

**HORMÔNIO DO CRESCIMENTO, ASSOCIADO OU NÃO AO EXERCÍCIO
RESISTIDO, NA CICLICIDADE REPRODUTIVA, ENDOCRINOLOGIA E
MORFOMETRIA UTERINA DE RATAS WISTAR**

RONALDO SENA E SILVA

**HORMÔNIO DO CRESCIMENTO, ASSOCIADO OU NÃO AO EXERCÍCIO
RESISTIDO, NA CICLICIDADE REPRODUTIVA, ENDOCRINOLOGIA E
MORFOMETRIA UTERINA DE RATAS WISTAR**

RONALDO SENA E SILVA

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 Ciências Animal – Área de Concentração: Fisiopatologia Animal.

Orientadora: Ines Cristina Giometti.

616.44
S586h

Silva, Ronaldo Sena e
Hormônio do crescimento, associado ou não ao
exercício resistido, na ciclicidade reprodutiva,
endocrinologia e morfometria uterina de ratas wistar
/ Ronaldo Sena e Silva. – Presidente Prudente,
2015.

41 f.: il.

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

Bibliografia.

Orientador: Ines Cristina Giometti.

1. Citologia vaginal. 2. Estradiol. 3. Exercício
físico. 4. Progesterona. 5. Útero. 6. Somatotrofina. I.
Título.

RONALDO SENA E SILVA

**HORMÔNIO DO CRESCIMENTO, ASSOCIADO OU NÃO AO EXERCÍCIO
RESISTIDO, NA CICLICIDADE REPRODUTIVA, ENDOCRINOLOGIA E
MORFOMETRIA UTERINA DE RATAS WISTAR**

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 Ciências Animal – Área de Concentração: Fisiopatologia Animal.

Presidente Prudente, 24 de setembro

BANCA EXAMINADORA

Prof.^a Dr.^a Ines Cristina Giometti

Prof.^a Dr.^a Isabele Emanuelli

Prof.^a Dr.^a Francis Lopes Pacagnelli

DEDICATÓRIA

Dedico essa realização, como tudo deveria ser em nossas vidas, a Deus, primeiramente por me conceder condições para enfrentar os problemas que encontrei com determinação e coragem, e em segundo momento por ter me concedido minha família, sem a qual não teria aporte ou possibilidades de me dedicar e alcançar o nível desejado.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, pelo dom da vida.

À minha família, que me deu suporte e inspiração para trilhar esse longo e árduo caminho, sempre a me oferecer tudo que precisava para ser capaz de passar por cada nível exigido.

Ao corpo docente da Instituição, que me deu aporte, conhecimento e informação de forma a me preparar para o futuro outrora distante e agora tão desesperadoramente perto, em especial à Professora Doutora Ines Cristina Giometti, que me auxiliou e orientou de forma competente para realização desta dissertação.

Agradeço ao corpo de funcionários da Instituição, que sempre trabalharam de forma assídua e comprometida, a fim de dar condições e subsidio para as atividades médicas realizadas.

A toda a equipe do Biotério Central, pela atenção, sempre prestada a nós.

Ao Professor Dr. José Carlos Silva Camargo Filho pelo treinamento e auxílio no desenvolvimento da metodologia.

Ao Robson Chacon Castoldi que nos auxiliou em todas as fases do experimento..

Ao Guilherme Nogueira nas análises das dosagens hormonais.

Agradeço por último, mas não menos importante, ao amigo e professor Marcos Oliveira Santos que me incentivo e auxiliou na escolha da linha de pesquisa.

Não sejas sábio a teus próprios olhos; teme ao Senhor e aparta-te do mal.

(Provérbios 3.7)

RESUMO

Hormônio do crescimento, associado ou não ao exercício resistido, na ciclicidade reprodutiva, endocrinologia e morfometria uterina de ratas wistar

O objetivo deste estudo foi verificar o uso do hormônio do crescimento (GH), associado ou não ao exercício resistido, no ciclo estral, na dosagem do estradiol e progesterona e na espessura do endométrio de ratas Wistar. As ratas foram divididas em 4 grupos (n=10): CT (controle); Ex (exercício resistido - saltos em água com 50% do peso corporal); GH (0,2UI/Kg de GH administrado); e ExGH (tratamento combinado dos grupos GH e Ex). A fase do ciclo estral foi determinada por citologias vaginais nas ratas, diariamente, durante 29 dias. Foi realizada dosagem hormonal nas ratas e as espessuras dos endométrios foram avaliadas por histologia. Utilizou-se o pressuposto de normalidade de Shapiro-Wilk. Para as amostras paramétricas, utilizou-se ANOVA e Tukey e para não paramétricas Kruskal-Wallis e Student-Newman-Keuls ($p < 0,05$). Houve maior número de ciclos reprodutivos no CT que nos demais grupos no período de 29 dias ($p < 0,05$), nenhuma diferença foi encontrada entre os grupos na dosagem hormonal ou na espessura de endométrio. Portanto, conclui-se que o GH, o exercício resistido e os dois combinados interferem na ciclicidade reprodutiva das fêmeas, reduzindo o número de ciclos das ratas, sem alterar a concentração de estradiol e progesterona ou a espessura do endométrio.

Palavras-chave: citologia vaginal, estradiol, exercício físico, progesterona, útero, somatotrofina.

ABSTRACT

Growth hormone, associate or not to resisted exercise in reproduction cycle, endocrinology and uterine morphometry of wistar rats

The aim of this study was to verify the use of growth hormone (GH), with or without resisted exercise, the estrous cycle, the dosage of the estradiol and progesterone and Wistar rats endometrium thickness. The rats were divided into four groups (n = 10): CT (Control); Ex (resisted exercise - water jumps with 50% of body weight); GH (0,2UI / kg administered GH); and ExGH (GH and Ex groups combined treatment). The estrous cycle phase of rats were determined by vaginal cytology, daily for 29 days. The rats' plasma was used for hormone dosage and the endometrium thicknesses were evaluated by histology. We used the Shapiro-Wilk normality presupposition. For samples that was parametric, ANOVA was used with Tukey, for no parametric samples, Kruskal-Wallis with Student-Newman-Keuls test was used ($p < 0.05$). There are a greater reproductive cycles number in CT than in other groups during the 29 days period ($p > 0.05$), no difference were found between the hormones dosage groups neither endometrial thickness. Therefore, it is concluded that GH and resisted exercises both combined affect females reproductive cycle, they reduced the number of cycles of rats but they do not change the estradiol and progesterone concentrations, neither endometrial thickness.

Keywords: physical exercise, vaginal smears, estradiol, progesterone, uterus, somatotropin.

LISTA DE ABREVIACOES

CT	controle
EX	exercício
ER α e ER β	receptores de estrógeno
ExGH	exercício + hormônio do crescimento
GH	hormônio do crescimento
GHR	receptor do hormônio de crescimento
GHRH	hormônio liberador de hormônio do crescimento
GnRH	homnio liberador de gondotrofina
hrGH	hormônio do crescimento recombinante humano
IGF-1 e IGF-2	fatores de crescimento semelhantes à insulina

SUMÁRIO

ARTIGO CIENTÍFICO.....	10
ANEXO 1 - NORMAS DA REVISTA ANAIS DA ACADEMIA BRASILEIRA DE CIÊNCIAS.....	36
ANEXO 2 - APROVAÇÃO DO COMITÊ DE TICA.....	40
ANEXO 3 - COMPROVANTE DE SUBMISSÃO DO ARTIGO CIENTIFICO....	41

ARTIGO CIENTÍFICO

1. Página de rosto

HORMÔNIO DO CRESCIMENTO, ASSOCIADO OU NÃO AO EXERCÍCIO RESISTIDO ALTERA A CICLICIDADE REPRODUTIVA DE RATAS WISTAR

GH e exercício resistido na reprodução de fêmeas

Seção: Ciências da Saúde

RONALDO SENA E **SILVA**¹; Lillian Martins **Cruz**¹; Ananda Lini Vieira da **Rocha**¹; Mariana Sampaio **Andrade**¹; Cesar Augusto Zanfolin **Bariani**¹; Gabriela Azenha Milano **Soriano**¹; Francislaine Aneliza Garcia **Santos**¹; Marcos Oliveira **Santos**¹; Caliê **Castilho**¹; Paula de Carvalho **Papa**²; Francis Lopes **Pacagnelli**¹; José Carlos Silva **Camargo Filho**³; Inês Cristina **Giometti**^{1*}.

1- Universidade do Oeste Paulista (UNOESTE), Campus II, Rod. Raposo Tavares, Km 572, Bairro Limoeiro, Presidente Prudente (SP), CEP: 19067-175.

2- Universidade de São Paulo (USP), Av. Prof. Dr. Orlando Marques Paiva, 87, São Paulo (SP), CEP: 05508-270.

3- Universidade Estadual Paulista (UNESP), Rua Roberto Simonsen, 305 - Centro Educacional, Pres. Prudente - SP, 19060-900.

* inesgiometti@yahoo.com.br / fone: (18) 3229-2115.

Palavras-chave: citologia vaginal, estradiol, exercício físico, progesterona, útero, somatotrofina.

2. Abstract

GROWTH HORMONE, WITH OR WITHOUT RESISTANCE EXERCISE ALTERS THE REPRODUCTIVE IN WISTAR RATS CYCLITY

The aim of this study was to verify the use of growth hormone (GH), with or without resisted exercise, the estrous cycle, the dosage of the estradiol and progesterone and Wistar rats endometrium thickness. The rats were divided into four groups (n = 10): CT (Control); Ex (resisted exercise - water jumps with 50% of body weight); GH (0,2UI / kg administered GH); and ExGH (GH and Ex groups combined treatment). The estrous cycle phase of rats were determined by vaginal cytology, daily for 29 days. The rats' plasma was used for hormone dosage and the endometrium thicknesses were evaluated by histology. We used the Shapiro-Wilk normality presupposition. For samples that was parametric, ANOVA was used with Tukey, for no parametric samples, Kruskal-Wallis with Student-Newman-Keuls test was used ($p < 0.05$). There are a greater reproductive cycles number in CT than in other groups during the 29 days period ($p > 0.05$), no difference were found between the hormones dosage groups neither endometrial thickness. Therefore, it is concluded that GH and resisted exercises both combined affect females reproductive cycle, they reduced the number of cycles of rats but they do not change the estradiol and progesterone concentrations, neither endometrial thickness.

