



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

INDRA APARECIDA SANTI SOARES

**A INFLUÊNCIA DO ESTRESSE AMBIENTAL NO PERFIL LIPÍDICO E
GLICÊMICO DE RATOS *WISTAR* TRATADOS COM PREDNISONA**

BARRA DO GARÇAS – MT

2022



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

INDRA APARECIDA SANTI SOARES

**A INFLUÊNCIA DO ESTRESSE AMBIENTAL NO PERFIL LIPÍDICO E
GLICÊMICO DE RATOS *WISTAR* TRATADOS COM PREDNISONA**

Monografia apresentada ao Curso de Biomedicina do Instituto de Ciências Biológicas e da Saúde do Campus Universitário do Araguaia/UFMT, como requisito parcial para a obtenção do título de Bacharel em Biomedicina.

ORIENTADOR: Prof. Dr. Kleber Eduardo de Campos
CO-ORIENTADORA: Larissa Daiane Lima Bisinoto

Barra do Garças – MT

2022



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL DE MATO GROSSO
PRÓ-REITORIA DE ENSINO DE GRADUAÇÃO
CURSO DE BIOMEDICINA / ICBS / CUA
ATA DE DEFESA PÚBLICA

Aos 06 dias do mês de Julho do ano de 2022, às 10:00 horas, modo (videoconferência <https://meet.google.com/uto-bxrh-sej>), do Campus Universitário do Araguaia - UFMT na cidade de Barra do Garças, foi realizada a sessão pública de apresentação e defesa do Trabalho de Curso da acadêmica **Indra Aparecida Santi Soares**. A banca foi composta pelos seguintes membros: Pós-Graduanda Programa PPGIP/CUA (co-orientadora) Larissa Daiane Lima Bisinoto, Profa. Dra. Maria Fernanda Spegiorin Salla Brune e Prof. Dr. Paulo Roberto Da Fonseca Filho, sob a presidência da primeira. O trabalho de curso tem como título "*A influência do estresse ambiental no perfil lipídico e glicêmico de ratos Wistar tratados com prednisona*". Após explanação no prazo regulamentar a aluna foi interrogada pelos componentes da banca. Terminada essa etapa, os membros, de forma confidencial avaliaram a aluna e conferiram a mesma o resultado **aprovada** com nota **9,5 (nove vírgula cinco)**, proclamado pelo presidente da sessão. Dados por encerrados os trabalhos, lavrou-se a presente Ata, que será assinada pela banca e pelo(a) aluno(a). Havendo requisitos a serem observados, os mesmo seguem registrados em folha anexa.

Barra do Garças, 06 de Julho de 2022.

COMPOSIÇÃO DA BANCA EXAMINADORA

1. **PG (PPGIP) LARISSA DAIANE LIMA BISINOTO (CO-ORIENTADORA)**
2. **PROFA. DRA. MARIA FERNANDA SPEGIORIN SALLA BRUNE (MEMBRO TITULAR)**
3. **PROF. DR. PAULO ROBERTO DA FONSECA FILHO (MEMBRO TITULAR)**

Ciência do (a) Discente é realizada eletronicamente através do SEI.



Documento assinado eletronicamente por **KLEBER EDUARDO DE CAMPOS, Docente da Universidade Federal de Mato Grosso**, em 06/07/2022, às 11:38, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no § 3º do art. 4º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **INDRA APARECIDA SANTI SOARES, Usuário Externo**, em 06/07/2022, às 11:42, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no § 3º do art. 4º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **LARISSA DAIANE LIMA BISINOTO, Usuário Externo**, em 06/07/2022, às 11:43, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no § 3º do art. 4º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **PAULO ROBERTO DA FONSECA FILHO, Docente da Universidade Federal de Mato Grosso**, em 06/07/2022, às 11:43, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no § 3º do art. 4º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **MARIA FERNANDA SPEGIORIN SALLA BRUNE, Docente da Universidade Federal de Mato Grosso**, em 06/07/2022, às 11:43, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no § 3º do art. 4º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site

[http://sei.ufmt.br/sei/controlador_externo.php?](http://sei.ufmt.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0)

[acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0](http://sei.ufmt.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0), informando o código verificador **4875626** e o código CRC **75869FBF**.

Referência: Processo nº 23108.027676/2022-61

SEI nº 4875626

Dados Internacionais de Catalogação na Fonte.

S676i Soares, Indra Aparecida Santi.

A influência do estresse ambiental no perfil lipídico e glicêmico de ratos Wistar tratados com prednisona / Indra Aparecida Santi Soares. -- 2022
38 f. : il. color. ; 30 cm.

Orientador: KLEBER EDUARDO DE CAMPOS.

