

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MATO GROSSO
CAMPUS UNIVERSITÁRIO DO ARAGUAIA
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE
CURSO DE BIOMEDICINA



JULIA CARVALHO GUIMARÃES

**REPERCUSSÕES GLICÊMICAS E IMUNOLÓGICAS DO
TRATAMENTO DE PREDNISONA ANTES E DURANTE A PRENHEZ
DE RATAS WISTAR.**

Barra do Garças-MT

2020

JULIA CARVALHO GUIMARÃES

**REPERCUSSÕES GLICÊMICAS E IMUNOLÓGICAS DO
TRATAMENTO DE PREDNISONA ANTES E DURANTE A PRENHEZ
DE RATAS WISTAR.**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao
Curso de Biomedicina do Instituto de Ciências
Biológicas e da Saúde, Campus Universitário do
Araguaia – UFMT, área de Fisiologia.

Orientador: Prof. Dr. Kleber Eduardo de Campos

Coorientadora: MSc^a. Danielli Gomes Alves

Barra do Garças-MT

2020

Dados Internacionais de Catalogação na Fonte.

C331r Carvalho Guimarães, Julia.
Repercussões glicêmicas e imunológicas do tratamento de prednisona antes e durante a prenhez de ratas Wistar. / Julia Carvalho Guimarães. -- 2020
ix, 32 f. : il. ; 30 cm.

Orientador: Kleber Eduardo de Campos.
Co-orientadora: Danielli Gomes Alves.
TCC (graduação em Biomedicina) - Universidade Federal de Mato Grosso, Instituto de Ciências Biológicas e da Saúde, Barra do Garças, 2020.
Inclui bibliografia.

1. hiperglicemia. 2. imunossupressão. 3. glicocorticoide. 4. gravidez. I. Título.

Ficha catalográfica elaborada automaticamente de acordo com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

Permitida a reprodução parcial ou total, desde que citada a fonte.

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho aos meus pais; Sirlândio Alves Guimarães e Sidelma da Silva Carvalho Alves Guimarães, a quem sou extremamente grata, os dois maiores incentivadores dos meus sonhos. Eu os amo!

AGRADECIMENTOS

Primeiramente à Deus, por me dar a vida e sem ele eu não teria chegado até aqui, nem conseguiria chegar onde quero chegar. Sei que Ele estará comigo a cada passo que eu der.

Aos meus pais, por serem incríveis e por todo o apoio do mundo, por acreditarem em mim mais do que eu mesma e me encorajarem em todos os meus sonhos, eles são tudo para mim e devo tudo à eles. Minha eterna gratidão. Vocês me inspiram muito! Mesmo estando tão longe de mim, sempre se fazendo presentes todos os dias da minha vida... e agora, nesse período de pandemia estarmos juntos me fez muito bem! Eu os amo.

Às minhas avós Maria José e Maria Teotônia por cada ligação me dizendo palavras de carinho, e todo o amor que têm por mim... tenho certeza que é recíproco e eu morro de por elas! Gratidão por ter vocês em minha vida, e as quero por perto mais muito, muito, muito tempo!

À minha família, que direta ou indiretamente me deu apoio, sempre intercedendo por mim! Eu amo vocês.

Aos meus bichinhos de estimação, Fred e Babu. Eu amo demais! Eles com certeza melhoram muito os meus dias.

Aos amigos que fiz durante a graduação que sem dúvidas foram e são essenciais na minha vida. Com vocês meus dias são mais alegres e leves. Eu aprendo muito com vocês todos os dias, cada um com seu jeitinho característico, me faz ama-los, aprender a conviver e a respeitá-los. Estou com muita saudade de cada um, espero que isso tudo passe logo para nos encontrarmos novamente.

À Vitória Lizzi, que estuda comigo desde o fundamental, eu tenho muita gratidão amiga! Tenho certeza que os meus dias de apuro com você foram mais engraçados e leves. Obrigada por aguentar meus choros e de uma forma ou de outra sempre me acalmar. Amo você.

À Thauane, por cada palavra dita, por todo amor e carinho que tem comigo. Você é muito especial pra mim e eu amo muito você. Quero pra sempre na minha vida.

Ao Felipe Michelson, por todo o cuidado, carinho e apoio. Com certeza foram dias melhores, obrigada por tudo!

À Isabella e Daniel, por todo o apoio e companheirismo durante o experimento. Estou com muita saudade de vocês, obrigada por tudo.

À Linne por todos os conselhos, cuidado e carinho comigo, você é essencial em minha vida, amo muito você! À Evelyn por todo o companheirismo durante todo o curso, você é muito especial para mim!

Ao meu orientador, professor Kleber Eduardo, por desde o início ter me acolhido tão bem no laboratório. Obrigada por todos os ensinamentos, foram essenciais para mim.

Ao pessoal do laboratório FISIOTOX, por sempre estarem presentes auxiliando no que foi preciso. Em especial a Danielle Gomes minha coorientadora, e Maysa Souza. Vocês são muito especiais!

A todos os meus professores, não só da universidade, mas desde a professora Denise que me alfabetizou. Sem dúvida nenhuma vocês são incríveis, fundamentais em minha formação acadêmica. Com certeza a profissão mais linda das profissões.

Agradeço também aos professores Gustavo Tadeu Volpato e Paula Moreira, por aceitarem o convite e fazerem parte da banca examinadora deste trabalho.

Aos ratinhos, por mesmo não entenderem o que estava acontecendo, existirem. Sem eles nossas pesquisas não seriam possíveis, os avanços nas descobertas da saúde dependem muito desses animaizinhos, que merecem todo o nosso amor, cuidado e respeito.

RESUMO

A Prednisona é um dos medicamentos mais procurados para uso por conta de seu fácil acesso e baixo custo. Entretanto, em condições especiais como a gestação, o uso deste glicocorticoide pode afetar negativamente o perfil glicêmico e perfil imunológico um indivíduo. Desta forma, o objetivo foi avaliar os efeitos do tratamento com Prednisona no perfil glicêmico e leucograma em ratas prenhes, administrada antes e durante a prenhez. Foram utilizadas ratas Wistar distribuídas em três grupos, com número amostral mínimo de 12 animais/grupo: CONT - ratas tratadas com veículo (*SyrSpend SF*[®]) antes e durante a prenhez; PRED1 - tratadas com Prednisona 5 mg/mL antes e veículo durante a prenhez e PRED2 - tratadas com Prednisona 5 mg/kg antes e durante a prenhez. O tratamento foi realizado via gavagem, diariamente. Na etapa prévia à prenhez (15 dias), foram mensurados o leucograma e o teste oral de tolerância à glicose (TOTG), seguidos dos valores da área sob a curva glicêmica (ASC). Em seguida, todas as ratas foram postas para acasalar e, com diagnóstico positivo de prenhez, iniciou-se a etapa de prenhez (21 dias), onde os mesmos parâmetros anteriores foram analisados. No dia 21 de prenhez, todas as ratas foram mortas e dessangradas para mensuração de imunoglobulinas IgG e IgM. O TOTG não mostrou diferenças entre os grupos, exceto uma queda aos 60' no grupo PRED2, além de uma queda de IgG sérico, ambos no período de prenhez. Para o leucograma antes da prenhez, o grupo PRED mostrou diminuição de leucócitos totais e linfócitos, e durante a prenhez, o grupo PRED2 apresentou aumento nos segmentados, bastonetes e eosinófilos; além de diminuição de leucócitos, linfócitos e monócitos. Na avaliação fetal foram encontradas alta porcentagem de células indiferenciadas. A partir dos resultados observados, a utilização da Prednisona com dose de 5 mg/Kg antes e durante a prenhez alterou o perfil imunológico, com queda leucocitária e de imunoglobulinas IgG. Indicando imunossupressão. Isso sugere cautela em seu uso durante o período gestacional.