Keywords: physical activity, vaginal cytology, estradiol, progesterone, uterus, somatotropin.

3. Introdução

O hormônio do crescimento (GH) ou somatotrofina é secretado pelas células somatotróficas da hipófise anterior e a taxa de produção deste hormônio é regulada por hormônios estimulador ou inibidor produzidos pelo hipotálamo (Carter-Su et al., 1996). Este hormônio proteico, juntamente com o fator de crescimento semelhante á insulina (IGF-1) e a insulina regulam o metabolismo de glicose, lipídeos e proteínas e assim regulam a composição corporal (Elis et al., 2011). Os principais efeitos do GH são o aumento da síntese proteica, a diminuição da degradação de proteínas, o aumento da mobilização de lipídeos e a diminuição da oxidação de glicose (Kopple, 1992; Powers and Howley, 2004; Revhaug and Mjaaland, 1993).

O GH estimula a síntese de IGF-1 pelo fígado, e pela maioria das células orgânicas (Casaburi, 2001; Lobie et al., 1990b; Vance, 1990). Ele pode agir de forma direta ou indireta por meio de seu principal mediador, o IGF-1, que atua autócrina ou paracrinamente em diferentes tipos celulares (Liu et al., 1998; Park and Vanderhoof, 1996), promovendo proliferação e diferenciação celular (Lanfranco et al., 2003).

A hipoglicemia, o sono, a infusão ou administração de aminoácidos e o exercício estimulam a liberação de GH no organismo (Gomes et al., 2003). Adaptações metabólicas e endócrinas são observadas durante a realização de exercício físico (Matsuse et al., 2010), com elevações nas concentrações plasmáticas dos hormônios cortisol e GH, e reduções nas concentrações plasmáticas de insulina (Silva Jr. et al., 2014). Durante o exercício físico ocorre constante liberação de GH, aumentando com a intensidade do exercício (Araujo, 1982; Flanagan et al., 1997), com isso estimula o crescimento e fortalecimento dos músculos, dos ossos e tecidos conjuntivos (Blackmore et al., 2012; Cutfield et al., 2000; McArdle et al., 2003; Poggi et al., 2012; Yang et al., 2006).

Praticantes de exercício físico tem utilizado o hrGH (GH recombinante humano) de forma indiscriminada para aumentar a captação de aminoácidos com a finalidade de aumentar sua massa muscular e acelerar a oxidação dos ácidos graxos, devido a ação anabólica e lipolítica do GH (Villaça et al., 2006). Porém, esses indivíduos não consideram os efeitos colaterais desse hormônio, como diabetes do tipo II, o edema periférico, o hipotireoidismo, a ginecomastia, dentre outros (Villaça et al., 2006).

O GH tem ação sobre vários tipos celulares, incluindo as células dos órgãos reprodutivos. O receptor de GH foi imunolocalizado nas células da granulosa de folículos antrais e dominantes, corpos lúteos, corpos albicans e no endotélio de vasos sanguíneos de ovários de mulheres, não sendo detectado em folículos pré-antrais, tecas, oócitos nem no estroma (Sharara and Nieman, 1994). Este hormônio desempenha um importante papel no crescimento folicular, na ovulação e na função luteínica (Barnett et al., 2006). O modo pelo qual o GH estimula a foliculogênese parece ser espécie-específico e varia de acordo com o ciclo ovariano (Hull and Harvey, 2002).

As fêmeas de camundongos, com deficiência do receptor de GH apresentaram redução na taxa de ovulação, diminuição de folículos antrais e aumento de folículos atrésicos, não sendo reversível através do tratamento com IGF-1, indicando que o GH exerce um efeito direto no ovário (Bachelot et al., 2002).

Há também indícios do papel do GH na esteroidogênese e na gametogênese (Childs, 2000), pois o GH aumenta a expressão de genes de enzimas esteroidogênicas, como a 3 β -hidroxiesteroide-desidrogenase (Stocco and Clark, 1996) e oócitos bovinos tratados com o GH chegaram à meiose mais rapidamente, aumentando a taxa de clivagem e aumentando a quantidade de blastocisto em relação aos não tratados com GH (Izadyar et al., 1997).

Devido ao uso indiscriminado deste hormônio proteico por humanos e à sua importância na reprodução, faz-se necessário a investigação do uso do GH na reprodução associado ou não ao exercício resistido. Portanto, este estudo tem o objetivo de verificar o uso do GH, associado ou não ao exercício resistido, na ciclicidade reprodutiva, na produção dos hormônios esteroidogênicos e na espessura do endométrio.

4. Materiais e métodos

Este experimento foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) Institucional (número do processo: 1014). Na presente pesquisa foram utilizadas 40 ratas Wistar provenientes do Biotério Central da Universidade do Oeste Paulista (UNOESTE). As ratas tinham 9 semanas de idade e a média de peso corporal era de 188,30 \pm 13,26 g, e foram mantidas em 12 caixas plásticas com

dimensões de 41x34x17,5 cm, numa densidade de 3 a 4 animais com marcação individual por caixa, recebendo água e ração da marca Supralab[®] (Supra, Empresa Alisul, Brasil) *ad libitum*, com temperatura ambiente entre 20 - 30°C e luz e umidade (55±15%) controlados, em ciclo de luz de 12 horas (claro e escuro) com início do período claro as 7 horas da manhã e término as 19 horas. As ratas foram aleatoriamente divididas em quatro grupos (n=10): CT (grupo sem exercício resistido e sem administrar GH), Ex (grupo com exercício resistido e sem administração de GH), GH (grupo sem exercício resistido e com administração de GH) e ExGH (grupo com exercício resistido e com administração de GH). As ratas que receberam GH foram submetidas ao uso de 0,2 UI/Kg de hrGH subcutâneo, da marca Saizen[®] (Merck, Brasil), seguindo o protocolo de Kaminsky et al. (2012). O medicamento foi administrado a cada 2 dias, por 30 dias (segunda-feira, quarta-feira e sexta-feira), utilizando uma seringa de insulina. Os outros animais receberam solução fisiológica (0,9% de cloreto de sódio) em volume similar.

O exercício resistido foi realizado por meio de um protocolo de exercício resistido de saltos verticais na água segundo Malheiro et al. (2009). Uma semana antes de iniciar o experimento, as ratas foram adaptadas ao exercício resistido na água. O exercício de adaptação consistia em realizar séries progressivas (uma, duas e três) de 10 saltos verticais com coletes acomodados na região anterior ao tórax que continham uma sobrecarga de 50% do peso corporal a cada dois dias, dentro de um tubo de policloreto de vinila de 25 cm de diâmetro com 38 cm de água aquecida (30°C) em seu interior. Os animais eram pesados, em uma balança de precisão (Modelo BT 8000, Marca Gehaka, Brasil), a cada dois dias de exercício resistido a fim recalcular a carga do colete. Após esta adaptação, os animais foram submetidos a um protocolo de 4 séries de 10 saltos com intervalo de 1 minuto entre cada série, três vezes por semana, durante 1 mês. Após a prática do exercício físico era realizada a secagem das ratas.

Foi realizada citologia vaginal das 40 ratas diariamente para acompanhamento do ciclo estral. A citologia vaginal foi feita diariamente nas ratas, utilizando uma pipeta de Pasteur e fazendo lavagens sucessivas com solução fisiológica para remover células vaginais para o esfregaço vaginal em lâmina histológica. Os esfregaços foram corados com Panótico[®] Rápido (Lab.Med.Vet) e as células analisadas em microscópio binocular (Modelo YS2-T, Marca Nikon) em

aumento de 100x e 400x para determinação da fase do ciclo estral (Marcondes et al., 2002).

Ao final de 4 semanas, as ratas foram anestesiadas com éter etílico e induzidas à morte por exsanguinação, todas na fase de diestro. O sangue colhido em tubos a vácuo com heparina foi utilizado para a dosagem hormonal por radioimunoensaio na Univesidade Estadual Paulista (UNESP, Campus de Araçatuba,SP) utilizando-se “kits” comerciais (Coat-A-Count[®] Kit, Diagnostics Products Corporation, CA, USA) de estradiol e progesterona para ratas, seguindo-se as recomendações dos fabricantes. O coeficiente de variação intra-ensaio para progesterona foi de 1,27% para controle alto e 0,09% para controle baixo e para estradiol foi de 6,30% para controle alto e 0,06% para controle baixo.

Os úteros foram armazenados em Solução de Davidson (ácido acético P.A. – 10 ml, formaldeído (37-40%) – 20 ml, etanol a 95% - 30 ml e água destilada – 30 ml) por 24 horas, depois lavados em água corrente e então fixados em álcool 70° para posterior confecção de lâminas.

O material foi incluso em parafina e foram obtidos cortes de 5µm de espessura e as lâminas foram confeccionadas utilizando o micrótomo do setor de Patologia Animal do Hospital Veterinário da UNOESTE. Então as lâminas foram submetidas à coloração de hematoxilina-eosina. As lâminas foram fotografadas por uma câmera acoplada ao microscópio óptico em aumento de 100x. As espessuras dos endométrios das ratas foram avaliadas utilizando a média de 10 medidas de altura de endométrio por lâmina, para essas aferições, utilizou-se o software MOTIC Image plus 2.0[®].

Todos os parâmetros foram avaliados pelo pressuposto de normalidade de Shapiro-Wilk, considerando dados normais quando $p > 0,01$. As amostras foram então submetidas a análises paramétricas ANOVA seguida de Tukey ($p < 0,05$), com exceção da análise de número de ratas em cada fase (luteínica e folicular) por dia que não passaram no teste de normalidade e foram avaliados pelo teste não paramétricas de Kruskal-Wallis seguido de Student-Newman-Keuls, considerando $p < 0,05$. Todas as análises foram realizadas no programa BioEstat, versão 5.0.