Co-orientadora: LARISSA DAIANE LIMA BISINOTO.

TCC (graduação em Biomedicina) - Universidade Federal de Mato Grosso, Instituto de Ciências Biológicas e da Saúde, Barra do Garças, 2022.
Inclui bibliografia.

1. Estresse. 2. Glicocorticoides. 3. Metabolismo. 4. Ratos. 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 esse trabalho ao meu pai, meu maior incentivador e
À minha mãe (*in memóriam*), minha estrela guia.

AGRADECIMENTOS

O preço de estudar fora é caro, a gente se questiona, se culpa, se angustia. Mas o destino, a vida e o peito pedem que a gente embarque. Alguns não vão. Entretanto, nós que fomos, viemos e iremos, não estamos livres do medo e de tantas fraquezas. Mas estamos para sempre livres do medo de nunca termos tentado. *Keep walking*.

Agradeço primeiramente a Deus, por ter me dado força para ultrapassar todos os obstáculos encontrados durante o curso, por sempre me proteger e abençoar infinitamente.

Ao meu pai, por todas as ligações e chamadas de vídeo diárias, mostrando que eu não estava sozinha e que sempre podia contar com ele, por nunca ter medido esforços para me proporcionar ensinamentos e conhecimentos, por todos os conselhos, por acreditar e investir em mim, por ser o melhor pai do mundo, minha inspiração, meu porto seguro, base e alicerce.

À minha mãe Clarice (em memória), que mesmo não estando mais presente fisicamente, sempre me emana forças para seguir em frente. A ela que certamente estaria orgulhosa por me ver chegar até aqui, pois sabe que tudo que sou hoje é graças a criação dela e do meu pai. Estou realizando tudo aquilo que nós três traçamos e sonhamos juntos. Faltam palavras para expressar todo o amor e gratidão que sinto quando se trata deles.

Agradeço ao meu namorado Matheus, meu companheiro de todas as horas, amadurecemos muito ao longo desses anos. Obrigada por sempre me incentivar e apoiar, por todo carinho, amor e cuidado, por trazer paz em meio a correria de cada semestre, sua presença tornou a saudade de casa mais suportável, que sejamos sempre luz na vida um do outro.

À todos os meus familiares, por sempre vibrarem comigo todas as minhas conquistas e por sempre acreditarem na minha capacidade de realizar meus objetivos, por compreenderem minha ausência nos momentos que precisei me dedicar à minha graduação. Meus avós, tios e tias, primos e primas, e meus padrinhos.

Ao meu afilhado João Felipe, e sobrinhos Airton e Davi por sempre alegrarem meus dias. Aos meus sogros Rosane e Adriano Brietzke, meus cunhados Karin e Felipe Brietzke, por terem me acolhido com muito carinho desde que me conheceram, terem vibrado meu ingresso na universidade e todas as etapas concluídas, por serem meu apoio quando necessário.

Gratidão a todos os meus docentes que contribuíram de forma significativa na minha formação acadêmica. Em especial, à Prof. Dra. Luana dos Anjos, com quem participei de diversos projetos de extensão ao longo do curso, Oficina de Peças Anatômicas, MUHNA, Estudos Anatômicos Didáticos. À Prof. Dra. Ana Paula Morbio, pela oportunidade de participar da Liga Acadêmica de Estudos Científico em Saúde (LAECS) e por todas as conversas.

Ao Prof. Dr. Kleber Eduardo de Campos, principalmente por ter aceitado ser meu orientador e ter desempenhado tal função com tanta dedicação, por todos os ensinamentos, pela oportunidade de fazer parte de seu grupo de pesquisa que tanto me agregou e me fez descobrir gosto pela pesquisa científica. À minha coorientadora, Larissa Bisinoto que entrou na minha vida no início da graduação e se tornou uma grande amiga, foi um privilégio poder aprender tanto com você. Obrigada por sempre me acalmar nos momentos que pensei que não conseguiria, por todo o suporte e correções.

Ao pessoal do FISIOTOX, por sempre auxiliarem quando necessário, por terem enriquecido a minha formação e me recebido tão bem. Em especial à Lívia Soares e André Vilela, pela parceria durante todo o experimento.

Fui agraciada de encontrar dentro da UFMT amigos maravilhosos com quem eu sempre podia contar, seja para ajudar em uma atividade, estudar juntos para as provas, viajar para congressos, desabafar, dar boas risadas, tirar um cochilo na salinha da biblioteca ou trocar experiências. Obrigada Gabriella Rocha, Amanda Arbués, Kalline Passos, Paula Domenis, Camila Bertaci, Sharon Layaly, Anna Carolina, Vanessa Costa e Amanda Munnick.