Palavras-chaves: hiperglicemia; imunossupressão; glicocorticoide; gravidez.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Estrutura química da Prednisona e prednisolona e a conversão entre ambas.	11
Figura 2. Estrutura experimental.	16
Figura 3: Teste oral de tolerância à glicose e sua respectiva área sob a curva (ASC) nos períodos pré-prenhez (A) e prenhez (B) de ratas tratadas apenas com veículo (CONT), com Prednisona e em seguida Prednisona e veículo (PRED e PRED1, respectivamente) ou apenas Prednisona (PRED e PRED2).	20
Figura 4: Fotomicroscopia de lâmina para o leucograma fetal (grupo CONT).	23

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Média e desvios-padrão do leucograma de ratas tratadas com o veículo (CONT) ou com Prednisona (PRED), por 15 dias, antes da prenhez.	21
Tabela 2. Média e desvios-padrão do leucograma de ratas tratadas com veículo (CONT), com Prednisona e veículo (PRED1) ou apenas Prednisona (PRED2) por 21 dias, durante a prenhez.	22
Tabela 3. Média e desvios-padrão de imunoglobulinas G (IgG) e M (IgM) materno e fetal de ratas tratadas apenas com veículo (CONT), com Prednisona e veículo (PRED1) ou apenas Prednisona (PRED2), por 21 dias durante a prenhez.	23

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	10
2. OBJETIVOS.....	14
2.1. Objetivo Geral.....	14
2.2. Objetivos Específicos	14
3. MATERIAIS E MÉTODOS	15
3.1 Aspectos éticos	15
3.2 Medicamento e veículo	15
3.3 Animais e critério de inclusão.....	15
3.4 Sequência experimental	16
3.4.1 Período de tratamento pré-prenhez	16
3.4.2 Período de acasalamento	17
3.4.3 Período de prenhez	17
3.5 Análise estatística	18
4. RESULTADOS	19
5. DISCUSSÃO.....	24
6. CONCLUSÃO	27
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	28
8. ANEXOS.....	34

1. INTRODUÇÃO

Os corticosteroides são hormônios esteroides circulantes naturais, produzidos a partir do colesterol. São secretados conforme a necessidade do organismo em resposta ao estresse, pelo córtex da glândula adrenal, mais especificamente na região da zona fasciculada, controlada pelo eixo hipotálamo-hipófise-adrenal sob influência do hormônio adrenocorticotrófico (ACTH) (COSTA, 2018). Estas substâncias podem ser classificadas em: glicocorticoides (cortisol), mineralocorticoides (aldosterona) e os hormônios sexuais (androgênios), sendo que o cortisol é o glicocorticoide endógeno mais comumente secretado pelo homem, sendo observadas altas concentrações em situações de estresse fisiológico (HEMING, 2018).

A primeira sintetização de um esteroide adrenocortical (cortisol) aconteceu em 1937 pelo grupo de estudos do químico polonês Tadeusz Reichstein, o qual foi utilizado para tratamento da doença de Addison (insuficiência adrenal primária). No ano de 1948, um médico reumatologista, Philip Hench aplicou esta substância em um paciente com artrite reumatoide. A partir de então iniciaram-se as pesquisas com o objetivo de observar os benefícios e efeitos indesejáveis do medicamento, bem como ajuste da dosagem ideal, de acordo com a necessidade e sintoma do paciente (KATER, et al., 2007). Na década de 1950, estas adequações que foram realizadas na molécula do cortisol resultaram em uma nova classe de fármacos, os glicocorticoides sintéticos, podendo citar então, a Prednisona, Prednisolona, Dexametasona e a Metilprednisona (LONGUI, 2007). Estes glicocorticoides sintéticos possuem baixa afinidade do hormônio com as proteínas plasmáticas, resultando em uma maior fração livre e conseqüentemente uma maior atividade biológica. Estes fármacos são aplicados no tratamento de pacientes portadores de doenças inflamatórias, alérgicas, imunológicas e reumatológicas (ROMANHOLI & SALGADO, 2007; ALMEIDA et al., 2020).

Dentre os glicocorticoides de ação intermediária mais utilizados na prática clínica encontra-se a Prednisona, sendo uma molécula inativa a qual sofre biotransformação hepática, convertendo-se então em prednisolona, sua forma terapêutica ativa. As quantidades da prednisolona no organismo humano podem ser verificados depois de 30 minutos de sua administração oral, sendo que os picos de concentração plasmática podem ser observados de 1 a 3 horas e sua meia vida plasmática é de aproximadamente 3 horas. Ao ser utilizado via oral, este medicamento é farmacologicamente inerte e requer metabolização hepática para produzir sua forma terapêuticamente ativa, em prednisolona (Figura 1), pela ação da enzima 11-beta-hidroxiesteroide-desidrogenase, hidroxilando a própria molécula (CAIN & CIDLWOSKI, 2017; ANVISA, 2019).

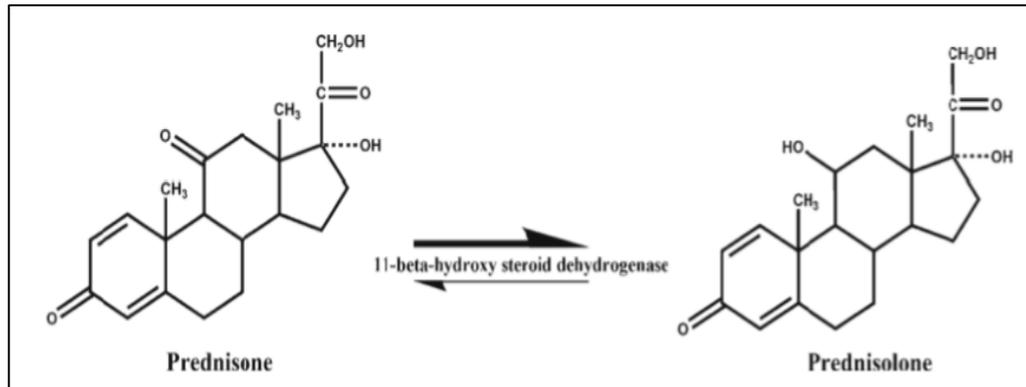


Figura 1. Estrutura química da Prednisona e Prednisolona e a conversão entre ambas.
Fonte: Xu et al., 2007.

A princípio, a Prednisona foi muito empregada em terapias contra artrite reumatoide; posteriormente aplicada à tratamentos dermatológicos, endócrinos, oncológicos, oftálmicos, doenças autoimunes, maturação pulmonar fetal, podendo exemplificar também sua utilização em pacientes transplantados por conta de sua ação imunossupressora (FINAMOR, 2002).

Uma vez que são numerosas as aplicações deste fármaco, seus regimes de tratamento também são muito diversificados. A dose, tempo de tratamento e modo de administração devem ser adequados conforme as condições clínicas (sexo, idade, doença específica, dieta, etc.) de cada paciente, tornando a escolha do regime de tratamento individual, o que exige acompanhamento clínico rigoroso, principalmente, quando é necessário seu uso durante a gestação (ARAÚJO et al., 2015).

Sabendo destes inúmeros benefícios para tais condições patológicas, o consumo de medicamentos em muitas situações ainda ocorre de forma indiscriminada, um tópico importante no setor de saúde pública. Esta situação pode ser observada inclusive no Brasil, por ser um país em desenvolvimento e apresentar dificuldade de acesso a saúde e informação, fazendo com que o paciente fique exposto a reações adversas pelo uso inadequado e indiscriminado de fármacos (ROCHA et al., 2013).

A utilização indiscriminada de medicamentos no período gestacional são situações muito comuns que trazem uma enorme preocupação. Existem medicamentos que são considerados teratogênicos, por causarem danos ao feto; sejam eles: malformações estruturais, alterações funcionais como déficit do crescimento ou distúrbios comportamentais com retardo mental (MONTES, 2017). Mesmo sendo apresentadas evidências a respeito da toxicidade da automedicação na gravidez, esta é uma prática comum, podendo trazer um risco maior em casos de uso não intencional, quando a gravidez ainda não é conhecida. Portanto, o uso de

medicamentos neste período deve ser feito com muito conhecimento e cautela (CAMPOS et al., 2007), desta forma desperta um grande interesse nesta área de estudo científico.

O consumo de medicamentos por gestantes pôs-se em pauta após o período entre 1950 e 1960, onde em torno de 10 mil crianças nascidas neste intervalo de tempo, apresentaram focomelia, dentre outras malformações congênitas, devido a prescrição inadequada de talidomida a gestantes que se queixavam de enjoo a seus médicos (CASTRO, et al., 2004). Após o ocorrido a agência norte-americana *Food and Drug Administration* (FDA) em 1979, estabeleceu um protocolo, onde mostra que é necessário haver um cuidado especial com as gestantes, as quais são consideradas um grupo de risco.

