paulista - UNOESTE. calie@unoeste.br

22 **Título Abreviado: Capsiate em órgão reprodutivos e adrenal**

23 **Palavras-Chave:** obesidade; dislipidemia; capsiacina; folículo ovariano; histologia.

24 **Tipo de artigo: Artigo Original**

25 **Total de palavras: 3.068**

26 **Tabela: 04**

27 **Figura: 02**

28

29

30

31 RESUMO

32 **Análise morfológica e morfométrica de útero, ovário, glândulas adrenais e perfil** 33 **lipídico de ratas suplementadas com capsiate**

34 **Objetivo:** avaliar o efeito do capsiate na histologia do útero, ovário, glândula adrenal e
35 perfil lipídico de ratas obesas e não obesas. **Material e Métodos:** Sessenta e quatro ratas
36 Wistar divididas em quatro grupos (n=16): Controle; Obeso; Capsiate e Capsiate Obeso.
37 O Controle e Capsiate receberam ração comercial. Já Obeso e Capsiate Obeso
38 receberam dieta palatável hiperlipídica. Para o Capsiate e Capsiate Obeso foi
39 administrado por gavagem 10 mg de capsiate diluído em 0,5 ml de água filtrada, 1 vez
40 dia, para o Controle e Obeso foi administrado por gavagem 0,5 ml de água filtrada
41 (placebo). Após 12 semanas, os animais anestesiados, sangue coletado e eutanasiados.
42 Órgãos reprodutivos e as glândulas adrenais foram corados pela técnica de HE e
43 submetidos à análise morfológica e morfométrica. Análise estatística verificada pelo teste
44 de Levene, empregou-se ANOVA, com contrastes pelo método de Tukey, nível de
45 significância de 5%. **Resultados:** significativa elevação nos níveis de HDL – Col no
46 Capsiate e Capsiate Obeso. A espessura do endométrio foi menor ($p<0,05$) no Capsiate e
47 foi observado aumento ($p<0,05$) no número de folículo secundário e corpo lúteo no
48 Capsiate Obeso. As regiões glomerular, reticulada e medular apresentaram espessura
49 menor ($p<0,05$) no Capsiate comparado ao Controle. **Conclusão:** O capsiate reduz
50 proliferação endometrial em ratas não obesas, aumenta o número de corpos lúteos em
51 ratas obesas e induz o aumento do HDL-colesterol, porém não evitou aumento no peso
52 corporal das ratas. Novos estudos são necessários avaliar o efeito do capsiate em órgãos
53 reprodutivos, devido à escassez na literatura científica.

54 **Palavras-Chave:** obesidade; dislipidemia; capsaicina; folículo ovariano; histologia.

55

56 ABSTRACT

57 **Morphological and morphometric analysis of the uterus, ovary, adrenal glands and** 58 **lipid profile of rats supplemented with capsiate**

59 **Objective:** Evaluate the effect of capsiate on the histology of the uterus, ovary, adrenal
60 gland and lipid profile of obese and non-obese rats. Material and methods: Sixty-four male
61 Wistar rats were divided into four groups (n = 16): Control; Obese; Capsiate and Capsiate

62 Obeso. Control and Capsiate received commercial feed. Obese and Capsiate Obese
63 received palatable high fat die. For Capsiate and Capsiate Obese it was administered by
64 gavage 10 mg capsiate diluted in 0.5 ml of filtered water, 1 once day, for Control and
65 Obese it was administered by gavage 0,5 ml of filtered water (placebo). After 12 weeks,
66 the animals anesthetized, blood collected and euthanized. Reproductive organs and the
67 adrenal glands they were stained with HE technique and submitted to morphological
68 analysis and morphometric. Statistical analysis verified by the Levene test, was employed
69 ANOVA, contrasts with the Tukey method, significance level of 5%. **Results:** significant
70 elevation in HDL – Col in the Capsiate and Capsiate Obese. The thickness of the
71 endometrium was lower ($p < 0.05$) in Capsiate and was observed increase ($p < 0.05$) in the
72 number of secondary follicles and corpus luteum in Capsiate Obese. The glomerular
73 regions, crosslinked and medullary they had a lower thickness ($p < 0.05$) in Capsiate
74 compared to the Control. **Conclusion:** The capsiate reduces endometrial proliferation no
75 obese rats, increases the number of corpus luteum in obese rats and induces an increase
76 in HDL-cholesterol, but not prevented increase in body weight of rats. However, further
77 studies are needed to evaluate the effect of capsiate in reproductive organs because of
78 the shortage in the scientific literature.

79 **Keywords:** obesity; dyslipidemia; capsaicin; ovarian follicle; histology.
80

81 INTRODUÇÃO

82 A obesidade é caracterizada pelo acúmulo excessivo de tecido adiposo
83 (gordura), em decorrência de desequilíbrio do balanço energético corporal (ingesta
84 calórico/gasto energético), que acomete atualmente 300 milhões de pessoas. Possui
85 origem multifatorial, incluindo fatores neuroendócrinos, psíquicos, intestinais, genéticos e
86 tem relação direta com diminuição da qualidade de vida (1).

87 Segundo a ABESO, 2009, (2), o tratamento da obesidade é complexo e
88 ainda multidisciplinar, exigindo reorganização do estilo de vida. Além disso, tratamentos
89 não convencionais, dentre eles o uso do alimento funcional, que pretende produzir
90 redução do peso ou da gordura corporal, tem sido frequente.

91 Alimentos funcionais são definidos como aqueles que fornecem benefícios
92 adicionais aos da alimentação (3). Um alimento pode ser considerado funcional se for
93 demonstrado que o mesmo pode afetar beneficemente uma ou mais funções alvo no

94 corpo, além de possuir efeitos nutricionais adequados, de maneira que seja tanto
95 relevante para o bem estar e a saúde, quanto para a redução do risco de uma doença
96 (4,5).

97 Dentre as novas tendências, o Capsiate: CH-19 doce (*Capsicum*
98 *annuum* L.), contém capsinóides, encontrado na pimenta doce, que é um análogo de
99 Capsaicina, cuja característica marcante é a não pungência, ou seja, ausência de
100 queimadura sensorial. (6). O Capsiate possui propriedades termogênicas, promove
101 aumento do metabolismo energético, diminui o acúmulo de gordura corporal, eleva à
102 temperatura corporal e o consumo de oxigênio em humanos, acelera o metabolismo
103 lipídico e promove redução do colesterol (7).

104 Essas ações, em parte, podem ser explicadas pela ativação do sistema
105 nervoso autônomo, ramo do simpático, pela capsaicina (8). Quando liberada na
106 circulação, a albumina transporta capsaicina para a glândula adrenal que estimula a
107 liberação de catecolaminas, aumentando a lipólise nos adipócitos, a glicogenólise
108 (transformação do glicogênio em glicose) no fígado e oxidação de substrato no músculo
109 (6). Em revisão, Kargi e Iacobellis, 2014, (9), apoiados por evidências científicas,
110 sustentaram a hipótese de que existe uma "linha cruzada" entre o tecido adiposo e a
111 glândula adrenal, influenciada por seus respectivos hormônios e concluíram que a
112 obesidade está também associada a alterações na função dessa glândula.

113 Sabe-se que a obesidade afeta negativamente as funções reprodutivas,
114 reduzindo a fertilidade no sexo feminino (10-13), portanto o controle de peso corporal
115 deve ser almejado nas mulheres em fase reprodutiva. No entanto, ao optar pelo uso de
116 alimentos funcionais, como auxiliar na dieta, é necessário conhecer seus efeitos gerais no
117 organismo, incluindo na esfera reprodutiva e até o presente não existe estudos sobre a
118 ação do capsiate em reprodução.