Aos seguidores da minha página no *instagram* Biomedgram®, que acompanharam minha rotina durante essa caminhada, que me incentivaram a cada dia e a cada post, trocando experiências, desabafos e aprendendo juntos. É incrível ter a oportunidade de me conectar com tantas pessoas.

Agradeço ao laboratório Bioanálise, em especial Dra. Meuren Feitosa e Dr. Jeferson Sousa, pela oportunidade de fazer o estágio supervisionado. Foi com essa experiência que me tornei uma profissional melhor e conheci minha área de formação. Obrigada Biomédica Aleiteia “Alê”, minha mentora, por me ensinar a prática dos conhecimentos que adquiri na faculdade.

Aos Professores Dr. Paulo Roberto da Fonseca Filho, Dra. Maria Fernanda Spegiorin Salla Brune e Dra. Eliane Aparecida Suchara, por aceitarem o convite de fazerem parte da banca avaliadora deste trabalho, é um prazer contar com a presença de vocês em um momento tão especial para mim.

Minha gratidão e respeito aos animais que foram de extrema importância para a realização desse estudo, por contribuírem com os avanços nos conhecimentos na área de saúde.

A todos que de forma direta ou indireta fizeram parte da minha formação acadêmica e tornaram possível a realização desse trabalho de conclusão de curso, meus mais sinceros agradecimentos.

EPÍGRAFE

“O conhecimento é como asas para a vida do homem, é como uma escada pela qual ele possa ascender. Incumbe a cada um adquiri-lo. O conhecimento deve ser adquirido, porém, de tais ciências que possam prestar benefícios aos povos da Terra, e não daquelas que por meras palavras começam e assim terminam”

- Baha'u'lláh

RESUMO

O ambiente em que o indivíduo se encontra está diretamente relacionado a qualidade de vida. Um ambiente não adequado pode levar ao estresse, nessa situação há a liberação do cortisol provocando diversos efeitos no organismo. A prednisona é um glicocorticoide sintético, muito utilizado na prática clínica por possui ação anti-inflamatória e imusossupressora, mas dependendo do tempo do tratamento e dose utilizados, pode causar alterações no metabolismo lipídico e hiperglicemia. Desta forma, o objetivo desse estudo foi avaliar a influência do ambiente estressor (gaiola metabólica) no perfil lipídico e glicêmico de ratos *Wistar* tratados com prednisona. Para isso, foram utilizados ratos *Wistar* machos divididos em grupos: Caixa com Prednisona (CP, n=7) e Gaiola com Prednisona (GP, n=7), tratados diariamente com prednisona dissolvida no veículo *SyrSpend®*, na dose de 5mg/Kg/dia por 28 dias. Foi avaliado o Leucograma antes do início do tratamento (dia 0) e último dia (28). No 23º dia foi realizado o Teste Oral de Tolerância à Glicose (TOTG), bem como a Área sob a curva (ASC) e a Taxa de glicose por minuto (TGM). No 26º dia realizou-se o Teste De Tolerância à Insulina (TTI), assim como à área sob a curva do TTI e o Índice de Captação Glicêmica (ICG). Ao final do tratamento os ratos foram anestesiados e mortos para análise dos parâmetros bioquímicos séricos. Os dados foram analisados estatisticamente, com significância em $p < 0,05$. Comparados ao início do tratamento, no 28º dia os neutrófilos segmentados do grupo GP aumentaram e os eosinófilos do grupo CP reduziram. No TOTG, o valor glicêmico do grupo GP aos 30' foi maior do que o grupo CP. Assim como na ASC do TOTG e seu TGM, foi verificado que a glicemia dos ratos GP foi maior no intervalo 30-60'. Em relação aos lipídios séricos, não houve diferenças entre os grupos; entretanto, os valores de colesterol total e triglicerídeos de ambos os grupos se encontraram elevados aos valores de referência. Conclui-se que o tratamento com a prednisona associada ao estresse interferiu no metabolismo da glicose e dos lipídeos, assim como no perfil leucocitário.

Palavras-chave: Estresse; glicocorticoides; metabolismo; ratos.