5. Resultados e discussão

O presente estudo utilizou ratas como modelo experimental de humanos, porque as ratas têm sido eleitas como o principal modelo animal em vários estudos envolvendo reprodução (Paccola et al., 2013), devido ao seu curto período de ciclo estral (Marcondes et al., 2001), em média 4 a 5 dias (Marcondes et al., 2002; Westwood, 2008). O ciclo estral de ratas ocorre independente da estação do ano, porém é dependente das condições de ambiente do laboratório, como tempo de exposição à luz (Paccola et al., 2013), por isso, as ratas foram mantidas em condições laboratoriais de ciclos de 12 horas de claridade e 12 horas de escuro durante todo o experimento.

O ciclo estral de ratas é dividido em quatro fases, proestro, estro, metaestro e diestro. A citologia vaginal tem sido usada para determinação do ciclo estral de ratas, sendo caracterizada pelos tipos celulares encontrados, células epiteliais (redondas e nucleadas), células cornificadas (irregulares e sem núcleo) e os pequenos e redondos leucócitos (Marcondes et al., 2002; Paccola et al., 2013). As análises deste estudo das fases do ciclo estral de ratas seguiram os conceitos dos tipos celulares em maior proporção esperados de serem encontrados em cada uma das fases, porém as quatro fases do ciclo estral foram resumidas em duas, folicular (proestro e estro) e luteínica (metaestro e diestro). O motivo da classificação foi evitar erros de interpretação, pois algumas fases têm duração de horas e como a citologia vaginal foi realizada a cada 24 horas, algumas fases não seriam observadas neste intervalo de tempo.

A duração de cada fase do ciclo é de 12 horas de proestro, 12 horas de estro, metaestro de 21 a 24 horas e diestro de 57 a 60 horas (Paccola et al., 2013). No presente trabalho não foi verificado o tempo de duração de cada fase isoladamente, só das fases luteínica e folicular devido ao tempo entre as citologias vaginais (Figura 1). Não foram encontradas diferenças significativas entre os diferentes grupos na duração média em dias de cada fase (folicular ou luteínica).

Figura 1: Médias e erro padrão da duração média em dias das fases (folicular e luteínica) dos ciclos estrais das ratas dos diferentes grupos (n=10): CT (controle), GH (tratadas com 0,2UI/Kg de hrGH a cada dois dias), Ex (submetidas ao exercício

resistido a cada dois dias) e ExGH (tratadas com hrGH e submetidas ao exercício resistido), $p < 0,05$.

Foi possível avaliar também no presente trabalho, o número médio de ratas por dia em cada fase do ciclo estral, folicular e luteínica (Tabela 1) nos diferentes grupos experimentais, não foram observadas diferenças entre os grupos ($p > 0,05$).

Tabela 1: Ratas em cada fase (luteínica e folicular) por dia em cada um dos grupos ($n=10$): CT (controle), GH (tratadas com 0,2UI/Kg de hrGH a cada dois dias), Ex (submetidas ao exercício resistido a cada dois dias) e ExGH (tratadas com hrGH e submetidas ao exercício resistido).

Fases	Grupos	Média	Desvio padrão	Mediana	Desvio Interquartilico
Folicular	CT	5,03	2,33	5,0	4,0
	GH	5,21	1,93	5,0	3,0
	Ex	4,83	1,84	5,0	2,0
	ExGH	5,31	1,95	6,0	3,0
Luteínica	CT	4,97	2,33	5,0	4,0
	GH	4,79	1,93	5,0	3,0
	Ex	5,17	1,84	5,0	2,0
	ExGH	4,69	1,95	4,0	3,0

Não houve diferença significativa entre os grupos em nenhuma das fases ($p > 0,05$).

Marcondes et al. (2002) relataram em seu estudo que apesar de 60 a 70% das ratas ter duração do ciclo de 4 a 5 dias, algumas ratas tem ciclos mais longos (mantendo a mesma fase durante dias) e irregulares que não seguem a sequência normal de proestro, estro, metaestro e diestro. Resultados similares foram observados durante o presente experimento, a média de duração em dias do ciclo por rata variou bastante de 2,55 a 6,25.

A variação no tempo de duração do ciclo estral deste estudo foi maior do que de outro estudo (Paccola et al., 2013) que foi de 3,5 a 5,5 dias, resultando em 4,5 dias em média. A média de duração do ciclo estral de todos os grupos do presente trabalho foi de 4,16 dias. Em outro estudo, a duração do ciclo estral das ratas também apresentou mais variação, de 3 a 8 dias e a média de 4,8 dias (Gronroos and Kauppila, 1959).

Sugere-se na literatura que pode haver um aumento do tempo do diestro, por uma pseudociese induzida pelo estímulo da colheita de células vaginais para o

esfregaço, se a penetração com a pipeta for muito profunda (Goldman et al., 2007). Porém, isso não ocorreu no presente trabalho porque o tempo de duração do diestro foi de no máximo três dias, o que não caracterizaria uma pseudociese. Em roedores, a caracterização da pseudociese é quando se detecta grande quantidade de leucócitos, característico de diestro, no esfregaço da citologia vaginal, por mais de quatro dias (Yang et al., 2009).

Embora não tenha sido observada diferença significativa na duração das fases do ciclo estral, foi observada diferença significativa na média de número de ciclos estrais das ratas no período avaliado (29 dias). As ratas do grupo controle tiveram um maior ($p < 0,05$) número de ciclos reprodutivos que as ratas submetidas ao GH, ao exercício resistido ou aos dois combinados (Figura 2). A diferença numérica encontrada no tempo de duração das fases pode explicar o maior número de ciclos reprodutivos no grupo controle que nos demais grupos, indicando que o GH, o exercício resistido e os dois combinados interferem na ciclicidade reprodutiva das fêmeas, aumentando o tempo de duração de ciclo estral e, portanto, reduzindo o número de ciclos estrais por mês.

Figura 2: Médias e erro padrão do número médio de ciclos estrais das ratas em um período de um mês para cada grupo ($n=10$): CT (controle), GH (tratadas com 0,2UI/Kg de hrGH a cada dois dias), Ex (submetidas ao exercício resistido a cada dois dias) e ExGH (tratadas com hrGH e submetidas ao exercício resistido). Letras diferentes representam diferenças estatísticas ($p > 0,05$).

A alteração da ciclicidade reprodutiva em fêmeas com o GH é suportada por dados na literatura, pois o GH e o IGF-I são importantes fatores para uma foliculogênese normal (Lucy, 2011; Silva et al., 2009). O GH tem diferentes funções no ovário no período pré-ovulatório, auxiliar as ações do FGF e LH nas células foliculares, possivelmente pelo aumento dos receptores de gonadotrofinas, promover o desenvolvimento folicular junto com o FSH e ainda facilitar as ações do FSH e LH que culminam na ovulação (Childs et al., 2006). A administração de GH em meninas antes da puberdade aumenta o número de folículos visíveis em ovários (Tinggaard et al., 2014). Em bovinos, foi comprovado que o GH é também um potente estimulador da formação do corpo lúteo inicial (Giometti et al., 2009; Lucy et al., 1994).

O exercício resistido provocou as mesmas alterações na ciclicidade reprodutiva que o GH, provavelmente porque o exercício resistido eleva os níveis de GH plasmáticos (Silva Jr. et al., 2014). O exercício físico em longo prazo em mulheres, praticamente dobra as concentrações séricas de GH e a amplitude do pulso de GH no dia de repouso, se o treinamento é realizado a uma intensidade maior do que o limiar de lactato do indivíduo. (Weltman et al., 1992).

No presente trabalho, utilizou-se exercício resistido com carga de peso para uma maior intensidade de exercício, e embora o lactato no músculo não tenha sido dosado no presente trabalho, a metodologia aplicada seguiu o protocolo de Malheiro et al. (2009) e foi o mesmo utilizado em outros dois trabalhos em que foi confirmado que este protocolo era anaeróbico, pois provocou hipertrofia muscular e aumento do lactato (Castoldi et al., 2013; Tanno et al., 2006).

A liberação de GH induzida por exercício é dependente da intensidade do exercício (Hartley et al., 1972; Vanhelder et al., 1984). Exceder a intensidade do limiar do exercício é necessário para a liberação de GH, o exercício anaeróbico de alta intensidade provoca maior liberação de GH do que exercício aeróbico de menor intensidade, mesmo com duração e esforço semelhantes (Vanhelder et al., 1984). Além disso, a liberação de GH pelo exercício é similar durante todas as fases do ciclo menstrual em mulheres (Weltman et al., 1992).

O GH fisiologicamente aumenta sua concentração plasmática durante o ciclo reprodutivo, esse aumento na fase folicular tardia é chamado de onda de GH (Faria et al., 1992; Frantz and Rabkin, 1965; Giustina and Veldhuis, 1998; Hull and Harvey, 2002; Ovesen et al., 1998). Embora não tenha a amplitude da onda do hormônio luteinizante (LH), gera pulsos de GH que são mais elevados em frequência e amplitude (Faria et al., 1992; Frantz and Rabkin, 1965; Ovesen et al., 1998).

Apesar dos efeitos benéficos do exercício resistido, um estudo com mulheres demonstrou que quando o exercício tem maior duração, intensidade e frequência está associada com maiores graus de subfertilidade (Gudmundsdottir et al., 2009). O exercício resistido exaustivo, com maior frequência, leva a uma esterilidade voluntária, as mulheres mais ativas por muitos dias tiveram mais problemas de fertilidade que as inativas (Gudmundsdottir et al., 2009). Atribui-se esse fato a um balanço energético negativo que causa disfunção hipotalâmica, causando flutuações na secreção de hormônio liberador de gonadotrofina (GnRH) (Aydin et al., 2014).