119 Uma evidência de que o capsiate pode exercer efeito sobre o aparelho
120 reprodutor é amparado por suas ações sobre o VEGF (fator de crescimento endotélio
121 vascular). O VEGF exerce importante função na angiogênese e na vasculogênese (14,
122 15) e está provado que o capsiate exibe potente atividade contra a angiogênese e
123 permeabilidade vascular induzida pelo VEGF (16). O VEGF por suas ações pró-
124 angiogênese estão envolvidos na reprodução, tanto no desenvolvimento dos folículos,
125 quanto do corpo lúteo (17-22). Se há o bloqueio da atividade biológica do VEGF, há a
126 interrupção da foliculogênese e da formação do CL (20, 23).

127 Devido à escassez na literatura científica, de trabalhos sobre o efeito do
128 capsiate em órgãos reprodutivos, o atual estudo foi desenvolvido com o objetivo de avaliar
129 o efeito do capsiate na histologia do útero, ovário, glândulas adrenais e perfil lipídico de
130 ratas obesas e não obesas.

131

132 **MATERIAL E MÉTODOS**

133 O presente estudo foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais
134 (CEUA) protocolo n° 1992, 2014, da Universidade do Oeste Paulista, universidade
135 proponente do estudo. Foram utilizadas 64 ratas Wistar, adultas, com 60 dias de idade e
136 peso corporal entre 200 e 250g no início do experimento. As ratas foram alojadas em
137 caixas plásticas, com dimensões de 41x 34x 17,5 numa densidade de quatro ratas por
138 caixa e mantidas no Biotério com acesso a água e alimento, sob fotoperíodo de 12 horas
139 com ciclos claro/escuro, temperatura média de 22°C ± 2 °C, por 12 semanas, sendo
140 realizada a eutanásia ao final do experimento.

141

142 ***Delineamento experimental***

143 Os animais receberam dietas específicas durante 12 semanas e foi avaliado
144 o peso em gramas (g) em balança digital (ELC-10) de precisão no início e final do período
145 experimental. Nas 6 primeiras semanas do experimento as ratas foram divididas em 2
146 grupos de 32 animais cada e receberam dois tipos de dieta (Magro – ração comercial;
147 Obeso – ração hiperlipídica) e nas últimas 6 semanas foram divididos nos quatro grupos a
148 seguir com 16 animais cada:

149 - **Grupo Controle (G - C):** animais alimentados com dieta padrão (ração comercial
150 Presence[®] - Purina) “*ad libitum*”, mais suplementação diária de placebo (0,5 ml de água
151 filtrada) em dose única por gavagem, sempre no mesmo horário, às 11 horas.

152 - **Grupo Capsiate (G - Caps):** animais alimentados com dieta padrão (ração comercial
153 Presence[®] - Purina) “*ad libitum*”, mais suplementação diária de capsiate na dose de 10 mg
154 por animal (24), diluído em 0,5 ml de água filtrada, por gavagem sempre no mesmo
155 período do dia, às 11 horas da manhã.

156 - **Grupo Obeso (G - O):** animais alimentados com dieta palatável hiperlipídica (DPH),
157 previamente descrita e utilizada por Estadella et al., (25). A DPH consiste em uma mistura
158 hipercalórica, normoproteica e hiperlipídica contendo ração comercial Presence[®],

159 amendoim torrado, chocolate ao leite e bolacha maisena na proporção 3: 2: 2: 1,
160 administrada *ad libitum*. Esta dieta apresenta a seguinte composição: 20% de proteínas,
161 24% de lipídios, 41% de carboidratos, 5,9% de fibras e 5% de resíduos minerais (26),
162 mais suplementação diária de placebo (0,5 ml de água filtrada) em dose única, por
163 gavagem sempre no mesmo horário, às 11 horas.

164 - **Grupo Capsiate Obeso (G – CapsO)**: animais alimentados com dieta hiperlipídica
165 descrita no Grupo O, mais suplementação diária de capsiate descrita no Grupo Caps.

166 Ao final do experimento foi realizada colheita de sangue por punção cardíaca
167 em tubos a vácuo, após anestesia geral dos ratos com a associação de tiletamina e
168 zolazepam (Zoletil[®]) por via intramuscular, na dose de 30 mg/kg e tiopental sódico
169 (Thiopentax[®]) intraperitoneal, na dose de 60 mg/kg (27).

170 **Análise Bioquímica**

171 Para determinação do perfil lipídico, foram avaliados os triglicerídeos, o
172 colesterol total e sua fração HDL-Col (lipoproteína de alta densidade). Os exames foram
173 realizados através do método colorimétrico enzimático, utilizando Kits bioquímicos
174 (Labtest) e dosados em analisador semi-automático (Quick Lab II – Drake).

175 **Avaliações Histológicas**

176 Amostras de útero, ovário e adrenal foram fixadas em solução de Davidson
177 durante 24 horas, em seguida foram processadas de acordo com a técnica de rotina
178 histopatológica para inclusão em parafina. Cortes de útero e adrenal com 5µm de
179 espessura foram obtidos em micrótomo rotativo e depositados em lâminas. Os cornos
180 uterinos foram emblocados e seccionados de modo transversal no sentido ápice do corno
181 e foram tomadas 3 medidas da espessura do miométrio e endométrio em pontos
182 equidistantes e ao final foi obtida a média de tais medidas (figura 1). O mesmo foi
183 realizado com a glândula adrenal onde foi tomada 1 medida da espessura de cada zona
184 (glomerular, fasciculada e reticulada) da camada cortical e medular (figura 2).



185

186 Figura 1. Corte histológico de útero da rata do grupo Capsiate Obeso, com altura do endométrio, corado
 187 pela técnica de HE. Aumento 10X. Arquivo Pessoal

188

189

190

191

192

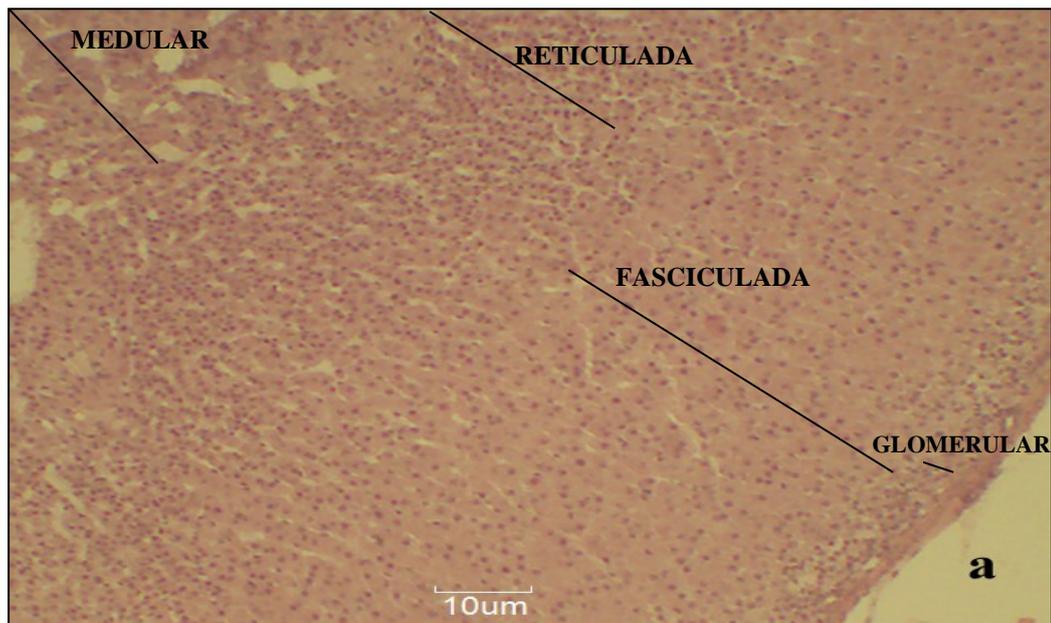
193

194

195

196

197



198 Figura 2. Corte histológico de glândula adrenal da rata do grupo Capsiate, corado pela técnica de HE.
 199 Aumento 10x. Fonte: Arquivo pessoal

200

201 Já os ovários foram submetidos a 20 cortes seriados de 5µm de espessura,
 202 aleatórios, a cada 5 secções histológicas 1 foi selecionada, totalizando 4 secções por
 203 animal, as quais foram submetidas à análise morfológica. Em seguida as lâminas, de
 204 útero, ovário e adrenal foram coradas pelos métodos da Hematoxilina e Eosina (28).