ABSTRACT

The environment in which the individual is directly related to quality of life. An inappropriate environment can lead to stress, in this situation there is the release of cortisol causing several effects in the body. Prednisone is a synthetic glucocorticoid, widely used in clinical practice once it has anti-inflammatory and immunosuppressive action, but depending on the time of treatment and dose used, it can cause changes in lipid metabolism and hyperglycemia. Thus, the objective of this study was to evaluate the influence of the stressful environment (metabolic cage) on the lipid and glycemic profile of Wistar rats treated with prednisone. For this, male Wistar rats were divided into groups: Cage with Prednisone (CP, n=7) and Metabolic Cage with Prednisone (MCP, n=7), treated daily with prednisone dissolved in the *SyrSpend*® vehicle, at a dose of 5mg/Kg /day for 28 days. The leukogram was evaluated before the beginning of treatment (day 0) and last day (28). On the 23rd day, the Oral Glucose Tolerance Test (OGTT) was performed, as well as the Area Under the Curve (AUC) and the Glucose Rate per Minute (GRM). On the 26th day, the Insulin Tolerance Test (ITT) was performed, as well as the area under the TTI curve and the Glycemic Uptake Index (GUI). At the end of the treatment, the rats were anesthetized and killed for analysis of serum biochemical parameters. Data were analyzed statistically, with significance at $p < 0.05$. Comparing to the beginning of treatment, on the 28th day the segmented neutrophils of the GP group was increased and the eosinophils of the CP group decreased. In OGTT, the glycemic value of the GP group at 30' was higher than the CP group. As in the AUC of the OGTT and its TGM, it was verified that the glycemia of the GP rats was higher in the 30-60' time interval. Regarding serum lipids, there were no differences between groups; however, the total cholesterol and triglycerides values of both groups were found to be elevated to the reference values. It is concluded that the treatment with prednisone associated with stress interfered in the metabolism of glucose and lipids, as well as in the leukocyte profile.

Keywords: Stress; glucocorticoids; metabolism; mouse.

LISTA DE IMAGENS E FIGURAS

Figura 1- Estruturas químicas da prednisona e prednisolona e sua conversão.....	16
Figura 2 - Rato <i>Wistar</i>	18
Figura 3 - Caixa de polipropileno.....	19
Figura 4 – Gaiola metabólica.....	19
Figura 5 – Analisador Bioquímico semiautomático Bio Plus - 2000®.....	21
Figura 6 – Teste Oral de Tolerância à Glicose (TOTG) de ratos tratados com prednisona condicionados em caixa (CP) e em gaiola (GP).....	23
Figura 7 – Área sob a curva (ASC) do Teste Oral de Tolerância à Glicose (TOTG) de ratos tratados com prednisona condicionados em caixa (CP) e em gaiola (GP).....	24
Figura 8– Taxa de Glicose por minuto (TGM) de ratos tratados com prednisona condicionados em caixa (CP) e em gaiola (GP).....	24
Figura 9– Teste de Tolerância à Insulina (TTI) de ratos tratados com prednisona condicionados em caixa (CP) e em gaiola (GP).....	25
Figura 10 – Área Sob a Curva (ASC) do TTI de ratos tratados com prednisona condicionados em caixa (CP) e em gaiola (GP).....	26
Figura 11- Índice de captação glicêmica de ratos tratados com prednisona condicionados em caixa (CP) e em gaiola (GP).....	26

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Leucograma inicial (Dia 0) e final (Dia 28) dos ratos tratados com prednisona condicionados em caixa (CP) e em gaiola metabólica (GP).....	22
Tabela 2 – Parâmetros bioquímicos séricos de Colesterol total (CT), Triglicérides (TG), Lipoproteína de Alta Densidade (HDL-c) e Colesterol não-HDL (n-HDL-c) em ratos tratados com prednisona condicionados em caixa (CP) e em gaiola metabólica (GP).....	26

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	14
2. OBJETIVOS.....	17
2.1 Objetivo Geral.....	17
2.2 Objetivos Específicos.....	17
3. METODOLOGIA.....	18
3.1. Modelo Animal.....	18
3.2. Sequência experimental.....	19
3.2.1. Contagem total e diferencial de leucócitos.....	19
3.2.2. Teste Oral de Tolerância à Glicose (TOTG).....	20
3.2.3. Teste de Tolerância à Insulina (TTI).....	20
3.2.4. Coleta de sangue e Parâmetros Bioquímicos.....	20
3.2.5. Análise estatística.....	21
4. RESULTADOS.....	22
5. DISCUSSÃO.....	27
6. CONCLUSÃO.....	31
7. REFERÊNCIAS.....	32
8. ANEXO.....	37
8.1. Aprovação do Comitê de Ética.....	37

1. INTRODUÇÃO

A utilização de animais para fins científicos ocorre desde a antiguidade. A princípio era realizada de forma observacional, e Hipócrates em seus estudos comparava órgãos de animais e de humanos doentes. Já Aristóteles constatou semelhanças e diferenças de conformação e funcionamento entre órgãos humanos e de animais. Com o passar dos anos estes estudos começaram a ser realizados de forma experimental. Galeno foi um dos precursores, realizava vivisseções e testava variáveis através de alterações provocadas nos animais (SHIMADA *et al.*, 2017; GUIMARÃES *et al.*, 2006).