Tanto os esteroides anabólicos quanto o GH são usados para aumentar o desempenho dos atletas, porém numerosos efeitos colaterais podem ocorrer devido ao uso abusivo de anabólicos (Marson et al., 2009). Apesar de o GH estar relacionado com a melhora do desempenho atlético, ele também pode causar acromegalia, que é o crescimento desproporcional de tecidos moles, órgãos internos e órgãos membranosos (Cutfield et al., 2000).

O GH atua na proliferação celular via IGF-1, camundongos com o gene para o receptor de IGF-1 inativos são mais leves ao nascimento e morrem depois disso devido a hipoplasia dos órgãos (Baker et al., 1993). O GH e o IGF-1 estão envolvidos nos processos reprodutivos, suas ações incluem diferenciação e proliferação celular no útero e no embrião (Keller et al., 1998).

Camundongos transgênicos com gene do IGF-1 com baixa afinidade pelos ligantes do plasma possuem menor quantidade de IGF-1 ligado e maior concentração plasmática de GH e, conseqüentemente, aumento de órgãos como baço, rim, glândula mamária e útero (Elis et al., 2011). Esses camundongos possuem defeitos uterinos, com a altura epitelial aumentada e as camadas celulares desorganizadas. O útero é duas vezes maior que o normal e parece hiperplásico. A aparência do estroma é fibrosa e o tamanho do miométrio é aumentado. Apesar disso, essas fêmeas podem gerar e o tamanho da ninhada não é afetada (Elis et al., 2011). Segundo esses autores (Elis et al., 2011), os órgãos reprodutivos tem uma sensibilidade aumentada para o IGF-1, podendo representar uma maior incidência de tumor mais tarde com o aumento do IGF-1 livre. Sendo assim, quando observada neste estudo a espessura do endométrio das ratas nenhuma diferença estatística foi encontrada entre os grupos nem no corno uterino inicial nem no corno médio (Figura 3 e 4).

Figura 3: Média e erro padrão da espessura (μm) do endométrio do corno uterino médio e do corno inicial de ratas dos diferentes grupos (n=10): CT (controle), GH (tratadas com 0,2UI/Kg de hrGH a cada dois dias), Ex (submetidas ao exercício resistido a cada dois dias) e ExGH (tratadas com hrGH e submetidas ao exercício resistido), $p>0,05$.

Figura 4: Fotomicrografias em aumento de 100x das medidas da espessura de endométrio de corno uterino inicial (A e B) e corno uterino médio (C e D).

Um dos motivos para a espessura do endométrio não se alterar com a administração do GH pode ser a expressão gênica diferencial do receptor de GH no endométrio. Em bovinos, a expressão gênica endometrial de IGF-1 e GHR foi maior nos dias 1 a 5 pós-ovulação que na fase luteínica e a expressão de IGF-2 foi maior na fase luteínica (dia 12) com redução do dia 12 ao 19 (Sosa et al., 2010). O estradiol está correlacionado com a expressão do GHR e do IGF-1 e a progesterona do IGF-2, além disso, a síntese de IGF-1 é mais dependente do GH do que IGF-2 (Sosa et al., 2010). GHR é expresso no tecido endometrial de ratas (Lobie et al., 1990a), porém não foi encontrado na literatura o controle da expressão do GHR durante o ciclo estral em ratas.

Outro possível motivo para nenhuma alteração ser observada no útero das fêmeas é que aparentemente as fêmeas são menos responsivas ao GH. O tratamento com GH em humanos com deficiência de GH é capaz de aumentar as concentrações plasmáticas de IGF-1 em ambos os sexos, mas as mulheres são menos responsivas ao tratamento que os homens (Jorgensen and Christiansen, 1993), especialmente em pacientes que recebem terapia com estrógeno (Holloway et al., 1994).

O controle da liberação do GH parece ser diferente em machos e fêmeas, pois os hormônios sexuais esteroides provocam diferentes respostas no eixo hipotâmico-hipófise (Giustina and Veldhuis, 1998). A expressão gênica do hormônio liberador de GH (GHRH) é de 2 a 3 vezes maior no núcleo arqueado de ratos machos do que de fêmeas (Maiter et al., 1991; Mizobuchi et al., 1991). Enquanto, em fêmeas, uma situação de hipersecreção de GH provocada por implantação de tumor diminui em duas vezes a expressão hipotalâmica de GHRH, em machos diminui em 7 vezes (Argente et al., 1990). Foi demonstrado em estudo que ovariectomia em ratas aumenta a expressão do receptor do GHRH, e a expressão desse receptor é diminuída pela subsequente suplementação de estradiol (Lam et al., 1996).

As células somatotróficas expressam diferentemente os receptores de estrógeno ($ER\alpha$ e $ER\beta$) dependendo da fase do ciclo estral, $ER\beta$ é mais expresso no estro e metaestro e o $ER\alpha$ no proestro (Childs, 2002), sendo que o $ER\beta$ parece exercer um efeito inibitório no GH e o $ER\alpha$ um efeito estimulatório, condizente com as fases do ciclo de menor (estro e metaestro e maior expressão de GH (proestro) (Childs et al., 2000, 2006). A mudança nas concentrações de estrógeno durante o

ciclo levariam a uma elevação de GH antes da ovulação, e depois o aumento do estrógeno durante o estro provocaria uma redução na expressão de GH no período pós-ovulatório (Childs et al., 2006).

O GH é responsável pela promoção da composição corporal ideal que iria apoiar tanto a atividade reprodutiva quanto a gestação. Porém, os seus efeitos lipolíticos podem reduzir a reserva de energia, por isso a redução do GH pode ser necessário durante o período pós-ovulatório, para que haja reserva de gordura suficiente se houver uma gestação (Childs, 2000; Childs et al., 2006).

Todos esses estudos demonstram a importância da interação entre os hormônios esteroides e o GH, apesar disso, nenhuma diferença estatística foi encontrada entre os grupos, na dosagem de estradiol, progesterona ou na razão entre esses dois hormônios (Figura 5). O plasma foi colhido no diestro, esperava-se que o GH levasse a alguma alteração na produção de hormônios pelo ovário, porém isso não foi observado.

Figura 5: Média da dosagem de progesterona (ng/mL), Média da dosagem de estradiol (pg/mL), Média da razão entre estradiol (pg/mL) e progesterona (ng/mL) e erro padrão em ratas Wistar no final do experimento.

Porém, a relação entre estrógeno, GH e IGF-1 parece ser complexa e tecido-específica, pois o estrógeno inibe o acúmulo de IGF-1 no fígado e aumenta no útero de ratas hipofisectomizadas (Murphy and Friesen, 1988). A administração de estrógeno em mulheres após a menopausa atenua o efeito do GH exógeno (rhGH) em aumentar o IGF-1 plasmático (Holloway et al., 1994). Além disso, em algumas espécies, o estrógeno e o GH tem habilidade de “down-regulate” os receptores de GH do fígado impedindo a ação do GH (Giustina and Veldhuis, 1998), o que pode ter ocorrido, pois as fêmeas estavam ciclando normalmente, com a presença fisiológica dos hormônios gonadais.

A dose utilizada neste trabalho foi de 0,2 UI/Kg/dia (0,067 mg/Kg), 3 vezes por semana, o que equivale a 66,67 µg/Kg/dia. Segundo Tinggaard et al. (2014), o regime de alta dose é de 67 µg/Kg/dia e de baixa dose é de 35ug/Kg/dia. O tratamento preconizado em alguns trabalhos em humanos idosos é de 25 a 30 µg/Kg, 3 vezes/semana (Papadakis et al., 1996; Thompson et al., 1995; Welle et al., 1996) ou de 20 µg/Kg/dia (Taaffe et al., 1994). Essa dose foi suficiente para alterar a

ciclicidade reprodutiva das fêmeas sem, porém, alterar a concentração plasmática dos hormônios reprodutivos ou alterar a espessura do endométrio das ratas.

Conclui-se que o GH na dosagem utilizada, o exercício resistido e os dois combinados interferem na ciclicidade reprodutiva das fêmeas, reduzindo o número de ciclos das ratas, sem alterar a concentração plasmática de estradiol e progesterona ou a espessura do endométrio.

6. Agradecimentos

À Universidade do Oeste Paulista (UNOESTE) pelo apoio financeiro na forma de materiais e de bolsas PROBIC de Iniciação Científica e também por todo o suporte estrutural concedido durante o experimento.

Ao professor Dr. Guilherme de Paula Nogueira (Universidade Estadual Paulista - UNESP, Campus de Araçatuba, SP) pela contribuição no trabalho com a realização das dosagens hormonais.

7. Resumo

HORMÔNIO DO CRESCIMENTO, ASSOCIADO OU NÃO AO EXERCÍCIO RESISTIDO ALTERA A CICLICIDADE REPRODUTIVA DE RATAS WISTAR

O objetivo deste estudo foi verificar o uso do hormônio do crescimento (GH), associado ou não ao exercício resistido, no ciclo estral, na dosagem do estradiol e progesterona e na espessura do endométrio de ratas Wistar. As ratas foram divididas em 4 grupos (n=10): CT (controle); Ex (exercício resistido - saltos em água com 50% do peso corporal); GH (0,2UI/Kg de GH administrado); e ExGH (tratamento combinado dos grupos GH e Ex). A fase do ciclo estral foi determinada por citologias vaginais nas ratas, diariamente, durante 29 dias. Foi realizada dosagem hormonal nas ratas e as espessuras dos endométrios foram avaliadas por histologia. Utilizou-se o pressuposto de normalidade de Shapiro-Wilk. Para as amostras paramétricas, utilizou-se ANOVA e Tukey e para não paramétricas Kruskal-Wallis e Student-Newman-Keuls ($p < 0,05$). Houve maior número de ciclos reprodutivos no CT que nos demais grupos no período de 29 dias ($p < 0,05$), nenhuma diferença foi encontrada entre os grupos na dosagem hormonal ou na espessura de endométrio. Portanto, conclui-se que o GH, o exercício resistido e os dois combinados interferem na ciclicidade reprodutiva das fêmeas, reduzindo o número de ciclos das ratas, sem alterar a concentração de estradiol e progesterona ou a espessura do endométrio.