Desta forma, foram estabelecidos protocolos a serem seguidos para a liberação e comercialização de medicamentos em geral. Desde então, a realização de pesquisas envolvendo a fase gestacional associada a fármacos, têm sido constantes, a fim de aperfeiçoar ainda mais esta prática, buscando novas estratégias que proporcionem o bem-estar da mãe e do filho (RAMOS et al., 2008). Além disso, os medicamentos foram classificados de acordo com seus efeitos indesejáveis em gestantes; caracterizados então por classe A, B, C, D e X, sendo que a Prednisona entra no grupo de classe C, enquadrando-se como ação intermediária ao organismo (PEREIRA et al., 2007; RIBEIRO, et al., 2013).

Um fato preocupante é o de que as mulheres têm cada vez mais engravidado tardiamente, aos 30 e/ou aos 40 anos. Nesta fase da vida, é comum o desenvolvimento de hipertensão, *Diabetes mellitus* e até mesmo doenças imunológicas as quais levam à necessidade do uso regular de medicamentos, sendo que, nessas situações o uso destes é dificilmente dispensado (KORENA et al., 2018).

O estudo de Areia (2018) mostra que a corticoterapia, associada ao período pré-natal, pode diminuir o risco de mortes neonatas, na hemorragia intraventricular e diminuir a incidência de enterocolite necrotizante, além de ser muito utilizada para maturação pulmonar fetal, porém a utilização recorrente da corticoterapia pode trazer riscos. Além disso, há casos em que a mãe faz o uso da medicação no primeiro trimestre da gravidez, período em que geralmente a gestação ainda não foi descoberta, o que pode trazer um risco maior para a mãe e o feto, pois este é considerado um período crítico da gestação. É nesta fase que ocorre a formação de estruturas essenciais para o desenvolvimento fetal, e caso a medicação seja ingerida neste período pode provocar malformações (LUNARDI-MAIA, 2014).

A utilização da corticoterapia durante o período pré-natal é comum em gestantes com risco de partos prematuros, entretanto podem diminuir o risco de morte no período neonato, apresentar menor índice da síndrome do desconforto respiratório, menores taxas de hemorragia

intracraniana e auxiliar na maturação pulmonar fetal. Todavia, seu uso não é isento de riscos. Caso sejam utilizados a longo prazo, já foi evidenciado que o uso destes glicocorticoides podem acentuar ainda mais os efeitos adversos maternos e neonatos (CAI, 2019), destacando-se por exemplo na interferência do metabolismo geral do indivíduo (principalmente no de carboidratos), podendo levar ao desenvolvimento de quadros de hiperglicemia temporária, ou ainda, casos mais graves, como resistência à insulina (BAVARESCO, 2005). Desta forma, a monitoração glicêmica de um paciente que faz uso desta classe de medicamentos torna-se necessária (ANTONOW, 2016). Por exemplo, em um estado diabético, os efeitos colaterais destas drogas podem ser agravados, sobretudo no metabolismo da glicose, visto que estas drogas podem antagonizar várias ações periféricas da insulina (DAMIANI et al., 2001).

Além disso, Solano (2019) mostrou que a função do sistema imunológico é atuar na defesa contra agentes externos infecciosos ao organismo, podendo ser microrganismos e até mesmo contra substâncias tóxicas. Desta forma, o sistema imunológico na gestação apresenta características complexas que de certa forma podem dificultar a compreensão do fato do enxerto placentário ocorrer com sucesso; uma vez que, este poderia ser visto como um “corpo estranho” pelo sistema imunológico, mais especificamente um enxerto semi-alogênico, pelo fato de haver também uma herança paterna (PEREIRA et al., 2005). A princípio, esta característica foi atribuída pelo fato de haver uma separação, ou uma barreira placentária que impediria o contato entre compartimentos maternos e fetais.

Diante disso, buscando melhor compreender os mecanismos envolvidos no tratamento com glicocorticoides na gestação, torna-se de grande interesse investigar um modelo experimental com ratas tratadas com Prednisona antes e/ou durante a gestação, a fim de estudar seus efeitos biológicos positivos e/ou negativos na prenhez, levando-se em conta o perfil da glicemia materna e a resposta imunológica tanto materna quanto fetal. Desta forma, a hipótese deste estudo é que ocorram alterações biológicas maternas e fetais em ambos os tipos de tratamento da Prednisona em ratas, uma vez que a ação deste medicamento pode levar às alterações na sensibilidade insulínica em tecidos periféricos e no perfil imunológico celular.

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivo Geral

Avaliar os efeitos da Prednisona, administrada antes e/ou durante a prenhez, no perfil glicêmico e imunológico de ratas prenhes.

2.2. Objetivos Específicos

Avaliar os efeitos do tratamento com Prednisona antes e/ou durante a prenhez quanto aos:

- *Parâmetros imunológicos* – contagem total e diferencial de leucócitos, e imunoglobulinas séricas (IgM e IgG) maternos e fetais.
- *Parâmetros glicêmicos* – teste oral de tolerância à glicose materno e área sob a curva glicêmica;

3. MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 Aspectos éticos

Este estudo foi analisado e aprovado pelo Comitê de Ética no Uso de Animais do Araguaia (CEUA-Araguaia), sob o protocolo nº 23108.021399/2019-88, da Universidade Federal de Mato Grosso (Anexo 1) e realizado de acordo com as resoluções específicas da Bioética em Experimentos com Animais (Resolução Normativa do CONCEA nº 23, de 23/07/2015).

3.2 Medicamento e veículo

Foi utilizado medicamento manipulado por profissional farmacêutico, obtido de uma farmácia local, na fórmula de 5,0 mg de Prednisona para 1,0 mL de *Syrspend*[®] para as ratas tratadas com o fármaco e apenas *Syrspend*[®] puro para as ratas tratadas com veículo, todos na forma líquida. Em todo o período experimental de tratamento, o medicamento utilizado foi sempre obtido do mesmo local e dentro do prazo de validade vigente.

3.3 Animais e critério de inclusão

Foram utilizados ratos e ratas adultos da linhagem *Wistar*, em idade reprodutiva (90 dias de vida), do Laboratório de Fisiologia de Sistemas e Toxicologia Reprodutiva (FisioTox) – Campus Universitário de Araguaia – UFMT. Permaneceram em gaiolas coletivas de polietileno com capacidade máxima de cinco animais, em temperatura ambiente regulada em 25°C±2, fotoperíodo de 12 horas e umidade relativa entre 45% a 55% e receberam água filtrada e ração *ad libitum*.

Inicialmente, foram utilizadas apenas ratas *Wistar* (n=45). Como este estudo está relacionado ao tratamento de medicamento à base de glicocorticoides, é importante que estas ratas apresentem uma tolerância à glicose normal, ou seja, que inicialmente seu organismo responda adequadamente à secreção e ação da insulina endógena. Para isso, foi realizado o teste oral de tolerância à glicose (TOTG) em todas as ratas, com a metodologia adaptada de Moura et al. (2002), inicialmente realizada no início da manhã. Todas as ratas foram deixadas em jejum de 6 horas e foi coletada uma gota de sangue periférico para determinação glicêmica em glicosímetro convencional (tempo 0). Em seguida, as ratas receberam solução de glicose (200 g/L) por via oral na dose de 2,0 g/Kg de peso corpóreo. Após 30, 60 e 120 minutos de administração desta solução, outras glicemias também foram determinadas (NOGUEIRA et al., 1990). As ratas que apresentaram três ou quatro valores glicêmicos abaixo de 140 mg/dL foram

consideradas inclusas no estudo, sendo consideradas com tolerância à glicose normal (DALLAQUA et al., 2012). Por outro lado, ratas que contrariaram o proposto anteriormente, foram consideradas excluídas do estudo.

3.4 Sequência experimental

A sequência experimental segue com as etapas de tratamento (pré-prenhez, acasalamento e prenhez), coletas de dados e materiais biológicos para posteriores análises (Figura 2).