204

205 No ovário os folículos foram classificados em: folículo primordial, folículo
 206 primário, folículo secundário, folículo terciário e corpo lúteo, de acordo com sua morfologia
 segundo descrito por Myers et al., (29). Foi classificado como primordial a presença de

207 um oócito rodeado por uma única camada de células da granulosa plana. O folículo
208 primário mostrou uma camada de célula da granulosa cubóide, respectivamente, os
209 folículos secundários foram identificados como tendo mais de uma camada de células da
210 granulosa sem antro visível. Folículos terciários ou antrais possuíam pequenas áreas de
211 fluido folicular (antro) ou um único espaço antral grande. Já os corpos lúteos se
212 apresentavam pequenos e muitas vezes em degeneração, característico das fases de
213 pró-estro e estro (30).

214 Todas as medidas obtidas dos órgãos avaliados (útero e adrenal) foram
215 analisadas em microscópio óptico acoplado (morfometria) ou não (contagem) ao sistema
216 digitalizador com o programa Motic Images Plus (version 2.0) e objetiva de 10x, sendo
217 todas as lâminas avaliadas as cegas.

218

219 ***Análise Estatística***

220 Para a Análise estatística, inicialmente, todos os grupos de dados foram
221 submetidos aos testes de Shapiro-Wilk Levene para verificar respectivamente os
222 pressupostos de normalidade dos dados e homogeneidade de variâncias. Para
223 determinar se os grupos experimentais diferiram estatisticamente recorreu-se a análise de
224 variância em uma via (ANOVA *one-way*), com contrastes pelo método de Tukey. Todas as
225 análises foram realizadas com auxílio do Software SPSS 16.0 e com nível de significância
226 de 5% (31).

227

228 **RESULTADOS**

229 O peso inicial não diferiu entre os grupos, denotando homogeneidade
230 experimental. O peso final dos grupos O e CAPS O não diferiu entre si e foram
231 significativamente superiores aos grupos C e CAPS (Tabela 1).

232

233

234

235 Tabela 1. Média \pm desvio padrão dos parâmetros de peso inicial e final obtidos de ratas
 236 Wistar suplementadas ou não com capsiate nos grupos estudados.

	Controle (n=16)	Capsiate (n=16)	Obeso (n=16)	Capsiate Obeso (n=16)
Peso Inicial	221,3 \pm 17,8 ^a	208,6 \pm 10,6 ^a	212,1 \pm 19,3 ^a	222,4 \pm 17,6 ^a
Peso Final	224,3 \pm 15,9 ^a	220,6 \pm 11,8 ^a	242,7 \pm 22,6 ^b	250,1 \pm 17,7 ^b
Diferença	3,0 \pm 22,9 ^a	12,1 \pm 7,0 ^a	30,6 \pm 11,1 ^b	27,7 \pm 18,5 ^b

237 Letras distintas na mesma linha indicam diferenças significativas entre os grupos ($p < 0,05$).

238 Na tabela 2 observa-se que o colesterol Total não diferiu entre os grupos
 239 CAPS, CAPS O e O, foi significativamente menor no C. Porém, o HDL-colesterol foi maior
 240 nos grupos CAPS e CAPS O quando comparado ao C e não diferiu do O. Não houve
 241 diferença significativa no triglicérides entre os grupos estudados.

242 Tabela 2. Média \pm desvio padrão de Colesterol Total, HDL – Colesterol e Triglicerídeos
 243 obtidos de ratas Wistar suplementadas ou não com capsiate nos grupos estudados.

	Controle (n=16)	Capsiate (n=16)	Obeso (n=16)	Capsiate Obeso (n=16)
Colesterol (mg/dL)	42,3 \pm 27,0 ^a	71,4 \pm 18,9 ^b	62,3 \pm 15,1 ^b	71,5 \pm 10,4 ^b
HDL (mg/dL)	38,8 \pm 24,9 ^a	57,9 \pm 23,1 ^b	46,9 \pm 17,4 ^{ab}	63,9 \pm 8,4 ^b
Triglicérides (mg/dL)	54,1 \pm 38,0 ^a	54,7 \pm 21,6 ^a	69,6 \pm 23,6 ^a	71,3 \pm 22,2 ^a

244 Valores de referência: HDL colesterol: 48,0 \pm 11,4mg/dL (32); Colesterol: 24-73 mg/dL. e Triglicérides:
 245 20-114 mg/dL (33); Letras distintas na mesma linha indicam diferenças significativas entre os grupos
 246 ($p < 0,05$)

247 As fases do ciclo estral foram determinadas segundo Westwood, 2008, (30),
 248 para avaliar útero e ovário somente foram utilizadas as fêmeas em estro e pró-estro (fase
 249 folicular). Desta forma foram utilizadas 13 ratas no grupo Controle, 11 no Capsiate, 12 no
 250 Obeso e 15 no Capsiate Obeso.

251 Os dados referentes aos órgãos reprodutivos estão demonstrados na Tabela
 252 3. No grupo CAPS o endométrio se apresentou menos espesso ($p < 0,05$) que nos grupos

253 O e C e não diferiu do CAPS O. Não houve diferença na espessura de miométrio, no
 254 número de folículos primordiais e primários entre os grupos estudados. Porém, a
 255 quantidade de folículos secundários foi maior ($p<0,05$) no CAPS O quando comparado ao
 256 C e CAPS e não diferiu do O. Já os folículos terciários foram encontrados em maior
 257 quantidade ($p<0,05$) no C quando comparado ao CAPS O e não diferiu dos demais. A
 258 quantidade média de Corpo Lúteo foi menor ($p<0,05$) no O quando comparado ao CAPS
 259 O e não diferiu do C e do CAPS.

260 Tabela 3. Espessura (um) de Endométrio e Miométrio; quantidade de corpos lúteos e
 261 folículos ovarianos obtidos de ratas Wistar suplementadas ou não com capsiate nos
 262 grupos estudados. Média \pm desvio padrão.

	Controle (n=13)	Capsiate (n=11)	Obeso (n=12)	Capsiate Obeso (n=15)
Endométrio	559.6 \pm 134.4 ^b	324.0 \pm 283.7 ^a	552.0 \pm 171.2 ^b	505.1 \pm 183.2 ^{ab}
Miométrio	287.7 \pm 70.7 ^a	244.0 \pm 123.0 ^a	255.6 \pm 45.9 ^a	253.4 \pm 66.2 ^a
Folículo Primordial	3.5 \pm 1.5 ^a	5.8 \pm 3,3 ^a	5.4 \pm 2.2 ^a	3.7 \pm 2.4 ^a
Folículo Primário	2.8 \pm 0.9 ^a	5.5 \pm 3.7 ^a	4.1 \pm 1.4 ^a	4.9 \pm 3.1 ^a
Folículo Secundário	2.2 \pm 0.4 ^a	2.4 \pm 1.8 ^a	3.2 \pm 1.5 ^{ab}	4.0 \pm 1.7 ^b
Folículo Terciário	5.2 \pm 1.9 ^a	4.5 \pm 2.8 ^{ab}	4.8 \pm 1.7 ^{ab}	3.3 \pm 1.5 ^b
Corpo Lúteo	2.0 \pm 1.2 ^{ab}	2.5 \pm 1.7 ^{ab}	1.8 \pm 0.7 ^a	3.2 \pm 1.3 ^b

263 Letras distintas na mesma linha indicam diferenças significativas entre os grupos ($p<0,05$)

264 A região glomerular foi significativamente maior no grupo C quando
 265 comparado com o CAPS e não diferiu do O e CAPS O. A região fasciculada e a cortical
 266 não apresentaram diferença, já a região reticulada apresentou-se mais espessa no grupo
 267 C comparando-se ao CAPS e CAPS O, os quais não diferiram entre si e foram iguais ao
 268 O. A região medular foi menos espessa no CAPS quando comparada ao C e não diferiu
 269 dos outros grupos (Tabela 4).