Palavras-chave: citologia vaginal, estradiol, exercício físico, progesterona, útero, somatotrofina.

8. Referências

- Araujo CGS de. 1982. Aspectos endócrinos do exercício. *Rev Bras Ciênc do Esporte*. 3: 110–124.
- Argente J, Chowen-Breed JA, Steiner RA and Clifton DK. 1990. Somatostatin messenger RNA in hypothalamic neurons is increased by testosterone through activation of androgen receptors and not by aromatization to estradiol. *Neuroendocrinology* 52: 342–349.
- Aydin T, Karadag MA, Demir A, Cecen K, Karasu Y and Ulker K. 2014. Effect of modification of lifestyle on reproductive potential. *Kafkas J Med Sci* 4: 27–35.
- Bachelot A, Monget P, Imbert-Bolloré P, Coshigano K, Kopchick JJ, Kelly PA and Binart N. 2002. Growth hormone is required for ovarian follicular growth. *Endocrinology* 143: 4104–12.
- Baker J, Liu JP, Robertson EJ and Efstratiadis A. 1993. Role of insulin-like growth factors in embryonic and postnatal growth. *Cell* 75: 73–82.
- Barnett KR, Schilling C, Greenfeld CR, Tomic D and Flaws JA. 2006. Ovarian follicle development and transgenic mouse models. *Hum Reprod Update* 12: 537–555.
- Blackmore DG, Vukovic J, Waters MJ and Bartlett PF. 2012. GH mediates exercise-dependent activation of SVZ neural precursor cells in aged mice. *PLoS ONE* 7: e-49912.
- Carter-Su C, Schwartz J and Smit LS. 1996. Molecular mechanism of growth hormone action. *Annu Rev Physiol* 58: 187–207.
- Casaburi R. 2001. Skeletal muscle dysfunction in chronic obstructive pulmonary disease. *Med Sci Sports Exerc* 33: S662–S670.
- Castoldi RC, Camargo RCT, Magalhães AJB, Ozaki GAT, Kodama FY, Oikawa SM, Papoti M and Camargo Filho JCS. 2013. Concurrent training effect on muscle fibers in Wistar rats. *Motriz: Rev Educ Fís* 19: 717–723.
- Childs GV. 2000. Growth hormone cells as co-gonadotropes: partners in the regulation of the reproductive system. *Trends Endocrinol Metab* 11: 168–75.
- Childs GV. 2002. Development of gonadotropes may involve cyclic transdifferentiation of growth hormone cells. *Arch Physiol Biochem* 110: 42–49.
- Childs GV, Iruthayanathan M, Akhter N and Johnson BW. 2006. Estrogen mediated cross talk between the ovary and pituitary somatotrope: Pre-ovulatory support for reproductive activity. *Mol Cell Endocrinol* 247: 60–63.
- Childs G V., Unabia G and Wu P. 2000. Differential expression of growth hormone messenger ribonucleic acid by somatotropes and gonadotropes in male and cycling female rats. *Endocrinology* 141: 1560–1570.

Cutfield WS, Wilton P, Bennmarker H, Albertsson-Wikland K, Chatelain P, Ranke MB and Price DA. 2000. Incidence of diabetes mellitus and impaired glucose tolerance in children and adolescents receiving growth-hormone treatment. *Lancet* 355: 610–613.

Elis S, Wu Y, Courtland H-W, Cannata D, Sun H, Beth-On M, Liu C, Jasper H, Domené H, Karabatas L, Guida C, Basta-Pljakic J, Cardoso L, Rosen CJ, Frystyk J and Yakar S. 2011. Unbound (bioavailable) IGF1 enhances somatic growth. *Dis Model Mech* 4: 649–658.

Faria AC, Bekenstein LW, Booth RA, Vaccaro VA, Asplin CM, Veldhuis JD, Thorner MO and Evans WS. 1992. Pulsatile growth hormone release in normal women during the menstrual cycle. *Clin Endocrinol* 36: 591–596.

Flanagan DE, Taylor MC, Parfitt V, Mardell R, Wood PJ and Leatherdale BA. 1997. Urinary growth hormone following exercise to assess growth hormone production in adults. *Clinical Endocrinol (Oxf)* 46: 425–429.

Frantz AG and Rabkin MT. 1965. Effects of estrogen and sex difference on secretion of human growth hormone. *J Clin Endocrinol Metab* 25: 1470–1480.

Giometti IC, Castilho CS, Sá-Filho OG, Papa PC and Buratini-Jr J. 2009. Controle local e endócrino do desenvolvimento e da regressão do corpo lúteo bovino. *Rev Bras Reprod Anim* 33: 34–52.

Giustina A and Veldhuis JD. 1998. Pathophysiology of the neuroregulation of growth hormone secretion in experimental animals and the human. *Endocr Rev* 19: 717–797.

Goldman JM, Murr AS and Cooper RL. 2007. The rodent estrous cycle: Characterization of vaginal cytology and its utility in toxicological studies. *Birth Defects Res B Dev Reprod Toxicol*, 80: 84–97.

Gomes RJ, Caetano FH, Hermeni HA, Rogatto GP and Luciano E. 2003. Efeitos do treinamento físico sobre o hormônio do crescimento (GH) e fator de crescimento semelhante à insulina (IGF-1) em ratos diabéticos. *R Bras Ci Mov* 11: 57–62.

Gronroos M and Kauppila O. 1959. Hormonal-cyclic changes in rats under normal conditions and under stress as revealed by vaginal smears after Shorr staining. *Acta Endocrinol (Copenh)* 32: 261–71.

Gudmundsdottir SL, Flanders WD and Augestad LB. 2009. Physical activity and fertility in women: the North-Trondelag Health Study. *Human Reprod* 24: 3196–3204.

Hartley LH, Mason JW, Hogan RP, Jones LG, Kotchen TA, Mougey EH, Wherry FE, Pennington LL and Ricketts PT. 1972. Multiple hormonal responses to graded exercise in relation to physical training. *J Appl Physiol* 33: 602–606.

Holloway L, Butterfield G, Hintz RL, Gesundheit N and Marcus R. 1994. Effects of recombinant human growth hormone on metabolic indices, body composition, and bone turnover in healthy elderly women. *J Clin Endocrinol Metab* 79: 470–479.

Hull KL and Harvey S. 2002. GH as a co-gonadotropin: The relevance of correlative changes in GH secretion and reproductive state. *J Endocrinol* 172:1–19.

Izadyar F, Colenbrander B and Bevers MM. 1997. Stimulatory effect of growth hormone on in vitro maturation of bovine oocytes is exerted through the cyclic adenosine 3',5'-monophosphate signaling pathway. *Biol Reprod* 57: 1484–1489.

Jorgensen JOL and Christiansen JS. 1993. Brave new senescence: GH in adults. *Lancet* 341:1247–1248.

Kaminsky P, Walker PM, Deibener J, Barbe F, Jeannesson E, Escanye JM, Dousset B and Klein M. 2012. Growth hormone potentiates thyroid hormone effects on post-exercise phosphocreatine recovery in skeletal muscle. *Growth Horm IGF Res* 22: 240–244.

Keller ML, Roberts AJ and Seidel GE. 1998. Characterization of insulin-like growth factor-binding proteins in the uterus and conceptus during early conceptus elongation in cattle. *Biol Reprod* 59: 632–642.

Kopple JD. 1992. The rationale for the use of growth hormone or insulin-like growth factor I in adult patients with renal failure. *Miner Electrolyte Metab* 18: 269–275.

Lam KS, Lee MF, Tam SP and Srivastava G. 1996. Gene expression of the receptor for growth-hormone-releasing hormone is physiologically regulated by glucocorticoids and estrogen. *Neuroendocrinology* 63: 475–480.

Lanfranco F, Gianotti L, Giordano R, Pellegrino M, Maccario M and Arvat E. 2003. Ageing, growth hormone and physical performance. *J Endocrinol Invest* 26:861–872.

Liu JL, Grinberg A, Westphal H, Sauer B, Accili D, Karas M and LeRoith D. 1998. Insulin-like growth factor-I affects perinatal lethality and postnatal development in a gene dosage-dependent manner: manipulation using the Cre/loxP system in transgenic mice. *Mol Endocrinol* 12: 1452–1462.

Lobie PE, Breipohl W, Aragon JG and Waters MJ. 1990a. Cellular localization of the growth hormone receptor/binding protein in the male and female reproductive systems 2. *Endocrinology* 126: 2214–2221.

Lobie PE, Breipohl W, Lincoln DT, García-Aragón J and Waters MJ. 1990b. Localization of the growth hormone receptor/binding protein in skin. *J Endocrinol* 126: 467–71.

Lucy MC. 2011. Growth hormone regulation of follicular growth. *Reprod Fertil Dev* 24: 19–28.

Lucy MC, Byatt JC, Curran TL, Curran DF and Collier RJ. 1994. Placental lactogen and somatotropin: hormone binding to the corpus luteum and effects on the growth and functions of the ovary in heifers. *Biol Reprod* 50: 1136–1144.

Maiter D, Koenig JI and Kaplan LM. 1991. Sexually dimorphic expression of the growth hormone-releasing hormone gene is not mediated by circulating gonadal hormones in the adult rat. *Endocrinology* 128: 1709–1716.

Malheiro OCDM, Giacomini CT, Justulin LA, Delella FK, Dal-Pai-Silva M and Felisbino SL. 2009. Calcaneal tendon regions exhibit different MMP-2 activation after vertical jumping and treadmill running. *Anat Rec* 292: 1656–1662.

Marcondes FK, Bianchi FJ and Tanno AP. 2002. Determination of the estrous cycle phases of rats: some helpful considerations. *Braz J Biol* 62: 609–614.

Marcondes FK, Miguel KJ, Melo LL and Spadari-Bratfisch RC. 2001. Estrous cycle influences the response of female rats in the elevated plus-maze test. *Physiol Behav* 74: 435–440.