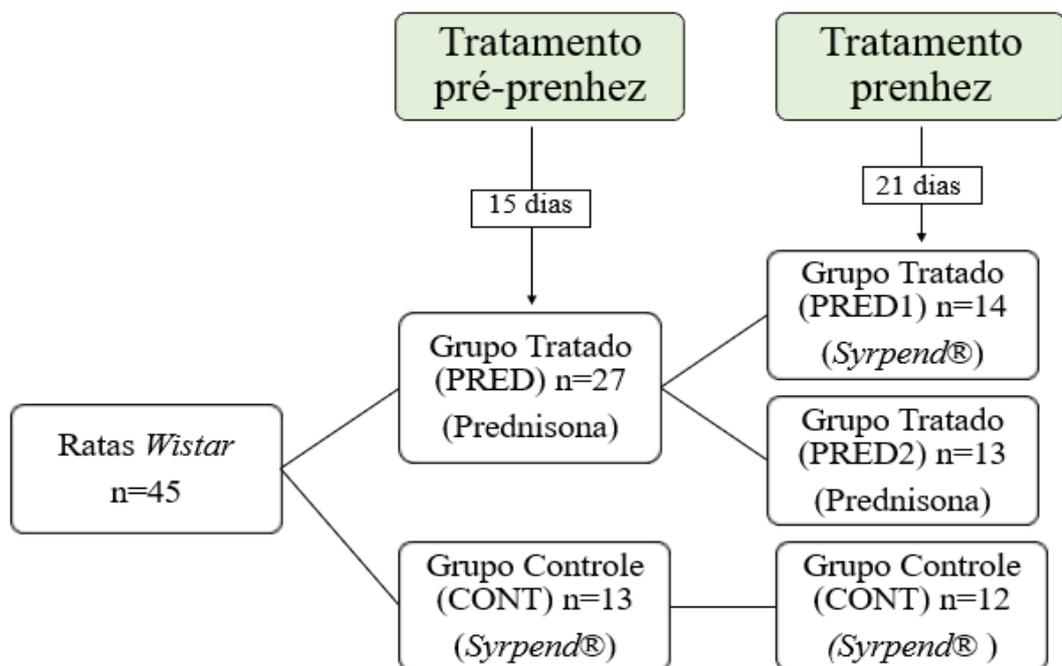


Figura 2. Estrutura experimental.

3.4.1 Período de tratamento pré-prenhez

Neste período, todas as ratas foram distribuídas de forma randomizada formando inicialmente (mas não totalmente definitivo) dois grupos experimentais.

- **Grupo controle (CONT), n= 13:** ratas tratadas oralmente com o veículo *Syrpend*[®] por 15 dias.

- **Grupo tratado (PRED), n= 27:** ratas tratadas oralmente com Prednisona dissolvida no *Syrpend*[®] (5 mg/Kg/dia) por 15 dias.

O Teste Oral de Tolerância à Glicose (TOTG) (com metodologia descrita no item 3.3) foi avaliado no 15º dia de tratamento, além da avaliação do leucograma. Na coleta dos valores

glicêmicos durante o TOTG, foi construída uma curva glicêmica que mostra todo o transcorrer deste monossacarídeo durante o tempo de teste, obtendo desta forma a área sob a curva (ASC) de cada grupo experimental, utilizando-se o método trapezoidal (TAI, 1994).

As amostras de sangue para os leucogramas das ratas foram obtidas por acesso periférico, através de punção da veia caudal. A técnica usada foi adaptada da metodologia de Leandro et al. (2006), utilizando câmara de Neubauer, sendo as amostras de sangue diluídas na proporção de 1:20 em líquido de Turk. O material obtido foi homogeneizado em agitador magnético por 45 segundos e assim foi realizada a contagem total de leucócitos em microscópios de luz. A contagem diferencial das células leucocitárias foi obtida em esfregaços sanguíneos fixados e corados com Panótico (Laborclin[®]), que permite a diferenciação celular. Após secagem da lâmina foi realizada a contagem diferencial dos leucócitos em microscópio de luz utilizando-se objetiva de imersão em óleo.

3.4.2 Período de acasalamento

Todas as ratas foram postas para acasalamento, onde foram distribuídas quatro a quatro em gaiolas coletivas de polietileno, na presença de um rato macho durante o período noturno. Na manhã subsequente, os machos foram retirados e os esfregaços vaginais foram coletados. Os critérios indicativos de prenhez foram a presença de espermatozoides e o diagnóstico da fase estro do ciclo estral, sendo este considerado o dia zero de prenhez. As ratas que ainda não apresentarem o diagnóstico de prenhez continuaram recebendo o tratamento do seu respectivo grupo, CONT e PRED, por até no máximo seis dias. As fêmeas que não acasalaram neste período foram consideradas inférteis e excluídas do estudo (DALLAQUA et al., 2012).

3.4.3 Período de prenhez

A partir do dia 0 de prenhez, as ratas do grupo PRED foram aleatoriamente subdivididas em 2 grupos, enquanto o grupo CONT se manteve o mesmo. Ao total, três grupos experimentais foram utilizados neste estudo, com um número amostral mínimo de 12 ratas:

- **Grupo controle (CONT):** ratas CONT ainda tratadas oralmente com o veículo *Syrpend*[®] durante a prenhez (21 dias).
- **Grupo tratado 1 (PRED1):** ratas PRED agora tratadas oralmente com veículo *Syrpend*[®] durante a prenhez (21 dias).
- **Grupo tratado 2 (PRED2):** ratas PRED ainda tratadas oralmente com Prednisona dissolvida no *Syrpend*[®] (5 mg/Kg/dia) durante a prenhez (21 dias).

Decorrendo o tratamento em todas as ratas, o TOTG com a obtenção de seu ASC; e leitura do leucograma foram novamente aplicados neste experimento no 17º e 21º dias da prenhez, respectivamente, com suas descrições metodológicas encontradas nos itens 3.3 e 3.4.1, respectivamente.

Na manhã do 21º dia de prenhez, todas as ratas foram anestesiadas com acepromazina (ACEPRAN®) a 1% e em seguida submetidas à dessoragem. A maior parte do sangue foi coletada em tubos de ensaio livre de anticoagulantes, mantidas em repouso por 30 minutos e depois centrifugada a $1300 \times g$ por 10 minutos em temperatura ambiente. O sobrenadante foi recolhido como soro e armazenado a -80°C para posterior determinação de imunoglobulinas séricas. A menor fração do sangue foi separada para leitura do leucograma.

Em seguida, foi realizada a laparotomia com exposição dos cornos uterinos, com retirada imediata dos fetos para coleta do sangue total (decapitação imediata) para posterior análise do leucograma e imunoglobulinas séricas fetais, utilizando-se o *pool* do sangue de dois fetos aleatórios por mãe dentro de cada grupo.

As concentrações das imunoglobulinas IgM e IgG maternas e fetais foram mensuradas utilizando soro sanguíneo, obtido do sangue total, através do método de imunoturbidimetria utilizando-se *kits* bioquímicos Wiener® e as amostras também foram lidas no espectrofotômetro de luz Bioplus-2000. Esta metodologia segue na diminuição da luz ao passar por um complexo antígeno-anticorpo, ou seja, o quanto a solução antígeno-anticorpo absorve da luz e o quanto ela deixa passar (YOUNG, 2000).

3.5 Análise estatística

Os dados foram expressos como média \pm desvio-padrão. Para os parâmetros analisados no período pré-prenhez, foi utilizado o teste t de Student (CONT x PRD). Para os valores obtidos no período de prenhez, foi utilizada análise de variância (ANOVA) seguida pelo teste de Tukey (CONT x PRD1 x PRD2) (VIEIRA, 1997). As diferenças foram consideradas significativas quando $p < 0,05$.

4. RESULTADOS

Para este estudo experimental foram utilizadas um total de 40 ratas, onde inicialmente 13 representaram o grupo CONT e 27 o grupo PRED. Após o acasalamento, o grupo PRED foi subdividido, em PRED-1 e PRED-2, contendo 14 e 13 ratas, respectivamente, desta forma este estudo cumpre o número mínimo de animais exigidos. As 6 ratas que não participaram deste experimento foram excluídas por não apresentarem diagnóstico positivo de prenhez no tempo máximo proposto (item 3.4.2).