270 Tabela 4. Média \pm desvio padrão dos parâmetros histológicos da Adrenal, espessura (um)
 271 da glomerular, fasciculada, reticulada, cortical e medular obtidos de ratas Wistar
 272 suplementadas ou não com capsiate nos grupos estudados.

	Controle (n=16)	Capsiate (n=16)	Obeso (n=16)	Capsiate Obeso (n=16)
Glomerular	56.6 \pm 16.6 ^a	30.5 \pm 27.1 ^b	49.3 \pm 23.2 ^{ab}	42.3 \pm 23.2 ^{ab}
Fasciculada	383,6 \pm 101,8 ^a	275,1 \pm 226,5 ^a	333,1 \pm 166,2 ^a	308,3 \pm 199,0 ^a
Reticulada	213,1 \pm 66,7 ^a	107,2 \pm 99,1 ^b	140,1 \pm 69,2 ^{ab}	131,6 \pm 84,1 ^b
Cortical	653,3 \pm 139,7 ^a	412,8 \pm 342,5 ^a	522,5 \pm 244,2 ^a	480,8 \pm 292,6 ^a
Medular	341,4 \pm 128,3 ^a	185,6 \pm 178,9 ^b	230,1 \pm 125,8 ^{ab}	209,9 \pm 178,3 ^{ab}

273 Letras distintas na mesma linha indicam diferenças significativas entre os grupos ($p < 0,05$)
 274

275 DISCUSSÃO

276 Em roedores, um modelo de obesidade que reflete mais de perto hábitos
 277 alimentares ocidentais é a dieta palatável hiperlipídica (13). No presente estudo os grupos
 278 que receberam a dieta palatável hiperlipídica, Obeso e Capsiate Obeso, apresentou
 279 aumento significativo do peso corporal quando comparado aos grupos Controle e
 280 Capsiate. Porém a suplementação com capsiate não foi efetiva em evitar o ganho de peso
 281 no grupo Capsiate Obeso. Parece que os melhores resultados no gasto calórico são
 282 observados em indivíduos que não apresentam aumento de peso. Ohnuki et al. (2001)
 283 (24) suplementando ratos com 10mg/Kg/peso corporal de capsiate, com dieta comercial
 284 para ratos por duas semanas, verificaram aumento no gasto calórico e diminuição de
 285 gordura corporal. O mesmo foi observado por Ludy et al. (2012) (6) em revisão onde
 286 demonstraram que nos indivíduos com sobrepeso e obesidade, os efeitos da capsaicina
 287 sobre o gasto energético têm sido inconsistentes e parece ser melhor em indivíduos
 288 magros.

289 No atual estudo os níveis de triglicérides não apresentaram diferenças
 290 significativas entre os grupos, observou-se um aumento de colesterol total nos grupos
 291 Capsiate, Obeso e Capsiate Obeso, comparado ao grupo Controle. Liang et al. (2013)
 292 (34), que investigaram o efeito do capsianóide sobre os lipídios plasmáticos em ratos com
 293 dieta rica em colesterol, observaram resultados positivos com redução do colesterol total

294 e triglicerídeos. No entanto esse aumento observado no presente estudo pode ser devido
295 ao aumento do HDL-colesterol, pois a suplementação do capsiate elevou os níveis de
296 HDL nos grupos Capsiate e Capsiate Obeso quando comparado ao grupo Controle e
297 Obeso.

298 Estudos mostram que as concentrações plasmáticas da lipoproteína de alta
299 densidade (HDL-Colesterol) possuem funções antiaterogênicas, sendo clara sua atividade
300 antioxidante, antitrombótica e antiinflamatória. Além de participar no transporte reverso de
301 colesterol, remove lipídeos dos tecidos periféricos de volta para o fígado, é excretado na
302 bile e regula os níveis de colesterol total (35,36). Portanto, o aumento dos níveis de HDL-
303 Colesterol é bem vindo, uma vez que essa fração do colesterol diminui a probabilidade do
304 desenvolvimento de doença arterial coronariana e outras cardiopatias (37).

305 Observou-se no grupo Capsiate que o endométrio se apresentou menos
306 espesso que nos grupos Controle e Obeso, não diferindo do Capsiate Obeso,
307 provavelmente esse resultado se deve à menor proliferação endometrial. Recentemente
308 foi relatado que o receptor para o VEGF pode ser expresso em células endoteliais
309 vasculares, epitélio glandular do endométrio e das células do estroma, inclusive no
310 endométrio ectópico no caso de mulheres com endometriose (38-40). Resultados *in vitro*
311 sugerem que o capsiate bloqueia a angiogênese e permeabilidade vascular causada por
312 VEGF (Fator de crescimento endotélio vascular) (16). Novos estudos para o tratamento
313 da endometriose têm sido enfocados no uso de substâncias anti-angiogênese que atuam
314 inibindo o VEGF (40,41). Portanto, nas fêmeas onde houve suplementação com capsiate
315 o endométrio apresentou menor proliferação e isso pode ser explorado na terapêutica em
316 casos de endometriose.

317 Não houve diferença significativa no número de folículos primordiais e
318 primários. Sabe-se que em mamíferos, o início da foliculogênese/oogênese ocorre
319 somente na fase fetal e os folículos primordiais constituem a reserva de gametas
320 femininos. Os oócitos iniciam o processo de divisão meiótica, o qual se interrompe na
321 prófase da meiose I, no estágio de diplóteno. A meiose somente é retomada na
322 puberdade e perdura até o final da fase reprodutiva das fêmeas (42). Porém, a quantidade
323 de folículos secundários foi maior no grupo Capsiate Obeso quando comparado ao
324 Controle e Capsiate e não diferiu do Obeso. Wang et al. (2013) (43) investigaram a
325 associação entre obesidade e desenvolvimento folicular ovariano e observaram na análise
326 histológica que as ratas com dieta rica em gordura tiveram maior número e porcentagem

327 de folículos em desenvolvimento e atresícos quando comparados as ratas do grupo com
328 dieta comercial para ratos e com restrição calórica.

329 Já os folículos terciários foram encontrados em maior quantidade no grupo
330 Controle quando comparado ao Capsiate Obeso. Mas a quantidade média de corpo lúteo
331 foi maior ($p < 0,05$) no grupo Capsiate Obeso quando comparada ao Obeso e não diferiu
332 do grupo Controle e do Capsiate, demonstrando que a suplementação com o capsiate foi
333 positiva. Em estudo recente foi observado que ratas alimentadas com dieta palatável
334 hiperlipídica desde o nascimento até a idade adulta apresentaram níveis plasmáticos de
335 progesterona e LH reduzidos, conseqüentemente menores taxas de ovulação na manhã
336 do estro (13). Mas como podemos observar, no presente estudo a suplementação com
337 capsiate foi capaz de reverter à baixa taxa de ovulação, uma vez que no grupo Capsiate
338 Obeso houve maior número de Corpo Lúteo quando comparado ao Obeso.