Marson RA, Caetano FH, Soares AR and Santi FP. 2009. O efeito do treinamento de força e administração do hormônio de crescimento sobre o músculo gastrocnemius. *Efdeportes Revista Digital* 136.

Matsuse H, Nago T, Takano Y and Shiba N. 2010. Plasma growth hormone is elevated immediately after resistance exercise with electrical stimulation and voluntary muscle contraction. *Tohoku J Exp Med* 222: 69–75.

McArdle WD, Katch FI and Katch VL. 2003. *Fisiologia do exercício energia, nutrição e desempenho humano*. Guanabara Koogan: Rio de Janeiro, 1132p.

Mizobuchi M, Frohman MA, Downs TR and Frohman LA. 1991. Tissue-specific transcription initiation and effects of growth hormone (GH) deficiency on the regulation of mouse and rat GH-releasing hormone gene in hypothalamus and placenta. *Molecul Endocrinol* 5: 476–484.

Murphy LJ and Friesen HG. 1988. Differential effects of estrogen and growth hormone on uterine and hepatic insulin-like growth factor I gene expression in the ovariectomized hypophysectomized rat. *Endocrinology* 122: 325–332.

Ovesen P, Vahl N, Fisker S, Veldhuis JD, Christiansen JS and Jørgensen JOL. 1998. Increased pulsatile, but not basal, growth hormone secretion rates and plasma insulin-like growth factor I levels during the periovulatory interval in normal women. *J Clin Endocrinol Metab* 83: 1662–1667.

Paccola C, Resende C, Stumpp T, Miraglia S and Cipriano I. 2013. The rat estrous cycle revisited: a quantitative and qualitative analysis. *Anim Reprod* 10: 677–683.

Papadakis MA, Grady D, Black D, Tierney MJ, Gooding GA, Schambelan M and Grunfeld C. 1996. Growth hormone replacement in healthy older men improves body composition but not functional ability. *Ann Intern Med* 124: 708-16.

Park JH and Vanderhoof JA. 1996. Growth hormone did not enhance mucosal hyperplasia after small-bowel resection. *Scand J Gastroenterol* 31: 349–54.

Poggi M, Monti S, Lauri C, Pascucci C, Bisogni V and Toscano V. 2012. Primary empty sella and GH deficiency: Prevalence and clinical implications. *Ann Ist Super Sanita* 48: 91–96.

Powers SK and Howley ET. 2004. *Exercise Physiology: Theory and Application to Fitness and Performance*. McGraw-Hill College: United Kingdom.

Revhaug A and Mjaaland M. 1993. Growth hormone and surgery. *Horm Res* 40: 99–101.

Sharara FI and Nieman LK. 1994. Identification and cellular localization of growth hormone receptor gene expression in the human ovary. *J Clin Endocrinol Metab* 79: 670–2.

Silva Jr. AJ, Souza MVC, Tomaz LM, Bertucci DR, Souza GS de, Vanevazzi GHR, Conceicao Filho J, Campanholi Neto J, Ruffoni LD, Sousa NMF de, Arakelian VM, Ramos APP, Neiva CM and Baldissera V. 2014. Estudo do comportamento cortisol, gh e insulina apos uma sessao de exercicio resistido agudo. *Rev Bras Med Esporte* 20: 21–25.

Silva JR V, Figueiredo JR and Van den Hurk R. 2009. Involvement of growth hormone (GH) and insulin-like growth factor (IGF) system in ovarian folliculogenesis. *Theriogenology*, 71:1193–1208.

Sosa C, Carriquiry M, Chalar C, Crespi D, Sanguinetti C, Cavestany D and Meikle A. 2010. Endometrial expression of leptin receptor and members of the growth hormone-Insulin-like growth factor system throughout the estrous cycle in heifers. *Anim Reprod Sci* 122: 208–214.

Stocco DM and Clark BJ. 1996. Regulation of the acute production of steroids in steroidogenic cells. *Endocr Rev* 17: 221–244.

Taaffe DR, Pruitt L, Reim J, Hintz RL, Butterfield G, Hoffman AR and Marcus R. 1994. Effect of recombinant human growth hormone on the muscle strength response to resistance exercise in elderly men. *J Clin Endocrinol Metab* 79: 1361-6.

Tanno AP, Cunha TC, Moura MJCS and Marcondes FK. 2006. Relação entre exercício físico de alta intensidade e o lactato sanguíneo, em ratos. *Saúde Rev* 8: 23–29.

Thompson JL, Butterfield GE, Marcus R, Hintz RL, Van Loan M, Ghiron L and Hoffman AR. 1995. The effects of recombinant human insulin-like growth factor-I and growth hormone on body composition in elderly women. *J Clin Endocrinol Metab* 80: 1845–1852.

Tinggaard J, Jensen B, Ph D, Sundberg K and Sc DM. 2014. Ovarian morphology and function during growth hormone therapy of short girls born small for gestational age. *Fertil Steril* 102: 1733–1741.

Vance ML. 1990. Growth hormone for the elderly? *N Engl J Med* 323: 52–4.

Vanhelder WP, Goode RC and Radomski MW. 1984. Effect of anaerobic and aerobic exercise of equal duration and work expenditure on plasma growth hormone levels. *Eur J Appl Physiol Occup Physiol* 52: 255–257.

Villaça DS, Lerario MC, Dal Corso S and Neder JA. 2006. New treatments for chronic obstructive pulmonary disease using ergogenic aids. *J Bras Pneumol*, 32:66–74.

Welle S, Thornton C, Statt M and McHenry B. 1996. Growth hormone increases muscle mass and strength but does not rejuvenate myofibrillar protein synthesis in healthy subjects over 60 years old. *J Clin Endocrinol Metab* 81: 3239–3243.

Weltman A, Weltman JY, Schurrer R, Evans WS, Veldhuis JD and Rogol AD. 1992. Endurance training amplifies the pulsatile release of growth hormone: effects of training intensity. *J Appl Physiol* (1985) 72: 2188–2196.

Westwood FR. 2008. The female rat reproductive cycle: a practical histological guide to staging. *Toxicol Pathol* 36: 375–384.

Yang JJ, Larsen CM, Grattan DR and Erskine MS. 2009. Mating-Induced neuroendocrine responses during pseudopregnancy in the female mouse. *J Neuroendocrinol* 21: 30–39.

Yang J-Y, Nam J-H, Park H and Cha Y-S. 2006. Effects of resistance exercise and growth hormone administration at low doses on lipid metabolism in middle-aged female rats. *Eur J Pharmacol* 539: 99–107.

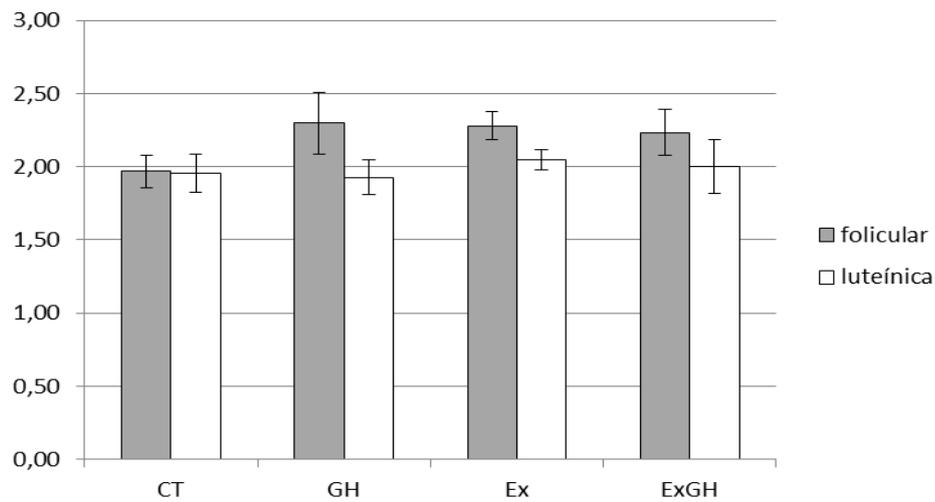


Figura 1: Médias e erro padrão da duração média em dias das fases (follicular e luteínica) dos ciclos estrais das ratas dos diferentes grupos (n=10): CT (controle), GH (tratadas com 0,2UI/Kg de hrGH a cada dois dias), Ex (submetidas ao exercício resistido a cada dois dias) e ExGH (tratadas com hrGH e submetidas ao exercício resistido), $p < 0,05$.

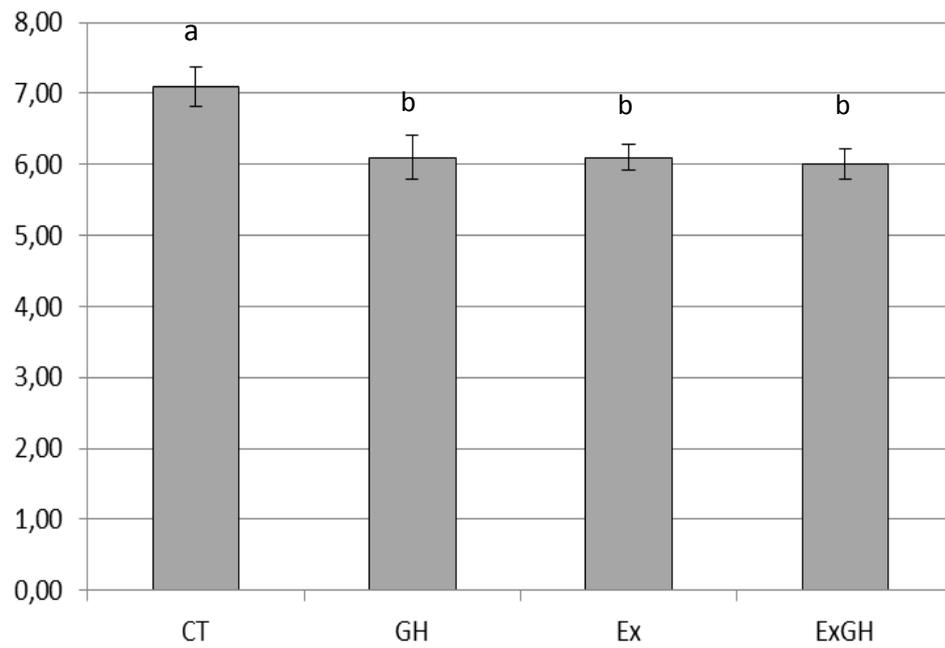


Figura 2: Médias e erro padrão do número médio de ciclos estrais das ratas em um período de um mês para cada grupo (n=10): CT (controle), GH (tratadas com 0,2UI/Kg de hrGH a cada dois dias), Ex (submetidas ao exercício resistido a cada dois dias) e ExGH (tratadas com hrGH e submetidas ao exercício resistido). Letras diferentes representam diferenças estatísticas ($p > 0,05$).