Os conhecimentos promovidos pela experimentação animal nos permitiram a descoberta da circulação sanguínea, da insulina, dos mecanismos do impulso nervoso, anestésicos e da compreensão do desenvolvimento embrionário, assim como diversas outras. Atualmente, o modelo animal é utilizado em vários campos da pesquisa biomédica, aprimorando os conhecimentos acerca dos mecanismos fisiopatológicos de doenças, novos fármacos e suas influências em marcadores biológicos bem como na avaliação de novas técnicas com aplicabilidade em humanos (DE PONTES REGIS, 2012). Dentre os animais utilizados, destacam-se primatas, cães, suínos, coelhos, ratos e camundongos. O rato como modelo animal é mais utilizado devido ao seu tamanho reduzido, ciclo reprodutivo curto, baixo custo e fácil manuseio, além de apresentar vantagens quando comparado a outros modelos experimentais e, determinadamente, por possuir semelhanças clínicas e laboratoriais com o metabolismo humano (FAGUNDES & TAHA, 2004; LERCO *et al.*, 2003; ANDRADE *et al.*, 2002). Assim, são aplicados em diversos estudos, como na reumatologia, endocrinologia e ortopedia (SHIMADA *et al.*, 2017).

O bem-estar é o estado de um indivíduo em relação às suas tentativas de se adaptar ao ambiente (BROOM & MOLENTO, 2004). Ambientes inadequados com pouco espaço e sem estímulos sensoriais podem afetar a saúde, comprometendo desta forma a qualidade de vida (MCMILLAN, 2005). As gaiolas metabólicas de estudos experimentais são geralmente utilizadas para coletar amostras de fezes e urina, mas devido a seu o piso ser de arame e irregular para se deslocar com as patas, pode proporcionar ao animal uma fonte de estresse, visto que impossibilita o comportamento natural dos animais devido a uma certa limitação de movimentos físicos (NEVES *et al.*, 2013).

Segundo o conceito clássico de Selye (1956), o estresse é o estado do organismo, em que ocorre uma série de reações não-específicas em resposta a ação de agentes de qualquer natureza. Já para Broom & Johnson (1993) é o conjunto de reações do organismo a agressões de

qualquer natureza (física, psíquica, infecciosa e outras) que são capazes de perturbar a homeostase do organismo. No século XXI, Boere (2002) o define como um mecanismo de defesa do organismo para os desafios cotidianos ou extraordinários envolvendo primariamente vias neuroendócrinas que sustentam o comportamento adaptativo. Portanto, as alterações causadas pelo estresse podem envolver diversos sistemas, como o sistema nervoso, imunológico e endócrino. Em resposta, há a liberação dos glicocorticoides (GCs), especificamente o cortisol no homem, e corticosterona nos roedores. Além disso, o estresse pode ser classificado em agudo e crônico, com sua liberação em situações traumáticas, mas passageiras ou quando é liberado constantemente, desencadeando diversos efeitos ao organismo. Os GCs são hormônios esteroides circulantes naturais produzidos a partir do colesterol, e são secretados pela zona fasciculada do córtex adrenal e regulados pelo eixo hipotálamo-hipófise-Adrenal (HHA) sob influência do hormônio Adrenocorticotrófico (ACTH) (FACCINI et al., 2020; COSTA, 2018).

Em 1948, Hench utilizou a cortisona em pacientes portadores de artrite reumatóide, marcando assim o início da corticoterapia, recebendo o prêmio Nobel de medicina, juntamente com Kendall e Reishstein, responsáveis pela maior parte das pesquisas básicas que levaram à síntese da cortisona (SILVA, 2010). Este hormônio possui efeitos anti-inflamatórios, atenua a febre por reduzir a liberação de interleucina-1 a partir dos leucócitos, suprime o sistema imune, diminui a proliferação de linfócitos, inibe a produção de anticorpos e reduz a produção de citocinas em níveis elevados no organismo. Além disso, possui capacidade hiperglicemiante podendo ocasionar resistência à insulina (BUENO & GOUVÊA, 2011)

Os GCs sintéticos (exógenos) são semelhantes aos endógenos. Apesar de alterações na estrutura química, permanecem as atividades anti-inflamatórias e imunossupressoras, e são classificados quanto ao seu tempo de meia vida, potência e duração da ação. Dentre eles destacam-se a cortisona, hidrocortisona, metilprednisolona, dexametasona, betametasona, prednisolona e a mais prescrita na rotina médica: prednisona (TAVARES *et al.*, 2021; BAVARESCO *et al.*, 2005).