339 As glândulas adrenais possuem grande relevância na obesidade (9). O
340 córtex da supra-renal dos mamíferos é conhecido por consistir de três zonas morfológica
341 e funcionalmente distintas, zona glomerular, zona fasciculada, e a zona reticular, que
342 secretam aldosterona, cortisol e andrógenos, respectivamente (44) e uma região medular
343 interna de origem neuroectodérmica que produz as catecolaminas (9).

344 No presente estudo a região glomerular (aldosterona) e reticulada
345 (andrógenos), foi significativamente maior no grupo Controle quando comparado com o
346 Capsiate e não diferiu do Obeso e Capsiate Obeso. Porém a região fasciculada e a região
347 cortical total, independente das camadas, não diferiram entre os grupos.

348 No presente estudo a região medular foi maior no grupo Controle quando
349 comparado ao Capsiate e não diferiu dos demais. A obesidade está associada com
350 hiperatividade do sistema nervoso simpático e uma teoria que explica esse achado é que
351 ocorre um mecanismo contra-regulador homeostático que visa o redirecionamento do
352 excesso de oferta de energia em termogênese adrenérgica, protegendo assim dos males
353 de um maior armazenamento de gordura (9).

354 O uso do capsiate não apresentou alteração morfométrica nas zonas
355 glomerular, zona fasciculada, zona reticulada e zona medular, quando comparado ao
356 grupo controle, o qual apresentou mais alterações que os demais grupos. Portanto, o
357 Capsiate não apresentou mudança significativa na estrutura da glândula adrenal no
358 presente estudo.

359 CONCLUSÃO

360 Concluimos que a suplementação com o capsiate reduz a proliferação endometrial
361 em ratas não obesas e parece atuar positivamente na reprodução, pois aumentou o
362 número de corpos lúteos no grupo obeso que recebeu Capsiate. Embora o Capsiate não
363 afetou o peso corporal das ratas, apresentou efeito benéfico no colesterol, uma vez que
364 induziu o aumento do HDL-colesterol. Porém, novos estudos são necessários para avaliar
365 o efeito do capsiate em órgãos reprodutivos, devido à escassez na literatura científica.

366 AGRADECIMENTOS

367 Cleonice Trevisan, auxiliar do laboratório de patologia do Hospital Veterinário
368 da UNOESTE.

369 DECLARAÇÃO

370 Declaramos que não existe conflito de interesses.

371 REFERÊNCIAS

- 372 1. Sant`Anna S, Caiado NM, Silva LJ. Neuromodulação Hipotalâmica: uma proposta
373 terapêutica para obesidade. **Revista Medicina e Saúde de Brasília 2014**; 3(2):192-204.
- 374 2. Associação Brasileira para o Estudo da Obesidade e da Síndrome Metabólica.
375 Diretrizes brasileiras de obesidade 2009/2010. 3. ed. Itapevi: **AC Farmacêutica 2009**.
376 Disponível em: www.abeso.org.br/pdf/diretrizes_brasileiras_obesidade_2009_2010_
- 377 3. Baldissera AC, Betta FD, Penna ALB, Lindner JDD. Alimentos funcionais: uma nova
378 fronteira para o desenvolvimento de bebidas protéicas a base de soro de leite. **Ciências**
379 **Agrárias**, Londrina **2011**; v. 32, n. 4, p. 1497-1512, out./dez.
- 380 4. Roberfroid MB. Functional food concept and its application to prebiotics. **Digest Liver**
381 **Dis 2002**; 34: 105-11.
- 382 5. Zeraik ML, Pereira CAM, Zuin VG, Yariwake J H. Maracujá: um alimento funcional?
383 **Revista Brasileira de Farmacologia Brazilian Journal of Pharmacognosy 2010**; 20(3):
384 459-471, Jun./Jul.

- 385 6. Ludy MJ, Moore GE, Mattes RD. The Effects of Capsaicin and Capsiate on Energy
386 Balance: Critical Review and Meta-analyses of Studies in humans. **Chem Senses** 2012;
387 37 (2): 103-121, fev.
- 388 7. Snitker S, Fujishima Y, Shen H, Ott S, Pi-sunyer X, Furuhashi Y, Sato H, Takahashi M.
389 Effects of novel capsinoid treatment on fatness and energy metabolism in humans:
390 possible pharmacogenetic implications. **Am J Clin Nutr.** 2009; 89 (1): 45-50, Jan.
- 391 8. Kawada T, Sakabe S, Watanabe T, Yamamoto M, Iwai K. Some pungent principles of
392 spices cause the adrenal medulla to secrete catecholamine in anesthetized rats. **Proc**
393 **Soc Exp Biol Med** 1988; 188: 229–233.
- 394 9. Kargi AY, Iacobellis G. Adipose Tissue and Adrenal Glands: Novel Pathophysiological
395 Mechanisms and Clinical Applications. **International Journal of Endocrinology** 2014;
396 Article ID 614074, 8 pages.
- 397 10. Pasquali R, Casimirri F. The impact of obesity on hyperandrogenism and polycystic
398 ovary syndrome in premenopausal women. **Clin Endocrinol** 1993; 39(1):1–16.
- 399 11. Tortoriello DV, McMinn J, Chua SC. Dietary-induced obesity and hypothalamic
400 infertility in female DBA/2J mice. **Endocrinology** 2004; 45(3):1238–47.
- 401 12. Brannian JD, Furman GM, Diggins M. Declining fertility in the lethal yellow mouse is
402 related to progressive hyperleptinemia and leptin resistance. **Reprod Nutr Dev** 2005;
403 45(2):143–50.
- 404 13. Sagae SC, Menezes EF, Bonfleur ML, Vanzela EC, Zacharias P, Lubaczeuski C,
405 Franci CR, Sanvitto GL. Early onset of obesity induces reproductive deficits in female rats.
406 **Physiology & Behavior** 105 2012; 1104–1111.
- 407 14. Ferrara N, Davis-Smyth T. The biology of vascular endothelial growth factor. **Endocr**
408 **Rev** 1997; 18, 4-25.
- 409 15. Shalaby F, Rossant J, Yamaguchi TP, Gertsenstein M, Wu XF, Breitman ML. Failure
410 of blood-island formation and vasculogenesis in Flk-1-deficient mice. **Nature** 1995; 376,
411 62-66.

- 412 16. Pyun BJ, Choi S, Lee Y, Kim TW, Min JK, Kim Y, Kim BD, Kim JH, Kim TY, Kim YM,
413 Kwon YJ, Capsiate, a Nonpungent Capsaicin-Like Compound, Inhibits Angiogenesis and
414 Vascular Permeability via a Direct Inhibition of Src Kinase Activity. **Cancer Research**
415 **2008**; 68: (1). January 1.
- 416 17. Dissen GA, Lara HE, Fahrebach WH, Costa ME, Ojeda SR. Immature rat ovaries
417 become revascularized rapidly after autotransplantation and show a gonadotropin-
418 dependent increase in angiogenic factor gene expression. **Endocrinology** **1994**; 134,
419 114-1154.
- 420 18. Ferrara N, Chen H, Davis-Smyth T, Gerber HP, Nguyen TN, Peers D. Vascular
421 endothelial growth factor is essential for corpus luteum angiogenesis, **Nature Medicine**
422 **1998**; 4, 336-340.
- 423 19. Stouffer RL, Martínez-Chequer JC, Molskness TA, Xu F, Hazzard TM. Regulation and
424 action of angiogenic factors in the primate ovary. **Arch Med Res** **2001**; 32, 567-575.
- 425 20. Danforth DR, Abrogast LK, Ghosh S, Dickerman A, Rofagha R, Friedman CI. Vascular
426 endothelial growth factor stimulates preantral follicle growth in the rat ovary. **Biol Reprod**
427 **2003**; 68, 1736-1741.
- 428 21. Kaczmarek MM, Schams D, Ziecik AJ. Role of vascular endothelial growth factor in
429 ovarian physiology an overview. **Reprod Biol** **2005**; 5, 111-136.
- 430 22. Fraser HM. Regulation of the ovarian follicular vasculature. **Reprod Biol Endocrinol**
431 **2006**; v.4, 18.
- 432 23. Zimmermann RC, Xiao E, Husami N, Sauer MV, Lobo R, Kitajewski J. Short-term
433 administration of antivascular endothelial growth factor antibody in the late follicular phase
434 delays follicular development in the rhesus monkey. **J Clin Endocrinol Metab** **2001**; 86,
435 768-772.
- 436 24. Ohnuki K, Haramizu S, Okl K, Watanabe T, Yazawa S, Fushiki T. Administration of
437 Capsiate, a Non-Pungent Capsaicin Analog, Promotes Energy Metabolism and
438 Suppresses Body Fat Accumulation in Mice **Bioscience, Biotechnology, and**
439 **Biochemistry** **2001**; 65:12, 2735-2740.