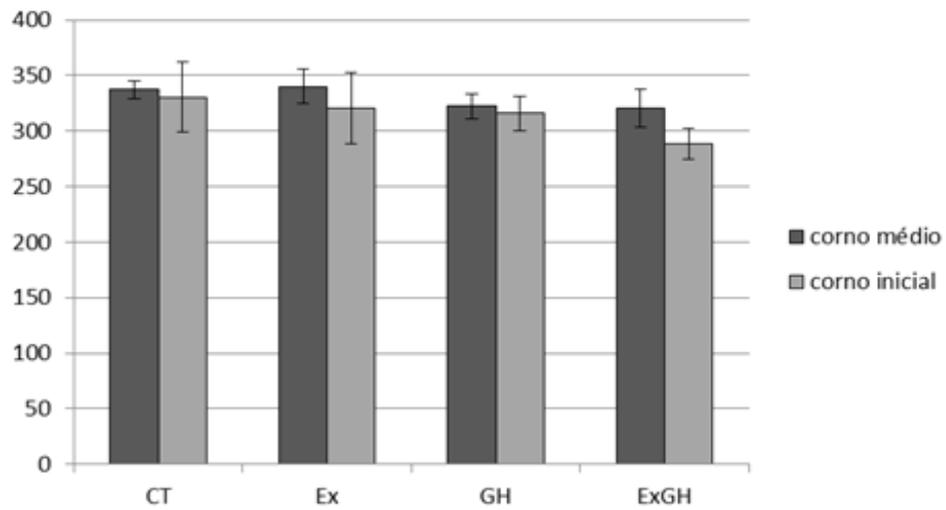


Figura 3: Média e erro padrão da espessura do endométrio (μm) do corno uterino médio e do corno inicial de ratas dos diferentes grupos ($n=10$): CT (controle), GH (tratadas com $0,2\text{UI/Kg}$ de hrGH a cada dois dias), Ex (submetidas ao exercício resistido a cada dois dias) e ExGH (tratadas com hrGH e submetidas ao exercício resistido), $p>0,05$.

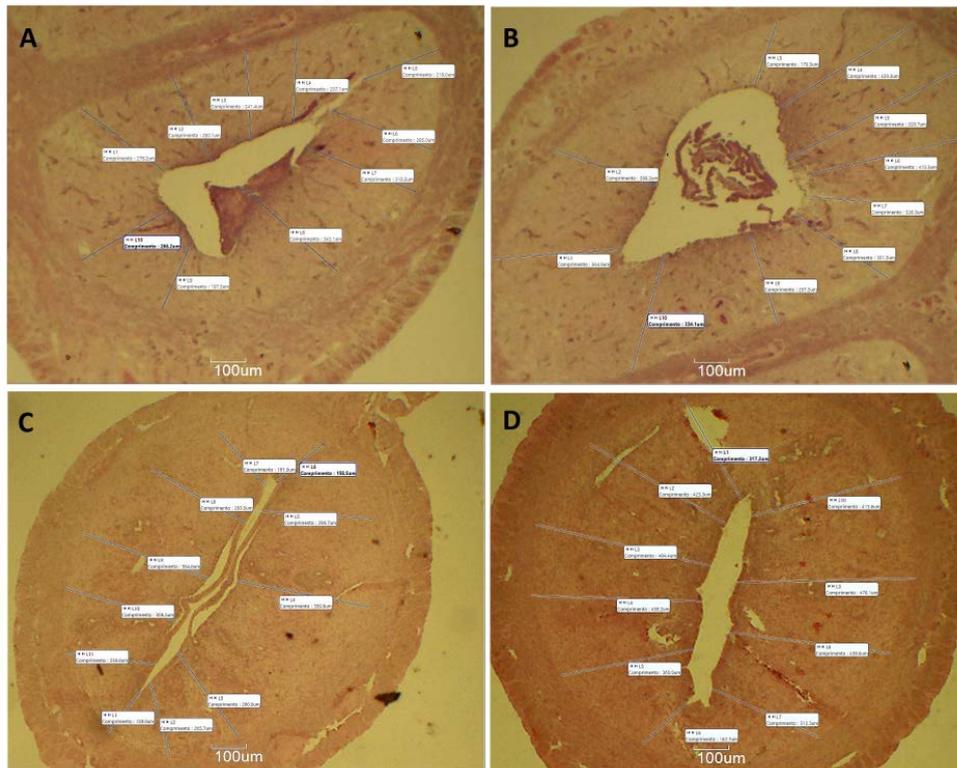


Figura 4: Fotomicrografias em aumento de 100x das medidas da espessura de endométrio de corno uterino inicial (A e B) e corno uterino médio (C e D).

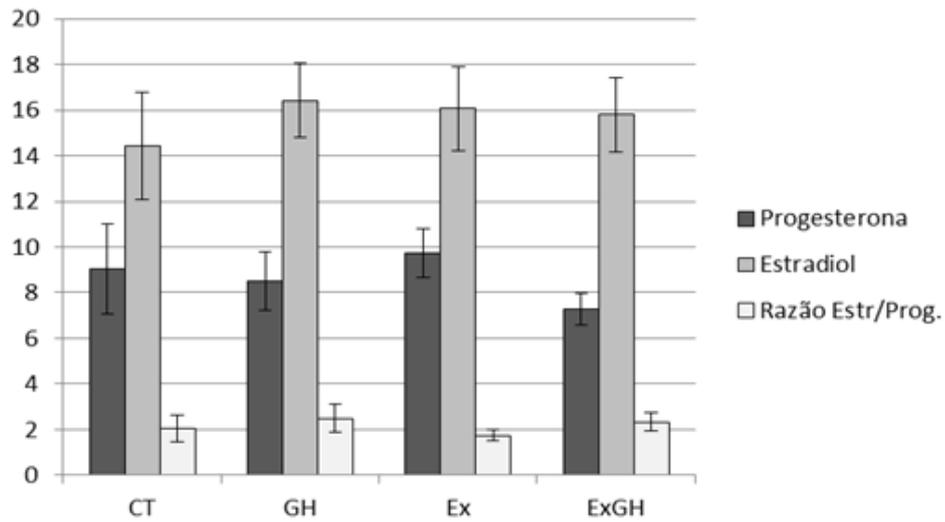


Figura 5: Média da dosagem de progesterona (ng/mL), Média da dosagem de estradiol (pg/mL), Média da razão entre estradiol (pg/mL) e progesterona (ng/mL) e desvio padrão em ratas Wistar no final do experimento, grupos: CT (controle, n=6); GH (receberam hormônio do crescimento, n=8; Ex (fizeram exercício resistido, n=8) e ExGH (receberam hormônio do crescimento e praticaram exercício resistido, n=7), $p > 0,05$.

ANEXO 1 - NORMAS DA REVISTA ANAIS DA ACADEMIA BRASILEIRA DE CIÊNCIAS



•

Instruções aos Autores

Revisadas em dezembro de 2007

A revista ANAIS DA ACADEMIA BRASILEIRA DE CIÊNCIAS encoraja fortemente as submissões online. Uma vez o artigo preparado de acordo com as instruções abaixo, visite o site de submissão online (<http://aabc.abc.org.br/>).

As instruções devem ser lidas cuidadosamente e seguidas integralmente. Desta forma, a avaliação e publicação de seu artigo poderão ser feitas com mais eficiência e rapidez. Os editores reservam-se o direito de devolver artigos que não estejam de acordo com estas instruções. Os artigos devem ser escritos em inglês claro e conciso.

Objetivo e Política Editorial

Todos os artigos submetidos devem conter pesquisa original e ainda não publicada ou submetida para publicação. O primeiro critério para aceitação é a qualidade científica. O uso excessivo de abreviaturas ou jargões deve ser evitado, e os artigos devem ser compreensíveis para uma audiência tão vasta quanto possível. Atenção especial deve ser dada ao Abstract, Introdução e Discussão, que devem nitidamente chamar a atenção para a novidade e importância dos dados relatados. A não observância desta recomendação poderá resultar em demora na publicação ou na recusa do artigo.

Os textos podem ser publicados como uma revisão, um artigo ou como uma breve comunicação. A revista é trimestral, sendo publicada nos meses de março, junho, setembro e dezembro.

Tipos de Artigos

Revisões: Revisões são publicadas somente a convite. Entretanto, uma revisão pode ser submetida na forma de breve carta ao Editor a qualquer tempo. A carta deve informar os tópicos e autores da revisão proposta e declarar a razão do interesse particular do assunto para a área.

Artigos: Sempre que possível, os artigos devem ser subdivididos nas seguintes partes: 1. Página de rosto; 2. Abstract (escrito em página separada, 200 palavras ou menos, sem abreviações); 3. Introdução; 4. Materiais e Métodos; 5. Resultados; 6. Discussão; 7. Agradecimentos quando necessário; 8. Resumo e palavras-chave (em português - os autores estrangeiros receberão assistência); 9. Referências. Artigos de algumas áreas, como Ciências Matemáticas, devem observar

seu formato usual. Em certos casos pode ser aconselhável omitir a parte (4) e reunir as partes (5) e (6). Onde se aplicar, a parte de Materiais e Métodos deve indicar o Comitê de Ética que avaliou os procedimentos para estudos em humanos ou as normas seguidas para a manutenção e os tratamentos experimentais em animais.