A prednisona, por ser um pró-fármaco, necessita ser ativado pela enzima 11- β -hidroxiesteróide desidrogenase do tipo 1, essa biotransformação hepática gera a prednisolona, sua forma biologicamente ativa (Figura 1). Possui meia vida plasmática de 3 horas e meia vida biológica de 12 a 36 horas, sendo classificada como um medicamento de ação intermediário. (ANVISA, 2022; SCHAFRANSKI *et al.*, 2014).

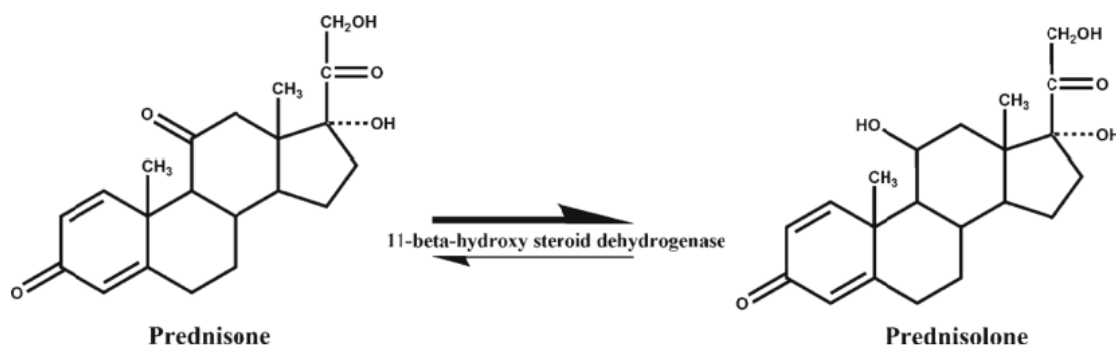


Figura 1- Estruturas da prednisona e prednisolona e a conversão entre as duas.
Fonte: Xu et al., 2007

Devido às suas propriedades anti-inflamatórias e imunossupressoras, a prednisona tem sido utilizada para o tratamento de diversas doenças como as dermatites, asma, artrite reumatoide, doenças autoimunes e em alguns casos de neoplasias. (ANVISA, 2022; DE BOSSHER *et al.*, 2010)

Os efeitos adversos gerados pelo uso da prednisona dependem da dose e tempo de tratamento, podendo ser destacadas as alterações no metabolismo de carboidratos, produção hepática de glicose e redução do uso da glicose periférica, fato este devido ao seu efeito antagonista à insulina, resultando num quadro de hiperglicemia, intolerância à glicose e aumento da resistência insulínica em tecidos periféricos. Além disso, podem também levar ao aumento do colesterol total e com o passar do tempo há a redistribuição do tecido adiposo, como consequência o ganho de peso (ANTONOW *et al.*, 2007, DAMIANI *et al.*, 2001).

Mesmo com todos os efeitos adversos conhecidos em seu uso, este medicamento foi um dos medicamentos mais prescritos e utilizados durante a pandemia mundial causado pelo coronavírus SARS-CoV-2 (COVID-19), período em que houve precarização do trabalho e da qualidade de vida, adaptação ao *home-office*, exposição à situações adversas que levaram a distúrbios relacionados às mudanças psíquicas negativas e ao estresse (COLPANI *et al.*, 2020; SILVA *et al.*, 2020). Diante do exposto, torna-se de interesse avaliar a influência do estresse ambiental no metabolismo associado ao uso da prednisona, visto que estudos que os relacionam são limitados na literatura, utilizando-se animais de laboratório como modelo experimental.

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

Avaliar a influência do ambiente estressor no perfil lipídico e glicêmico de ratos *Wistar* tratados com prednisona.

2.2 Objetivos Específicos

Avaliar a influência do ambiente no perfil lipídico e glicêmico de ratos *Wistar* tratados com prednisona com base nos seguintes parâmetros:

- ⇒ Contagem total e diferencial de leucócitos (mm^3).
- ⇒ Teste Oral de Tolerância à glicose (TOTG), seguida pela Área sob a Curva (ASC) do TOTG e Taxa de glicose por minuto (TGM)
- ⇒ Teste de Tolerância à insulina (TTI), seguida da Área sob a curva do TTI e Índice de captação glicêmica (ICG)
- ⇒ Parâmetros bioquímicos séricos de Colesterol total (CT), Triglicérides (TG), Lipoproteína de Alta Densidade (HDL-c), Colesterol não-HDL (n-HDL-c), todos em mg/dL.