- 440 25. Estadella D, Oyama LM, Dâmaso AR, Ribeiro EB, Oller NCM. Effect of palatable
441 hyperlipidic diet on lipid metabolism of sedentary and exercised rats. **Nutrition** **2004**; 20,
442 218-224, fev.
- 443 26. Bueno AA, Habitante CA, Oyama LM, Estadella D, Ribeiro EB, Oller NCM. White
444 adipose tissue re-growth after parcial lipectomy in high fat diet induced obese Wistar rats.
445 **J Physiol Sci** **2011**; 61: 53-63. Jan
- 446 27. Kanashiro GP, Cassu RN. Anestesia em animais selvagens e de laboratório. In:
447 Andrade SF, editor. **Manual de Terapêutica Veterinária** **2002**; 3^a ed., São Paulo: Rocca;
448 p. 727-46.
- 449 28. Michalany J. Técnica Histológica em Anatomia Patológica. 1^a ed., São Paulo: **Editora**
450 **Pedagógica e Universitária** **1998**; p.277.
- 451 29. Myers M, Britt KL. Methods for quantifying follicular numbers within the mouse ovary.
452 **Reproduction** **2004**; 127 569–580.
- 453 30. Westwood FR. The Female Rat Reproductive Cycle: A Practical Histological Guide to
454 Staging. **Toxicologic Pathology** **2008**; 36: 375-384.
- 455 31. Field A. Discovering Statistics using IBM SPSS Statistics. 4. Ed. Thousand Oaks:
456 **Sage Publications Limited Textbooks** **2012**; P. 952.
- 457 32. Dantas JA, Ambiel CR, Cuman RKN, Baroni S, Bersani ACA. Valores de referência de
458 alguns parâmetros fisiológicos de ratos do Biotério Central da Universidade Estadual de
459 Maringá, Estado do Paraná. **Revista Acta Sci Health Sci** **2006**; 28(2):165-170.
- 460 33. Giknis MLA, Clifford CB. Clinical laboratory parameters for Crl:WI (Han) Rats, **Charles**
461 **Rivers Laboratorie** **2008**; 17.
- 462 34. Liang YT, Tian XY, Chen JN, Peng C, Ma KY, Zuo Y, R Jiao, Lu Y, Y Huang, Chen ZY.
463 Capsaicinoids lower plasma cholesterol and improve endotelial function in hamsters. **Eur J**
464 **Nutr** **2013**; Feb; 52 (1): 379-88
- 465 35. Nunes VS, Leanca CC, Panzoldo NB, Parra E, Cazita PM, Nakandakare ER, faria CE,
466 Quintão ECR. HDL-C concentration is related to markers of absorption ando f cholesterol

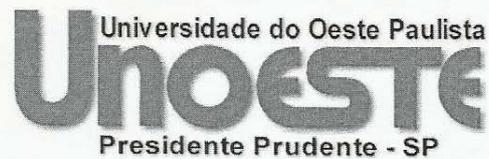
- 467 synthesis: Study in subjects with low us. High HDL-C. **Clinica Chimica Acta 2011**; 412 (1-
468 2):176-180
- 469 36. Lima E S, Couto R. D. Estrutura, metabolismo e funções fisiológicas da lipoproteína de
470 alta densidade. **J Bras Patol Med Lab 2006**; v. 42(3): 169-178.
- 471 37. Kasumov T, Willard B, Li L, Li M, Conger H, Buffa JA. $^2\text{H}_2\text{O}$ -based high-density
472 lipoprotein turnover method for the assessment of dynamics high-density lipoprotein
473 function in mice. **Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology 2013**; v.33, n.8,
474 p.1994 – 2003
- 475 38. Bourlev V, Volkov N, Pavlovitch S, Lets N, Larsson A, Olovsson M. The relationship
476 between microvessel density, proliferative activity and expression of vascular endothelial
477 growth factor-A and its receptors in eutopic endometrium and endometriotic lesions.
478 **Reproduction 2006**; 132: 501-9.
- 479 39. Machado DE, Abrão MS, Berardo PT, Takiya CM, Nasciutti LE. Vascular density and
480 distribution of vascular endothelial growth factor (VEGF) and its receptor VEGFR-2 (Flk-1)
481 are significantly higher in patients with deeply infiltrating endometriosis affecting the
482 rectum. **Fertil Steril 2008**; 90: 148-55.
- 483 40. Liu F, Wang L, Zhang Xian-Xia, Min Shu-Yun, Liu Yi-Xuan, Zuo Z, Jin Zhi-Xing, Zhu
484 Zhi-Ling. Vascular endothelial growth factor receptor-2 inhibitor cediranib causes
485 regression of endometriotic lesions in a rat model. **Int J Clin Exp Pathol 2015**;8(2):1165-
486 1174
- 487 41. Soysal D, Kizildag S, Saatli B, Posaci C, Soysal S, Koyuncuoglu M, Dogan O. A novel
488 angiogenesis inhibitor bevacizumab induces apoptosis in the rat endometriosis model.
489 **Balkan J Med Genet. 2015** Apr 10;17(2):73-80
- 490 42. Van DHR, Zhao J. Formation of mammalian oocytes and their growth, differentiation
491 and maturation within ovarian follicles. **Theriogenology 2005**; 63:1717-51

- 492 43. Wang N, Luo L-L, Xu J-J, Xu M-Y, Zhang X-M, Zhou X-L, Liu W-J, Fu Y-C. Obesity
493 accelerates ovarian follicle development and follicle loss in rats **Received: May 15, 2013;**
494 **Accepted: September 4, 2013; Published Online: October 16, 2013**
- 495 44. Mitani F, Mukai K, Miyamoto H, Suematsu M, Ishimura Y: The undifferentiated cell
496 zone is a stem cell zone in adult rat adrenal cortex. **Biochim Biophys Acta 2003;** 1619:
497 317–324.

ANEXOS

ANEXO 1

APROVAÇÃO DO COMITÊ DE ÉTICA

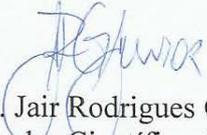


Coordenadoria Central de Pesquisa (CCPq)

PARECER FINAL

Declaramos para os devidos fins que o Projeto de Pesquisa intitulado “EFEITOS DA SUPLEMENTAÇÃO DO CAPSIATE EXTRAÍDO DA PIMENTA DOCE (CAPSICUM ANNUM) NOS ORGÃOS REPRODUTIVOS (ÚTERO E OVÁRIO), GLÂNDULA ADRENAL E GLÂNDULA TIREÓIDE DE RATAS WISTAR”, cadastrado na Coordenadoria Central de Pesquisa (CCPq), sob o número nº 1992 tendo como pesquisador responsável a Profa. CALIE CASTILHO e os docentes participantes LUIZ WALDEMAR DE OLIVEIRA e OSIMAR CARVALHO SANCHES e as discentes DENISE HELENA BOTON e MARCIA ADRIANA MIRANDA MORAES , foi avaliado e **APROVADO** pela Coordenadoria Central de Pesquisa (CCPq) da Universidade do Oeste Paulista - UNOESTE de Presidente Prudente-SP.