A Figura 3 mostra as curvas glicêmicas do teste oral de tolerância à glicose (TOTG) realizados no dia 15 no tratamento do período pré-prenhez (gráfico A) e no dia 17 do período de prenhez (gráfico B), bem como suas respectivas áreas sob a curva glicêmica (ASC). Não houve diferenças entre as glicemias entre os tempos 120' e 0' de todos os grupos estudados, mas foi observado aumento glicêmico no tempo 30 minutos em relação ao jejum (tempo 0) de todos os respectivos grupos, em ambos os períodos experimentais. Além disso, no tempo 60' houve também um aumento glicêmico comparado ao jejum para os grupos CONT e PRED (período pré-prenhez, gráfico A) e CONT e PRED1 (período prenhez, gráfico B). Quando se comparam as glicemias entre os grupos experimentais, aos 60' é visto que os grupos de prenhez CONT e PRED1 possuem maiores glicemias em relação ao grupo PRED2 (gráfico B). Os valores da ASC não mostraram diferenças entre quaisquer grupos, em ambos os períodos experimentais.

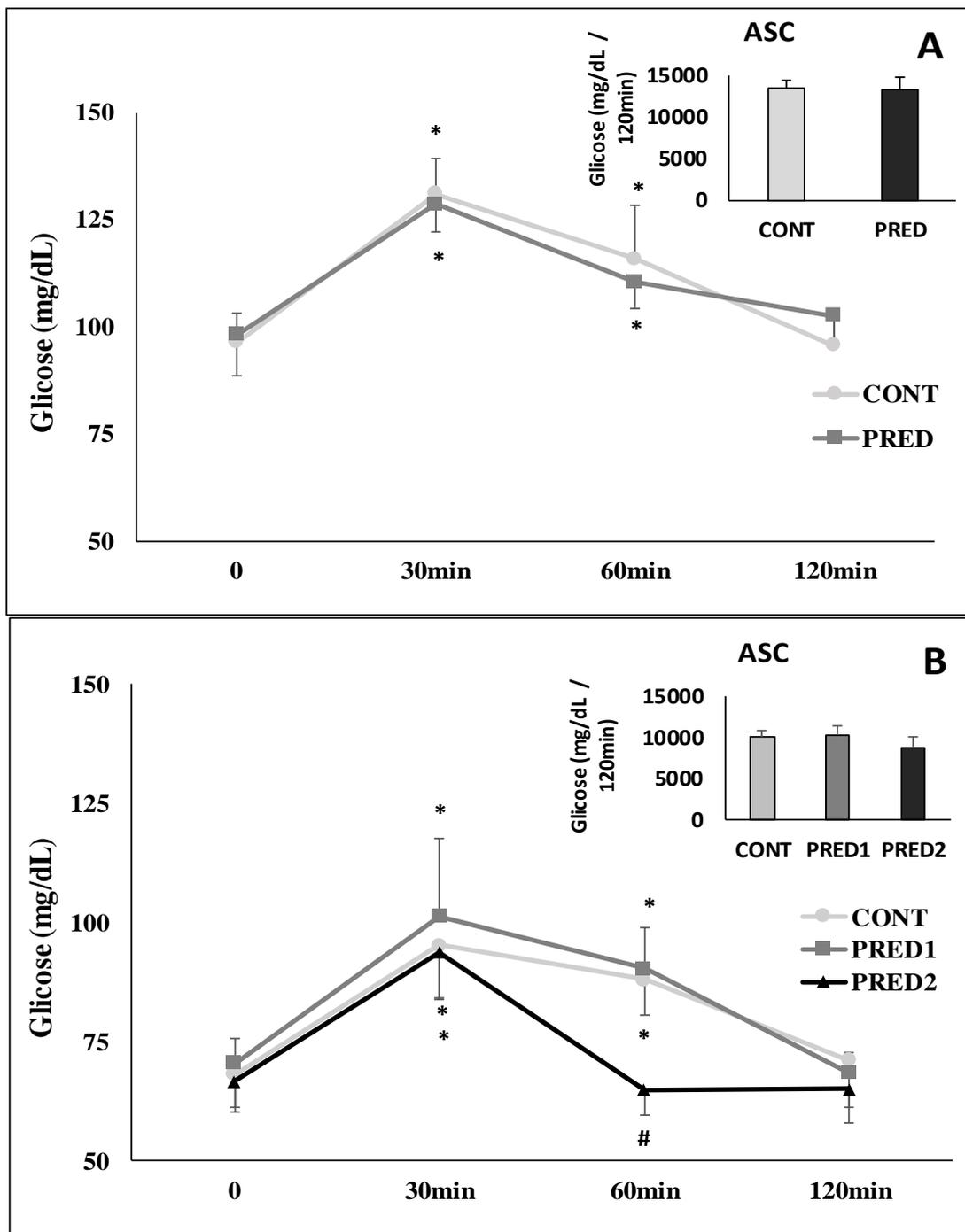


Figura 3: Teste oral de tolerância à glicose e sua respectiva área sob a curva (ASC) nos períodos pré-prenhez (A) e prenhez (B) de ratas tratadas apenas com veículo (CONT), com Prednisona e em seguida Prednisona e veículo (PRED e PRED1, respectivamente) ou apenas Prednisona (PRED e PRED2).

* $p < 0,05$, diferente do tempo 0, mesmo grupo; # $p < 0,05$, diferente do grupo CONT e PRED1, mesmo tempo glicêmico (ANOVA, seguido do teste de comparações múltiplas de Tukey)

A Tabela 1 mostra o leucograma das ratas antes do acasalamento. O grupo PRED apresentou aumento da contagem diferencial de segmentados, bastonetes, eosinófilos e monócitos, além de uma redução de leucócitos totais e linfócitos.

Tabela 1. Média e desvios-padrão do leucograma de ratas tratadas com o veículo (CONT) ou com Prednisona (PRED), por 15 dias, antes da prenhez.

	CONT	PRED
Leucócitos ($10^3/\text{mm}^3$)	11,65 ± 2,50	8,23 ± 0,99 *
<i>segmentados ($10^3/\text{mm}^3$)</i>	1,15 ± 0,25 (8-14%)	2,40 ± 0,21 * (21-27%)
<i>bastonetes ($10^3/\text{mm}^3$)</i>	0,50 ± 0,07 (4-7%)	0,90 ± 0,13 * (7-11%)
<i>eosinófilos ($10^3/\text{mm}^3$)</i>	0,19 ± 0,07 (1-3%)	0,39 ± 0,16 * (2-5%)
<i>linfócitos ($10^3/\text{mm}^3$)</i>	7,22 ± 0,26 (69-75%)	4,90 ± 0,45 * (44-54%)
<i>monócitos ($10^3/\text{mm}^3$)</i>	0,91 ± 0,09 (8-11%)	1,40 ± 0,28 * (11-17%)
<i>basófilos ($10^3/\text{mm}^3$)</i>	0,00 ± 0,00 (0%)	0,00 ± 0,00 (0%)

* $p < 0,05$ – Diferente do grupo CONT (teste *t* de Student).

As contagens celulares ao final da prenhez do leucograma materno e fetal estão na Tabela 2. Embora as contagens de basófilos ainda ser resultado nulo nos grupos, as contagens de bastonetes e monócitos foram aumentados no grupo PRED1, comparado ao CONT. Além disso, as ratas PRED2 mostraram um aumento nos segmentados, bastonetes e eosinófilos, além de uma diminuição de leucócitos, linfócitos e monócitos, quando comparadas às ratas PRED1. Em comparação ao grupo CONT, o grupo PRED2 mostra apenas aumento nos bastonetes e eosinófilos, mas ainda persiste a diminuição de linfócitos.

Para as contagens celulares fetais, os fetos PRED1 e PRED2 diminuíram a contagem de segmentados e PRED2 nos linfócitos, ambos comparados aos fetos CONT. Além disso, não foram encontradas leituras de leucócitos, bastonetes, eosinófilos, monócitos e basófilos; entretanto foram encontradas alta porcentagem de células indiferenciadas (CI) (Figura 4), o que não ocorre nos resultados maternos, mesmo assim não possuem diferença entre os grupos.

Tabela 2. Média e desvios-padrão do leucograma de ratas tratadas com veículo (CONT), com Prednisona e veículo (PRED1) ou apenas Prednisona (PRED2) por 21 dias, durante a prenhez.