3. METODOLOGIA

3.1 Modelo Animal

Este estudo foi realizado de acordo com a aprovação do Comitê de Ética no Uso de Animais do Araguaia (CEUA-Araguaia) sob protocolo N° 23108.087994/2020-10 da Universidade Federal de Mato Grosso (Anexo I) conforme os princípios éticos que regem a experimentação com animais (Resolução Normativa do CONCEA no 23 de julho de 2015.). Foram utilizados 14 ratos machos adultos da linhagem *Wistar*, oriundos do Laboratório de Fisiologia de Sistemas e Toxicologia Reprodutiva (FisioTox) da Universidade Federal de Mato Grosso, Campus Universitário do Araguaia (CUA). Os animais foram colocados coletivamente em caixas de polipropileno (Figura 3) ou individualmente em gaiolas metabólicas (Figura 4), conforme o grupo experimental, e condicionados a 12/12 horas em ciclo claro/escuro, com temperatura de $22 \pm 3^{\circ}\text{C}$ e umidade controlada entre $60 \pm 5\%$, com água e ração *ad libitum* ao longo do experimento.



Figura 2 - Rato Wistar
(Fonte: <http://visualsonline.cancer.gov>)

3.2 Sequência experimental

Os ratos foram divididos em dois grupos experimentais:

- Grupo Caixa com Prednisona (CP) (n=7), Figura 3
- Grupo Gaiola Metabólica com Prednisona (GP) (n=7), Figura 4

Diariamente, os animais foram tratados através da gavagem, por via intragástrica, com prednisona dissolvida no veículo (*SyrSpend®*) na dose de 5mg/kg. O tratamento foi realizado por 28 dias, com medidas de peso corpóreo semanal para ajuste da dose administrada da droga.



Figura 3 - Caixa de polipropileno
(Fonte: <https://www.bonther.com.br>)



Figura 4 – Gaiola metabólica
(Fonte: <https://www.bonther.com.br>)

3.2.1 Contagem total e diferencial de leucócitos

Nos dias 0 e dia 28, realizou-se coleta de duas amostras sanguíneas periféricas oriundas da cauda de cada animal, sendo uma diluída na proporção 1:20 em líquido de *Turk*, e pipetada na câmara de Neubauer para contagem total dos leucócitos no microscópio, enquanto da outra amostra foi confeccionada uma lâmina de esfregaço sanguíneo, fixada e corada com o kit Panótico (Laborclin[®]). Depois de secas, com o auxílio do microscópio e uso do óleo de imersão, foi realizada a contagem diferencial dos leucócitos. Os valores foram convertidos para estimativa dos valores absolutos e relativos de leucócitos (OCHOA-AMAYA et al., 2016).

3.2.2 Teste Oral de Tolerância à Glicose (TOTG)

No 23º dia de tratamento, após 6 horas de jejum, foi realizado o Teste Oral de Tolerância à Glicose (TOTG), em que foi coletada uma gota de sangue periférico de cada rato (veia da cauda) para mensuração da glicemia através do glicosímetro *Accu-Check®* (tempo 0). Em seguida, foi administrada solução de glicose (200g/L) via oral, na dose de 2,0g/Kg de peso corpóreo. Decorridos 30, 60 e 120 min de teste, a glicemia foi novamente mensurada (FARIDA et al., 2020).

A resposta da glicose durante o TOTG, foi avaliada pela estimativa total da área sob a curva (ASC), utilizando o método trapezoidal (TAI et al., 1994), a fim de compreender a dinâmica do estímulo da secreção pancreática de insulina endógena (0-30 min), o comportamento do organismo na elevação glicêmica (30-60 minutos) e o perfil de retorno glicêmico (60-120 min). A Taxa De Glicose Por Minuto (TGM) foi expressa dividindo os dados da ASC pelo intervalo de tempo correspondente (GHELLER, 2015).

3.2.3 Teste de Tolerância à Insulina (TTI)

Após dois dias de repouso de testes nos ratos (26º dia de tratamento), os mesmos foram novamente deixados em jejum de 6 horas para o Teste de Tolerância à insulina (TTI). A Glicemia foi mensurada no jejum para determinar o tempo 0. Em sequência, foi administrada solução de insulina regular NPH por via subcutânea, na dose de 30 mU/100g de peso corpóreo, e assim determinada novamente as glicemias, nos tempos 15, 30 e 60 minutos decorridos do teste (NOGUEIRA et al., 1990). Com os dados obtidos, também foi estimada a Área Sob a Curva pelo método trapezoidal (TAI et al., 1994). Para estimar o Índice de Captação Glicêmica (ICG), foi gerada uma equação da reta a cada intervalo glicêmico mensurado do TTI, e convertida para diminuição da glicemia por minuto (glicemia/min).