Presidente Prudente, 14 de março de 2014.


Prof. Dr. Jair Rodrigues Garcia Jr.
Coordenador Científico da CCPq

ANEXO 2
NORMAS PARA AUTORES

Instruções para autores

Informações Gerais

Ressaltamos a importância de seguir estas instruções com atenção. O não respeito às normas acarretará atrasos ao processo de revisão do manuscrito (MS).

MS deve ser apresentado exclusivamente para os ABE&M, nunca ter sido publicado ou estar sob consideração para publicação, em forma substancial, em outro periódico, profissional ou leigo. O MS deve ser redigido em Inglês ou Português, em conformidade com as especificações descritas abaixo. Os autores que não são fluentes na forma escrita do idioma inglês recomenda-se que o seu MS seja revisado e editado por um expert nesse sentido antes da apresentação. Esta iniciativa deve facilitar e acelerar todo o processo de revisão e potencial publicação do seu MS.

Trabalhos que não cumpram estes requisitos serão devolvidos ao autor para adequação necessária antes da revisão pelo corpo editorial.

Todas as submissões são à princípio cuidadosamente avaliadas pelos editores científicos. Os MS que não estejam em conformidade com os critérios gerais para publicação serão devolvidos aos autores dentro de três a cinco dias. Os MS em conformidade são enviados habitualmente para dois revisores.

Categorias de Manuscritos

Contribuições originais de pesquisa podem ser submetidas aos ABE&M como artigo original ou comunicação resumida. Outras categorias especiais de MS são descritas abaixo. Todos os MS devem seguir as limitações de número de palavras para o texto principal, conforme especificado abaixo. O número total de palavras não inclui o resumo, as referências ou legendas de tabelas e figuras. O número de palavras deve ser anotado na página de rosto, juntamente com o número de figuras e tabelas. O formato é semelhante para todas as categorias de MS e é descrito em detalhes na seção "Preparação do Manuscrito".

Artigos Originais

O artigo original é um relatório científico dos resultados de pesquisa original, clínica ou laboratorial, que não tenha sido publicado, ou submetido para publicação, em outro periódico, seja em papel ou eletronicamente. O artigo original não deve exceder 3600

palavras no texto principal, não deve incluir mais de seis figuras e tabelas e ter até 35 referências.

Comunicação Resumida

A comunicação resumida consiste de dados originais de importância suficiente para justificar a publicação imediata. É uma descrição sucinta dos resultados confirmatórios ou negativos de um estudo focado, simples e objetivo. Objetividade e clareza aumentam a possibilidade de um manuscrito ser aceito para publicação como comunicação rápida. O texto principal deve ter no máximo 1500 palavras, até 20 referências e não mais que duas ilustrações (tabelas ou figuras ou uma de cada).

Artigos de Revisão

Os ABE&M publica artigos de revisão que apresentam uma avaliação crítica e abrangente da literatura sobre questões atuais no campo da endocrinologia e da metabologia nas áreas clínica ou básica. Todos os artigos de revisão são submetidos preferencialmente após convite dos ABE&M e estão sujeitos a revisão pelos pares. Artigos nesta categoria são encomendados pelos editores a autores com experiência comprovada na área de conhecimento, ou quando a proposta direcionada pelos autores em contato prévio, receber a aprovação do conselho editorial. Estes MS não devem ter mais de 4000 palavras no texto principal, não podem incluir mais de quatro figuras ou tabelas e até 60 referências. Os autores devem mencionar a fonte e/ou solicitar autorização para o uso de figuras ou tabelas publicadas previamente.

Diretrizes ou Consensos

Consensos ou diretrizes propostos por sociedades de profissionais, forças-tarefa e outras associações relacionadas com a Endocrinologia e Metabologia podem ser publicadas pela ABE&M. Todos os MS serão submetidos a revisão por pares, devem ser modificáveis em resposta às críticas e serão publicados apenas se cumprirem as normas editoriais da revista. Estes MS habitualmente não devem ultrapassar 3600 palavras no texto principal, não devem incluir mais de seis figuras e tabelas e ter até 60 referências.

Relato de caso

Comunicação breve utilizada para apresentar relatos de casos, ou de caso isolado, de importância clínica ou científica. Estes relatórios devem ser concisos e objetivos. Devem conter dados de pacientes isolados ou de famílias que adicionem substancialmente

conhecimento à etiologia, patogênese e história natural da condição descrita. O relato de caso deve conter até 2000 palavras, não incluir mais de quatro figuras e tabelas e ter até 30 referências.

Carta ao Editor

Cartas ao Editor podem ser apresentadas em resposta à artigos publicados no ABE&M nas últimas 3 edições. As cartas devem ser breves comentários relacionados a pontos específicos, de acordo ou desacordo, com o trabalho publicado. Dados originais publicados relacionados ao artigo publicado são estimulados. As cartas podem ter no máximo 500 palavras e cinco referências completas. Figuras e tabelas não podem ser incluídas.

Preparação do manuscrito

Formato Geral

Os ABE&M exige que todos os manuscritos(MS) sejam apresentados em formato de coluna única, seguindo as seguintes orientações:

- O manuscrito deve ser apresentado em formato Word.
 - Todo o texto deve ser em espaço duplo, com margens de 2 cm de ambos os lados, usando fonte Times New Roman ou Arial, tamanho 11.
 - Todas as linhas devem ser numeradas, no manuscrito inteiro, e todo o documento deve ser paginado.
 - Todas as tabelas e figuras devem ser colocadas após o texto e devem ser legendadas.
- Os MS submetidos devem ser completos, incluindo a página de título, resumo, figuras e tabelas. Documentos apresentados sem todos esses componentes serão colocados em espera até que o manuscrito esteja completo.

Todas as submissões devem incluir:

- Uma carta informando a importância e relevância do artigo e solicitando que o mesmo seja para publicação nos ABE &M. No formulário de inscrição os autores podem sugerir até três revisores específicos e / ou solicitar a exclusão de até outros três.

O manuscrito deve ser apresentado na seguinte ordem:

1. Página de título.
2. Resumo (ou Sumário para os casos clínicos).
3. Texto principal.

4. Tabelas e Figuras. Devem ser citadas no texto principal em ordem numérica.
5. Agradecimentos.
6. Declaração de financiamento, conflitos de interesse e quaisquer subsídios ou bolsas de apoio recebidos para a realização do trabalho
7. Referências .

Página de Título

A página de rosto deve conter as seguintes informações:

1. Título do artigo.
2. Nomes completos dos autores e co-autores, departamentos, instituições, cidade e país.
3. Nome completo, endereço postal, e-mail, telefone e fax do autor para correspondência
4. Título abreviado de no máximo 40 caracteres para títulos de página
5. Palavras-chave (recomenda-se usar MeSH terms e até 5).
6. Número de palavras - excluindo a página de rosto, resumo, referências, figuras e tabelas.
7. 7. Tipo do manuscrito

Resumos

Todos os artigos originais, comunicados rápidos e relatos de casos deverão ser apresentados com resumos de no máximo 250 palavras. O resumo deve conter informações claras e objetivas sobre o estudo de modo que possa ser compreendido, sem consulta ao texto. O resumo deve incluir quatro seções que refletem os títulos das seções do texto principal. Todas as informações relatadas no resumo deve ter origem no MS. Por favor, use frases completas para todas as seções do resumo.