	CONT	PRED1	PRED2
Leucócitos ($10^3/\text{mm}^3$)			
<i>materno dia 21 prenhez</i>	7,37 ± 2,45	6,75 ± 2,19	5,32 ± 1,54*
<i>Fetal</i>	19,85 ± 8,18	13,73 ± 5,15	19,08 ± 5,07
segmentados ($10^3/\text{mm}^3$)			
<i>materno dia 21 prenhez</i>	2,20 ± 0,41 (18-27%)	2,06 ± 0,34 (16-24%)	2,51 ± 0,35 # (21-29%)
<i>Fetal</i>	0,22 ± 0,11 (0-4%)	0,01 ± 0,03 * (0-2%)	0,0 * (0%)
bastonetes ($10^3/\text{mm}^3$)			
<i>materno dia 21 prenhez</i>	0,61 ± 0,17 (4-8%)	0,85 ± 0,20 * (6-11%)	1,40 ± 0,26 *# (11-17%)
<i>Fetal</i>	0,0 (0%)	0,0 (0%)	0,0 (0%)
eosinófilos ($10^3/\text{mm}^3$)			
<i>materno dia 21 prenhez</i>	0,13 ± 0,09 (0-3%)	0,18 ± 0,11 (0-3%)	0,40 ± 0,11 *# (2-6%)
<i>Fetal</i>	0,0 (0%)	0,0 (0%)	0,0 (0%)
linfócitos ($10^3/\text{mm}^3$)			
<i>materno dia 21 prenhez</i>	6,11 ± 0,74 (53 - 69%)	6,04 ± 0,74 (52-68%)	4,51 ± 0,55 *# (39-51%)
<i>Fetal</i>	1,68 ± 0,15 (14-18%)	1,57 ± 0,18 (13-14%)	1,01 ± 0,14 *# (8-12%)
monócitos ($10^3/\text{mm}^3$)			
<i>materno dia 21 prenhez</i>	0,96 ± 0,25 (6-12%)	1,47 ± 0,37 * (10-18%)	1,16 ± 0,23 # (9-14%)
<i>Fetal</i>	0,0 (0%)	0,0 (0%)	0,0 (0%)
basófilos ($10^3/\text{mm}^3$)			
<i>materno dia 21 prenhez</i>	0,0 (0%)	0,0 (0%)	0,0 (0%)
<i>Fetal</i>	0,0 (0%)	0,0 (0%)	0,0 (0%)
Células indiferenciadas fetais ($10^3/\text{mm}^3$)	8,10 ± 0,18 (79-83%)	8,39 ± 0,17 (81-85%)	9,0 ± 0,12 (88-92%)

* $p < 0,05$, diferente do grupo CONT; # $p < 0,05$, diferente do Grupo PRED1 (ANOVA seguido de teste de comparações múltiplas de Tukey).

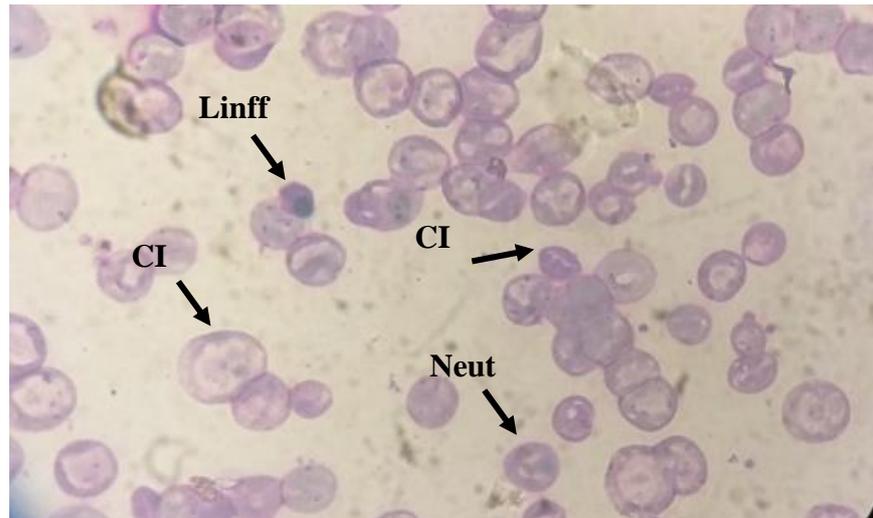


Figura 4: Fotomicroscopia de lâmina para o leucograma fetal (grupo CONT).

Linf: Linfócito; *Neut:* Neutrófilo; *CI:* Células indiferenciadas.

As avaliações séricas de imunoglobulinas ao final da prenhez das ratas estão mostradas na Tabela 3. Embora não houve diferenças dos valores no grupo PRED1, as ratas PRED2 mostraram uma queda das taxas de IgG materno, comparadas com os outros dois grupos. Além disso, não houve diferenças das imunoglobulinas avaliadas nos fetos de todos os grupos experimentais.

Tabela 3. Média e desvios-padrão de imunoglobulinas G (IgG) e M (IgM) materno e fetal de ratas tratadas apenas com veículo (CONT), com Prednisona e veículo (PRED1) ou apenas Prednisona (PRED2), por 21 dias durante a prenhez.

	CONT	PRED1	PRED2
Sangue materno			
<i>IgG (g/L x 10⁻³)</i>	3,8 ± 0,5	3,4 ± 0,7	1,9 ± 0,7 *#
<i>IgM (g/L x 10⁻³)</i>	14,0 ± 2,5	13,5 ± 3,3	12,8 ± 3,1
Sangue fetal			
<i>IgG (g/L x 10⁻³)</i>	0,3 ± 0,1	0,1 ± 0,1	0,1 ± 0,1
<i>IgM (g/L x 10⁻³)</i>	5,1 ± 0,9	5,2 ± 1,0	6,0 ± 1,7

* $p < 0,05$, Diferente do grupo CONT; # $p < 0,05$, Diferente do Grupo PRED1 (ANOVA seguido de teste de comparações múltiplas de Tukey).

5. DISCUSSÃO

Os glicocorticoides são usados mundialmente pelo fácil acesso e ao baixo custo, além de que possuem uma extensa lista de aplicações clínicas (MORAIS, 2018). Por serem potentes agentes anti-inflamatórios e imunossupressores, torna-se a primeira escolha no tratamento de diversas desordens metabólicas (MAGALHÃES et al., 2012; THO et al., 2019). O tratamento com glicocorticoides pode ser muito benéfico à curto prazo, porém, à longo prazo, são identificados como agentes hiperglicemiantes, uma vez que atuam estimulando a gliconeogênese hepática e a glicogenólise (CASTRO, 2003).

A realização do TOTG é importante para determinar a resposta fisiológica da insulina endógena a partir de uma sobrecarga de glicose (SILVA, 2020), podendo desta forma observar a capacidade que o organismo possui de captar e metabolizar a glicose (DIRETRIZES, 2017), onde será determinada sua resistência à insulina. O paciente em jejum recebe sobrecarga de glicose, e com isso os valores da glicemia circulante alcançarão níveis elevados, cerca de 30 minutos. No tempo 60', caso as células-beta pancreáticas, responsáveis pela produção de insulina, estiverem trabalhando corretamente, irão metabolizar a glicose, fazendo com que a substância não esteja em concentração elevada no plasma sanguíneo (REZENDE, 2016).

O grupo PRED (pré-prenhez), e PRED1 (prenhez) apresentaram valores glicêmicos do TOTG e área sob a curva semelhantes ao grupo CONT, mantendo-se então dentro dos valores normais, indicando que neste caso não houve alterações nos perfis glicêmicos em ratas tratadas com *Syrpend*[®] e Prednisona. Em contrapartida, o TOTG de ratas que foram tratadas somente com a Prednisona (PRED2), manifestaram uma queda glicêmica aos 60 minutos, apresentando então uma resposta diferente do esperado. Essa alteração pode estar associada a fase gestacional em que as ratas estavam, pois o TOTG foi executado no 17º de prenhez, sendo este período considerado de maior fase catabólica da gestação, e este estado fisiológico provoca um aumento nos processos de glicogenólise com o objetivo de ofertar um maior aporte glicêmico para o organismo fetal (KNOPP et al., 1981). A fim de diferenciar a resposta deste biomarcador com os outros grupos, a ação mais prolongada da Prednisona diária, na dose administrada, não foi suficiente para piorar a dinâmica glicêmica no TOTG, reforçando ainda que a AUC também não foi alterada. Um estudo de Tucci et al. (2019) mostrou que pacientes com *Diabetes mellitus* tipo 2 com câncer de próstata tratados com Prednisona apresentaram quadros hipoglicêmicos. Zhou et al. (2018) mostraram que 35% de jovens adultos com doenças autoimunes tratados com Prednisona também apresentaram hipoglicemia, sugerindo também uma resposta da queda glicêmica breve aos 60' nas ratas PRED2.