Breves Comunicações: Breves comunicações devem ser enviadas em espaço duplo. Depois da aprovação não serão permitidas alterações no artigo, a fim de que somente correções de erros tipográficos sejam feitas nas provas.

Os autores devem enviar seus artigos somente em versão eletrônica.

Preparo dos Artigos

Os artigos devem ser preparados em espaço duplo. Depois de aceitos nenhuma modificação será realizada, para que nas provas haja somente correção de erros tipográficos.

Tamanho dos artigos: Embora os artigos possam ter o tamanho necessário para a apresentação concisa e discussão dos dados, artigos sucintos e cuidadosamente preparados têm preferência tanto em termos de impacto quando na sua facilidade de leitura.

Tabelas e ilustrações: Somente ilustrações de alta qualidade serão aceitas. Todas as ilustrações serão consideradas como figuras, inclusive desenhos, gráficos, mapas, fotografias e tabelas com mais de 12 colunas ou mais de 24 linhas (máximo de figuras gratuitas: cinco figuras). A localização provável das figuras no artigo deve ser indicada.

Figuras digitalizadas: As figuras devem ser enviadas de acordo com as seguintes especificações: 1. Desenhos e ilustrações devem ser em formato .PS/.EPS ou .CDR (Postscript ou Corel Draw) e nunca inseridas no texto; 2. Imagens ou figuras em meio tom devem ser no formato .TIF e nunca inseridas no texto; 3. Cada figura deve ser enviada em arquivo separado; 4. Em princípio, as figuras devem ser submetidas no tamanho em que devem aparecer na revista, i.e., largura de 8 cm (uma coluna) ou 12,6 cm (duas colunas) e com altura máxima para cada figura menor ou igual a 22 cm. As legendas das figuras devem ser enviadas em espaço duplo e em folha separada. Cada dimensão linear das menores letras e símbolos não deve ser menor que 2 mm depois da redução. Somente figuras em preto e branco serão aceitas. 5. Artigos de Matemática, Física ou Química podem ser digitados em Tex, AMS-Tex ou Latex; 6. Artigos sem fórmulas matemáticas podem ser enviados em .RTF ou em WORD para Windows.

Página de rosto: A página de rosto deve conter os seguintes itens: 1. Título do artigo (o título deve ser curto, específico e informativo); 2. Nome (s) completo (s) do (s) autor (es); 3. Endereço profissional de cada autor; 4. Palavras-chave (4 a 6 palavras, em ordem alfabética); 5. Título abreviado (até 50 letras); 6. Seção da Academia na qual se enquadra o artigo; 7. Indicação do nome, endereço, números de fax, telefone e endereço eletrônico do autor a quem deve ser endereçada toda correspondência e prova do artigo.

Agradecimentos: Devem ser inseridos no final do texto. Agradecimentos pessoais devem preceder os agradecimentos a instituições ou agências. Notas de rodapé devem ser evitadas; quando necessário, devem ser numeradas. Agradecimentos a auxílios ou bolsas, assim como agradecimentos à colaboração de colegas, bem como menção à origem de um artigo (e.g. teses) devem ser indicados nesta seção.

Abreviaturas: As abreviaturas devem ser definidas em sua primeira ocorrência no texto, exceto no caso de abreviaturas padrão e oficial. Unidades e seus símbolos devem estar de acordo com os aprovados pela ABNT ou pelo Bureau International des Poids et Mesures (SI).

Referências: Os autores são responsáveis pela exatidão das referências. Artigos publicados e aceitos para publicação (no prelo) podem ser incluídos. Comunicações pessoais devem ser autorizadas por escrito pelas pessoas envolvidas. Referências a teses, abstracts de reuniões, simpósios (não publicados em revistas indexadas) e artigos em preparo ou submetidos mas ainda não aceitos, podem ser citados no texto como (Smith et al. unpublished data) e não devem ser incluídos na lista de referências.

As referências devem ser citadas no texto como, por exemplo, (Smith 2004), (Smith and Wesson 2005) ou, para três ou mais autores, (Smith et al. 2006). Dois ou mais artigos do mesmo autor no mesmo ano devem ser distinguidos por letras, e.g. (Smith 2004a), (Smith 2004b) etc. Artigos com três ou mais autores com o mesmo primeiro autor e ano de publicação também devem ser distinguidos por letras.

As referências devem ser listadas em ordem alfabética do primeiro autor sempre na ordem do sobrenome XY no qual X e Y são as iniciais. Se houver mais de 10 autores, use o primeiro seguido de et al. As referências devem ter o nome do artigo. Os nomes das revistas devem ser abreviados. Para as abreviações corretas, consultar a listagem de base de dados na qual a revista é indexada ou consulte a World List of Scientific Periodicals. A abreviatura para os Anais da Academia Brasileira de Ciências é An Acad Bras Cienc. Os seguintes exemplos são considerados como guia geral para as referências.

Artigos

Albe-Fessard D, Condes-Lara M, Sanderson P and Levante A . 1984a. Tentative explanation of the special role played by the áreas of paleospinothalamic projection in patients with deafferentation pain syndromes. *Adv Pain Res Ther* 6: 167-182.

Albe-Fessard D, Sanderson P, Condes-Lara M, Delandsheer E, Giuffrida R and Cesaro P. 1984b. Utilisation de la depression envahissante de Leão pour l'étude de relations entre structures centrales. *An Acad Bras Cienc* 56: 371-383.

Knowles RG and Moncada S. 1994. Nitric oxide synthases in mammals. *Biochem J* 298: 249-258.

Pinto ID and Sanguinetti YT. 1984. Mesozoic Ostracode Genus *Theriosynoecum* Branson, 1936 and validity of related Genera. *An Acad Bras Cienc* 56: 207-215.

Livros e capítulos de livro

Davies M. 1947. An outline of the development of Science, *Athinker's Library*, n. 120. London: Watts, 214 p.

Prehn RT . 1964. Role of immunity in biology of cancer. In: *National Cancer Conference* , 5., Philadelphia Proceedings, Philadelphia: J.B. Lippincott, p. 97-104.

Uytenbogaardt W and Burke EAJ . 1971. Tables for microscopic identification of minerals, 2 nd ed., Amsterdam: Elsevier, 430 p.

Woody RW . 1974. Studies of theoretical circular dichroism of Polipeptides: contributions of B-turns. In: Blouts ER et al . (Eds), Peptides, polypeptides and proteins, New York: J Wiley & Sons, New York, USA, p. 338-350.

Outras publicações

International Kimberlite Conference , 5, 1991. Araxá, Brazil. Proceedings ... Rio de Janeiro: CPRM, 1994., 495 p.

Siatycki J . 1985. Dynamics of Classical Fields. University of Calgary, Department of Mathematics and Statistics, 1985, 55 p. Preprint n. 600.

ANEXO 2 - APROVAÇÃO DO COMITÊ DE ÉTICA

Certificado

Página 1 de 1

UNOESTE - Universidade do Oeste Paulista

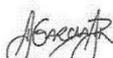
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO

PPG - Programa de Pesquisa de Pós-Graduação
PROBIC - Programa de Bolsas de Iniciação Científica

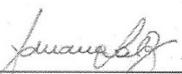
Parecer Final

Declaramos para os devidos fins que o Projeto de Pesquisa intitulado "EFEITO DA ADMINISTRAÇÃO DE HORMÔNIO DO CRESCIMENTO (GH) COM E SEM ATIVIDADE FÍSICA NA BIOQUÍMICA SÉRICA E NA REPRODUÇÃO DE RATAS WISTAR", cadastrado na Coordenadoria Central de Pesquisa (CCPq) sob o número nº 1014 e tendo como participante(s) INES CRISTINA GIOMETTI (responsável), ROSA MARIA BARILLI NOGUEIRA (docente), CALIE CASTILHO SILVESTRE (docente), CECILIA BRAGA LAPOSY (docente), FRANCIS LOPES PACAGNELLI (docente), ANDRE RICARDO MULLER BONACASATA (discente), HELOISE RANGEL DINALLO (discente), MARCOS OLIVEIRA SANTOS (discente), foi avaliado e APROVADO pelo COMITÊ ASSESSOR DE PESQUISA INSTITUCIONAL (CAPI) e COMISSÃO DE ÉTICA USO DE ANIMAIS (CEUA) da Universidade do Oeste Paulista - UNOESTE de Presidente Prudente/SP.

Presidente Prudente, 13 de Agosto de 2015.



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



Prof. Ms. Adriana Falco de Brito
Coordenadora da CEUA - UNOESTE

valide este documento em www.unoeste.br/sgp informando o código de segurança d1b6163f78beb26fec3452a3a5cc0c62

ANEXO 3 - COMPROVANTE DE SUBMISSÃO DO ARTIGO CIENTIFICO

8/13/2015

ScholarOne Manuscripts



Anais da Academia Brasileira de Ciências

Submission Confirmation

Thank you for submitting your manuscript to *Anais da Academia Brasileira de Ciências*.

Manuscript ID: AABC-2015-0607

Title: HORMÔNIO DO CRESCIMENTO, ASSOCIADO OU NÃO AO EXERCÍCIO RESISTIDO, ALTERA A CICLICIDADE E REPRODUTIVA DE RATAS WISTAR

Authors: Silva, Ronaldo
Cruz, Lillian
Rocha, Ananda
Andrade, Mariana
Bariani, Cesar
Santos, Francislaine
Soriano, Gabriela
Santos, Marcos
Castilho, Caliê
Papa, Paula
Pacagnelli, Francis
Camargo Filho, José
Giometti, Ines

Date Submitted: 13-Aug-2015

Print Return to Dashboard

© Thomson Reuters | © ScholarOne, Inc., 2015. All Rights Reserved.

ScholarOne Manuscripts and ScholarOne are registered trademarks of ScholarOne, Inc.

ScholarOne Manuscripts Patents #7,257,767 and #7,263,655.

@ScholarOneNews | System Requirements | Privacy Statement | Terms of Use