Introdução

O propósito da introdução é estimular o interesse do leitor para o trabalho em questão com uma perspectiva histórica e justificando os seus objetivos.

Materiais e Métodos

Devem ser descritos em detalhe como o estudo foi conduzido de forma que outros investigadores possam avaliar e reproduzir o trabalho. A origem dos hormônios, produtos

químicos incomuns, reagentes e aparelhos devem ser indicados. Para os métodos modificados, apenas as novas modificações devem ser descritas.

Resultados e Discussão

A seção Resultados deve apresentar brevemente os dados experimentais tanto no texto quanto por tabelas e / ou figuras. Deve-se evitar a repetição no texto dos resultados apresentados nas tabelas. Para mais detalhes sobre a preparação de tabelas e figuras, veja abaixo. A Discussão deve se centrar na interpretação e significado dos resultados, com comentários objetivos, concisos, que descrevem sua relação com outras pesquisas nessa área. Na Discussão devemos evitar a repetição dos dados apresentados em Resultados, pode conter sugestões para explica-los e deve terminar com as conclusões.

Autoria

Os ABE&M adotam as diretrizes de autoria e de contribuição definidas pelo Comitê Internacional de Editores de Periódicos Médicos (www.ICMJE.org). Co - autoria irrestrita é permitido. O crédito de autoria deve ser baseado apenas em contribuições substanciais para:

1. concepção e desenho, análise ou interpretação de dados
2. redação do artigo ou revisão crítica do conteúdo intelectual
3. aprovação final da versão a ser publicada.

Todas essas condições devem ser respeitadas. O primeiro autor é responsável por garantir a inclusão de todos os que contribuíram para a realização do MS e que todos concordaram com seu conteúdo e sua submissão aos ABE&M.

Conflito de interesses

Uma declaração de conflito de interesse para todos os autores deve ser incluída no documento principal, seguindo o texto, na seção Agradecimentos. Mesmo que os autores não tenham conflito de interesse relevante a divulgar, devem relatar na seção Agradecimentos.

Agradecimentos

A seção Agradecimentos deve incluir os nomes das pessoas que contribuíram para o estudo, mas não atendem aos requisitos de autoria. Os autores são responsáveis por

informar a cada pessoa listada na seção de agradecimentos a sua inclusão e qual sua contribuição. Cada pessoa listada nos agradecimentos deve dar permissão - por escrito, se possível - para o uso de seu nome. É da responsabilidade dos autores coletar essas informações.

Referências

As referências da literatura devem estar em ordem numérica (entre parênteses), de acordo com a citação no texto, e listadas na mesma ordem numérica no final do manuscrito, em uma página separada. Os autores são responsáveis pela exatidão das referências. O número de referências citadas deve ser limitado, como indicado acima, para cada categoria de apresentação.

Tabelas

As tabelas devem ser apresentadas no mesmo formato que o artigo (Word). Atenção: não serão aceitas tabelas como arquivos de Excel. As tabelas devem ser auto-explicativas e os dados não devem ser repetidos no texto ou em figuras e conter as análises estatísticas. As tabelas devem ser construídas de forma simples e serem compreensíveis sem necessidade de referência ao texto. Cada tabela deve ter um título conciso. Uma descrição das condições experimentais pode aparecer em conjunto como nota de rodapé.

Gráficos e Figuras

Todos os gráficos ou Figuras devem ser numerados. Os autores são responsáveis pela formatação digital, fornecendo material adequadamente dimensionado. Todas as figuras coloridas serão reproduzidas igualmente em cores na edição online da revista, sem nenhum custo para os autores. Os autores serão convidados a pagar o custo da reprodução de figuras em cores na revista impressa. Após a aceitação do manuscrito, a editora fornecerá o valor dos custos de impressão.

Fotografias

Os ABE&M preferem publicar fotos de pacientes sem máscara. Encorajamos os autores a obter junto aos pacientes ou seus familiares, antes da submissão do MS, permissão para eventual publicação de imagens. Se o MS contiver imagens identificáveis do paciente ou informações de saúde protegidas, os autores devem enviar autorização documentada do próprio paciente, ou pais, tutor ou representante legal, antes do material ser distribuído

entre os editores, revisores e outros funcionários dos ABE&M. Para identificar indivíduos, utilizar uma designação numérica (por exemplo, Paciente 1); não utilizar as iniciais do nome.

Unidades de Medida

Os resultados devem ser expressos utilizando o Sistema Métrico. A temperatura deve ser expressa em graus Celsius e tempo do dia usando o relógio de 24 horas (por exemplo, 0800 h, 1500 h).

Abreviaturas padrão

Todas as abreviaturas no texto devem ser definidas imediatamente após a primeira utilização da abreviatura.

Pacientes

Para que o MS seja aceito para submissão, todos os procedimentos descritos no estudo devem ter sido realizados em conformidade com as diretrizes da Declaração de Helsinque e devem ter sido formalmente aprovados pelos comitês de revisão institucionais apropriados, ou seu equivalente.

As características das populações envolvidas no estudo devem ser detalhadamente descritas. Os indivíduos participantes devem ser identificados apenas por números ou letras, nunca por iniciais ou nomes. Fotografias de rostos de pacientes só devem ser incluídos se forem cientificamente relevantes. Os autores devem obter o termo de consentimento por escrito do paciente para o uso de tais fotografias. Para mais detalhes, consulte as Diretrizes Éticas.

Os pesquisadores devem divulgar aos participantes do estudo potenciais conflitos de interesse e devem indicar que houve esta comunicação no MS.

Animais de Experimentação

Deve ser incluída uma declaração confirmando que toda a experimentação descrita no MS foi realizada de acordo com padrões aceitos de cuidado animal, como descrito nas Diretrizes Éticas.

Descrição Genética Molecular

Usar terminologia padrão para as variantes polimórficas, fornecendo os números de rs para todas as variantes relatadas. Detalhes do ensaio, como por exemplo as sequências de iniciadores de PCR, devem ser descritos resumidamente junto aos números rs . Os heredogramas devem ser elaborados de acordo com normas publicadas em Bennett et al .J Genet Counsel (2008) 17:424-433 -. DOI 10.1007/s10897-008-9169-9.

Nomenclaturas

Para genes, use a notação genética e símbolos aprovados pelo Comitê de Nomenclatura HUGO Gene (HGNC) - (<http://www.genenames.org/~V>).

Para mutações siga as diretrizes de nomenclatura sugeridos pela Sociedade Human Genome Variation (<http://www.hgvs.org/mutnomen/>)

- Fornecer e discutir os dados do equilíbrio Hardy-Weinberg dos polimorfismos analisado na população estudada. O cálculo do equilíbrio de Hardy-Weinberg pode ajudar na descoberta de erros de genotipagem e do seu impacto nos métodos analíticos.
- Fornecer as frequências originais dos genótipos, dos alelos e dos haplotipos
- Sempre que possível, o nome genérico das drogas devem ser referidos. Quando um nome comercial de propriedade é usado, ele deve começar com letra maiúscula.
- Siglas devem ser usados com moderação e totalmente explicadas quando usadas pela primeira vez.

TRABALHOS APRESENTADOS EM INGLÊS

O MS deve ser escrito em Inglês claro e conciso. Evite jargões e neologismos. A revista não está preparada para realizar grandes correções de linguagem, o que é de responsabilidade do autor. Se o Inglês não é a primeira língua dos autores, o MS deve ser revisado por um especialista em língua inglesa ou um nativo. Para os não-nativos da língua inglesa e autores internacionais que gostariam de assistência com a sua escrita antes da apresentação, sugerimos o serviço de edição científica do American Journal Experts (<http://www.journalexperts.com/index.php>) ou o PaperCheck (<http://www.papercheck.com/>).