Os glicocorticoides afetam as vias imunológicas de forma notória, uma vez que agem bloqueando a transcrição dos genes que são responsáveis pela codificação de citocinas, células estas que influenciam o crescimento e diferenciação de linfócitos, desta forma diminuindo o número destes (DUSSAUNE, 2007). Este fato corrobora os resultados deste estudo, que apresentou queda nos linfócitos e leucócitos totais, com isso reduzindo a resposta inflamatória, indicando uma maior suscetibilidade a infecções virais (RAMOS., et al. 2008), mostrando que a dose de 5 mg/kg pode ser considerada uma dose imunossupressora, com apenas 15 dias de tratamento.

O período gestacional é a fase em que o organismo sofre mais adaptações fisiológicas e alterações hormonais, a fim de suprir as necessidades da mãe e do feto. De acordo com Souza (2002), a produção de todas as citocinas do organismo é diminuída durante a gestação, uma vez que o organismo materno precisa abrigar um “corpo estranho”. Sabe-se que a biotransformação hepática da Prednisona ocorre no organismo materno, deixando então subentendido que a droga afetará diretamente a mãe, e secundariamente, o conceito. A quantidade da droga que chega ao feto varia de acordo com alguns fatores, podendo ser maternos ou fetais (metabolismo placentário, farmacocinética materna, taxa de passagem placentária) (SCHULER-FACCINI, 2002). O grupo PRED2, que sempre foi tratado com a Prednisona, apresentou respostas neste estudo que reafirmaram a capacidade imunossupressora do medicamento, não só sob a mãe, mas também ao feto, com algumas alterações de contagem celular no leucograma, favorecendo esta resposta biológica. Em contrapartida, o grupo PRED1, que recebeu a Prednisona somente no período de pré-prenhez e no período gestacional a administração da droga foi interrompida, foi observado uma volta dos valores normais do leucograma.

Um estudo de Kabat (2016) mostra que a utilização de medicamentos imunossupressores no período gestacional compromete o sistema imunológico, tanto da mãe quanto do filho. No presente estudo foi observada uma queda considerável nas imunoglobulinas séricas IgG maternas. Neste período, as células do sistema imune materno sofrem modificações, fazendo com que a resposta mude de celular para humoral, além de que a liberação de glicocorticoides endógenos está ligada à redução de linfócitos (VILAÇA JÚNIOR, 2012). A quantificação de IgG é indicada em casos em que há suspeita de imunodeficiências em pacientes com histórico de infecções bacterianas (DELGADO, 1993). As concentrações séricas de IgG e IgM, tanto maternas quanto fetais, são importantes critérios de avaliações imunológicas em ratos (SALAUZE et al., 1994). Além disso, a utilização de glicocorticoides em doses elevadas, podem inibir os níveis de imunoglobulinas circulantes (ANTI, 2008) por conta do rompimento

de células β (BAZIN et al., 1974), visto parcialmente no grupo PRED2 deste estudo, em que houve diminuição da eficiência imunológica pelos baixos níveis de IgG.

Este estudo permitiu uma melhor compreensão materna e fetal ao uso deste medicamento antes e/ou durante a gestação, contribuindo que as alterações encontradas possam ser fatores iniciais ou tardios de outras respostas fisiológicas que podem estar ocorrendo nestas ratas. Este estudo pode abrir futuras investigações para outras áreas biológicas, como no metabolismo intermediário materno, performance reprodutiva materna e desenvolvimento fetal, permitindo assim um importante alerta quanto ao uso de Prednisona próxima ou durante a gestação.

6. CONCLUSÃO

Como observado nos resultados obtidos, a utilização da Prednisona com dose de 5 mg/Kg antes e durante a prenhez tem a capacidade de antecipar o retorno glicêmico. Entretanto, causou alterações imunológicas maternas e fetais, provocando imunossupressão, reduzindo as células leucocitárias e imunoglobulinas IgG, e a interrupção deste medicamento não leva a esses efeitos. Desta forma, a utilização deste medicamento deve ser realizada com cautela em períodos gestacionais.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALMEIDA, M.Q; et al. Corticoide e a covid-19. **Sociedade Brasileira de Endocrinologia e Metabologia**, SBEM NACIONAL, abril 2020. Acesso em: 26/05/2020

ANTONOW D.R; et al. Glicocorticoides: uma meta-análise. **Disciplinarum Scientia Saúde**. 2016; 1(8): 51-68.

ANVISA. Prednisona: Bula do paciente. Disponível em: <<http://portal.anvisa.gov.br/bula-paciente-prednisona>>. Acesso em: 19 de setembro de 2020. FALTA ANO 2019

ARAÚJO, A. L.; et al. Estudos brasileiros sobre automedicação: uma análise da literatura. **Revista Brasileira de Farmacologia**. V. 96, n. 2, p. 1178-1202, 2015.

AREIA, A.L; et al. Corticotherapy for fetal lung maturation. **Acta Obstet Ginecol Port** 2018;12(4):311-313 311

ANTI, S. M. A.; GLORGI, R. D. N; CHAHADE, W. H. Antiinflamatórios hormonais: Glicocorticóides. Einstein. 2008; 6 (Supl 1): S59-S65.

BAVARESCO, Luci; et al. Glicocorticóides: Usos clássicos e emprego no tratamento do câncer. **Infarma**, v. 17, n. 7, p. 9, 2005.

BAZIN, H.; BECKERS, A.; QUERINJEAN, P. Three classes and four (sub)classes of rat immunoglobulins: IgM, IgA, IgE and IgG1, IgG2a, IgG2b, IgG2c. **European Journal of Immunology**. V. 4, p. 44-48, 1974.

CAI, E. et al; Maternal and fetal outcomes in pregnancies with long-term corticosteroid use. **The Journal of Maternal-Fetal & Neonatal Medicine**. Montreal, Canada, ago/2019.

CAIN DW, CIDLWOSKI JA. Immune regulation by glucocorticoids. **Nature Reviews Immunology**. 2017; 17(4): 233-247.

CAMPOS K.E; et al. Effect of maternal obesity on diabetes development in adult rat offspring. **Life Sciences**. 2007; 19-20(80): 1473-1478.

CASTRO, C.G.S.O; et al. O uso de medicamentos na gravidez. **Ciência & Saúde Coletiva**. Rio de Janeiro, RJ, vol.9, n. 4, out./dez. 2004.

CASTRO, M; et al. Insuficiência adrenal crônica e aguda. **Medicina (Ribeirao Preto. Online)**, v. 36, n. 2/4, p. 375-379, 2003.

COSTA, K.M; et al. Glucocorticoid susceptibility and in vivo ABCB1 activity differ in murine B cell subsets. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**. Rio de Janeiro, RJ, vol.90, n.3, p.3081-3097, jul/set 2018.

DALLAQUA, B; et al. Treatment with Azadirachta indica in diabetic pregnant rats: negative effects on maternal outcome. **Journal of ethnopharmacology**, v. 143, n. 3, p. 805-811, 2012.

DAMIANI D; et al. Corticoterapia e suas repercussões: a relação custo–benefício. **Revista de Pediatria**. 2001; v.1, p.71-82.

DELGADO, L; et al. Subclasse de IgG: reavaliação após seis meses da sua quantificação num laboratório de imunologia. **Revista Port. Imunoalergol**, v. 1, n. 4, 1993.

DUSSAUZE, H. et al. Corticothérapie systémique et risque infectieux. **La revue de médecine interne**, v. 28, n. 12, p. 841-851, 2007.

MORAIS, M. **Estudo da separação de glicocorticoides e aplicações em formulações farmacêuticas utilizando eletroforese capilar**. 2018. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo.

FINAMOR, L.P; et al. FINAMOR JR, Francisco; MUCCIOLI, Cristina. Corticosteroid therapy and uveitis. **Arquivos Brasileiros de Oftalmologia**, v. 65, n. 4, p. 483-486, 2002.

HEMING, Nicholas et al. Efeitos imunológicos dos corticosteróides na sepse. **Frontiers in Immunology** , v. 9, p. 1736, 2018.

KABAT-KOPERSKA, J. et al. Changes in the immune system of female wistar rats after exposure to immunosuppressive treatment during pregnancy. **Scandinavian journal of immunology**, v. 83, n. 6, p. 418-426, 2016.

KATER, C.E; et al. Harvey Cushing and Philip Hench: Pituitary Basophilism Meets Cortisone Excess. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia**. São Paulo, SP, nov.2007, vol.51, n.8

KORENA, G; ORNOYB, A. The role of the placenta in drug transport and fetal drug exposure. **Expert Review Of Clinical Pharmacology**. Israel, jan.2018, vol.11, n.4.

KNOPP, R. H. et al. Metabolic adjustments in normal and diabete pregnancy. *Clinical Obstetrics and Gynecology*, V. 24, p. 21, 1981.

LEANDRO C.G; et al. Effect of L-Glutamine on the number of blood leukocytes and on the phagocytic function of macrophages of stressed rats. **Revista de Nutrição**. 2006; 19(4): 437-444.

LONGUI, C.A. Glucocorticoid therapy: minimizing side effects. **Jornal de Pediatria**. Rio de Janeiro, RJ, nov.2007, vol.83, n.5

LUNARDI-MAIA, T. et al., Uso de medicamentos no primeiro trimestre de gravidez: avaliação da segurança dos medicamentos e uso de ácido fólico e sulfato ferroso. **Revista Brasileira de Ginecologia e Obstetrícia**. vol.36 no.12 Rio de Janeiro dez. 2014

MAGALHÃES, M. S., et al. Glicocorticoides e o desenvolvimento da osteoporose em pacientes com síndrome de cushing: uma revisão. **Interfaces Científicas-Saúde e Ambiente**, v. 1, n. 1, p. 41-52, 2012.

MONTES, B.C.C. et al., Estudo Farmacológico: Automedicação em gestantes atendidas pela saúde pública de Itumbiara – Goiás. **Revista Biotecnologia & Ciência**. v.5,n.2,p.22-29, 2017.

MOURA, R. A. A; et al. Técnicas de Laboratório. 3ª ed. São Paulo: Editora Atheneu, 2002.

NOGUEIRA, D. M; et al. Métodos de Bioquímica Clínica. São Paulo: Editora Pascal, 1990.

PEREIRA, A.C. et al., Imunidade na gestação normal e na paciente com lúpus eritematoso sistêmico (LES). **Revista Brasileira de Reumatologia**. Vol. 45, n.3, São Paulo/SP, mai/jun, 2005.

PEREIRA, A.L.C et al; Uso sistêmico de corticosteroides: Revisão da literatura. **Med Cutan Iber Lat Am**. Niterói, RJ, 2007.

RAMOS, W.L.P. et al; Análise do uso de medicamentos durante a gestação em mães de pacientes portadores de malformações fetais. **Revista Saúde e Pesquisa**, v. 1, n. 1, p. 59-64, jan./abr. 2008.

REZENDE, R; et al. Efeitos do exercício físico na resistência à insulina em indivíduos obesos. **Cinergis**, v. 17, n. 3, 2016.

RIBEIRO, A.S.; et al., Risco potencial do uso de medicamentos durante a gravidez e a lactação. **Infarma**. V . 25, n. 1, p 62-67, 2013.

ROCHA, R.S. et al; Consumo de medicamentos, álcool e fumo na gestação e avaliação dos riscos teratogênicos. **Revista Gaúcha de Enfermagem**. Porto Alegre, RS, vol.34, n.2, jun./2013

ROMANHOLI, J.P.C.D; SALGADO, L. R. Síndrome de Cushing Exógena e Retirada de Glicocorticóides. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia**. São Paulo, SP, vol. 51, nov. 2007.

SILVA, G.A; et al. Teste oral de tolerância à glicose: solicitações desnecessárias e condições adequadas a realização do teste. **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial**, v. 56, 2020.

Sociedade Brasileira de Diabetes. Diretrizes da Sociedade Brasileira de Diabetes 2017-2018. In: Egídio OJ, Oliveira P, SV Junior RMM, editors. São Paulo: Clannad; 2017

SCHÜLER-FACCINI, L. et al. Avaliação de teratógenos potenciais na população brasileira. **Ciência & Saúde Coletiva**, v. 7, n. 1, p. 65-71, 2002.

SALAUZE, D.; SERRE, V.; PERRIN, C. Quantification of total IgM and IgG levels in rat sera by a sandwich ELISA technique. *Comparative Haematology International*. V. 4, n. 1, p. 30-33, 1994.

SOUZA, A. I. et al. Alterações hematológicas e gravidez. **Revista brasileira de hematologia e hemoterapia**, v. 24, n. 1, p. 29-36, 2002

SOLANO, M. E. Decidual immune cells: Guardians of human pregnancies. **Best Practice & Research Clinical Obstetrics & Gynaecology**, v. 60, p. 3-16, 2019.

TAI, M. M. A mathematical model for the determination of total area under glucose tolerance and other metabolic curves. **Diabetes Care**. V. 17, n. 2, p. 152-154, 1994.

THO, J. S. et al. Avaliação dos efeitos da terapia com prednisona em cães com dermatopatia. **Ars Veterinaria**, v. 35, n. 3, p. 122-126, 2019.

TUCCI, M. et al. Abiraterone and prednisone therapy may cause severe hypoglycemia when administered to prostate cancer patients with type 2 diabetes receiving glucose-lowering agents. **Endocrine**. V. 64, n. 3, p.724-726, 2019.

VIEIRA, S. Estatística experimental. São Paulo: **Atlas**, p. 119-132, 1997.

VILAÇA JUNIOR, P. E. A. et al. Effect of prenatal administration of dexamethasone in rats on profiles hematologic and glicidic maternal and offspring. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 64, n. 3, p. 606-614, 2012.

XU J, WINKLER J, DERENDORF H. A Pharmacokinetic/Pharmacodynamic Approach to Predict Total Prednisolone Concentrations in Human Plasma. **Journal of Pharmacokinetics and Pharmacodynamics**. 2007, 34(3): 355–372.

YOUNG, D. S. Effects of drugs on clinical laboratory tests. **4^a ed., AACC Press, London**. 2000.

ZHOU, Y. et al. High-dose glucocorticoid treatment does not induce severe hyperglycemia in young patients with autoimmune diseases by CGMS. *Endocrine Practice*. V. 24, n. 1, p. 60-68, 2018.

8. ANEXOS

ANEXO 1 - Aprovação do Comitê de Ética no Uso de Animais do Araguaia (CEUA-Araguaia), processo no. 23108.021399/2019-88



UNIVERSIDADE FEDERAL DE MATO GROSSO COMITÊ DE ÉTICA NO USO
DE ANIMAIS DO ARAGUAIA (CEUA-Araguaia)

CERTIFICADO

Certificamos que o Protocolo Nº 23108.021399/2019-88, do projeto intitulado "REPERCUSSÕES IMUNOBIOQUÍMICAS, REPRODUTIVAS E FETAIS DO TRATAMENTO COM PREDNISONA NA PREENHIZ DE RATAS DA LINHAGEM WISTAR", sob a responsabilidade de Danielli Gomes Alves, Daniel Ramos Carvalho, Isabella Rodrigues de Lara Souza, Julia de Carvalho Guimarães, Marina Gaspar Botelho Funari, Gustavo Tadeu Volpato e Kleber Eduardo de Campos, está de acordo com os Princípios Éticos na Experimentação Animal adotados pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA), tendo sido aprovado pelo Comitê de Ética no Uso de Animais do Araguaia (Universidade Federal de Mato Grosso – UFMT / Campus do Araguaia), em reunião ordinária de 10/05/2019.

CERTIFICATE

We certify that the Protocol Nº 23108.021399/2019-88, related to the Project entitled "IMMUNOBIOCHEMICAL, REPRODUCTIVE AND FETAL REPERCUSSIONS IN PREGNANT WISTAR RATS TREATED WITH PREDNISON", is in agreement with the Ethical Principles for Animal Research established by the National Council for Control of Animal Experimentation (CONCEA). This Project was approved by the Committee on Ethics in the Use of Animals of Araguaia (Federal University of Mato Grosso – UFMT / Campus of Araguaia) in reunion at 05/10/2019.

Barra do Garças, 13 de maio de 2019.

Prof. Dr. Carlos Alexandre Habitante
Vice-Presidente do CEUA-Araguaia
Portaria CONSEPE no.010/PROPEq/2018