3.2.4 Coleta de sangue e Parâmetros Bioquímicos

No último dia de tratamento, os ratos foram anestesiados com Acepran® 1% e decapitados para obtenção do sangue total. O sangue foi coletado em tubos de ensaio livres de anticoagulantes e condicionados em temperatura ambiente para obtenção do soro. Em seguida,

tais amostras foram centrifugadas a 3500 rpm por 10 minutos. O soro foi coletado e estocado em refrigeração a -80°C para futuras determinações dos parâmetros bioquímicos.

Os parâmetros bioquímicos foram analisados por *kits* de determinação bioquímica, através da espectrofotometria de luz, utilizando o analisador bioquímico semiautomático Bio Plus - 2000® (Figura 5). Foi utilizado o método enzimático (YOUNG et al., 2000) para determinar os níveis séricos de colesterol total (CT), triglicerídeos (TG), lipoproteínas de alta densidade (HDL) e os resultados expressos em mg/dL.



Figura 5 – Analisador Bioquímico semiautomático Bio Plus - 2000®
(Fonte: Laboratório FISIOTOX – UFMT/CUA)

Quanto ao colesterol não HDL (não HDL-c), os dados foram obtidos através da subtração do valor da lipoproteína HDL (HDL-c) do colesterol total (CT) para cada valor de amostra: $\text{não HDL-c} = \text{CT} - \text{HDL-c}$ (FALUDI et al., 2017).

3.2.5 Análise estatística

Os dados foram expressos com média $\pm$ desvio padrão. Para comparação dos valores médios entre todos os grupos foi empregado o teste *t de Student*. Para comparações de valores ao longo do tempo do TOTG e TTI, foi realizada análise de variância (ANOVA) seguidas do teste de comparações múltiplas de *Tukey*. O limite de significância estatístico considerado foi de 5% ($p < 0,05$).

4. RESULTADOS

Os dados coletados nesse estudo estão apresentados em tabelas e figuras, sendo importante destacar que não houve mortes espontâneas de animais durante o transcorrer do experimento. O Leucograma (Tabela 1) mostrou que no dia 0, o número de leucócitos totais do grupo GP foi menor comparado ao grupo CP no mesmo dia ($p < 0,05$). Além disso, em relação a contagem diferencial, os neutrófilos segmentados do grupo GP apresentaram-se aumentados no dia 28 em comparação ao o dia 0. Entretanto, comparando entre os grupos no dia 0, e os segmentados do grupo GP estavam reduzidos em relação ao CP. Já para os eosinófilos, houve diminuição do grupo CP no dia 28 comparado ao dia 0 ($p < 0,05$). Para linfócitos, monócitos e basófilos, não houve alterações significativas ($p > 0,05$).

Tabela 1 - Leucograma inicial (Dia 0) e final (Dia 28) dos ratos tratados com prednisona condicionados em caixa (CP) e em gaiola metabólica (GP).

	CP Dia 0	CP Dia 28	GP Dia 0	GP Dia 28
Leucócitos totais ($10^3/\text{mm}^3$)	11,4 $\pm$ 1,9	11,0 $\pm$ 0,5	9,2 $\pm$ 1,4 *	10,4 $\pm$ 2,5
Linfócitos ($10^3/\text{mm}^3$)	6,8 $\pm$ 1,5 (53-68%)	6,6 $\pm$ 0,4 (56-64%)	5,9 $\pm$ 1,0 (57-68%)	6,5 $\pm$ 1,7 (58-67%)
Segmentados ($10^3/\text{mm}^3$)	3,4 $\pm$ 0,6 (26-35%)	3,0 $\pm$ 0,8 (24-33%)	2,5 $\pm$ 0,5 * (23-32%)	3,3 $\pm$ 0,9 ° (26-40%)
Monócitos ($10^3/\text{mm}^3$)	0,8 $\pm$ 0,2 (6-10%)	0,9 $\pm$ 0,4 (5-16%)	0,6 $\pm$ 0,2 (5-8%)	0,6 $\pm$ 0,3 (2-9%)
Eosinófilos ($10^3/\text{mm}^3$)	0,1 $\pm$ 0,2 (0-3%)	0,1 $\pm$ 0,1 ° (0-2%)	0,1 $\pm$ 0,1 (0-3%)	0,0 $\pm$ 0,1 (0-1%)
Basófilos ($10^3/\text{mm}^3$)	0,2 $\pm$ 0,2 (0-7%)	0,0 $\pm$ 0,0 (0%)	0,1 $\pm$ 0,1 (1-4%)	0,0 $\pm$ 0,0 (0%)

Valores expressos como média $\pm$ desvio padrão. * Comparado ao grupo CP (mesmo dia); ° Comparado com o dia 0 (mesmo grupo) –teste *t de Student*. $p > 0,05$.

A Figura 6 mostra a glicemia do Teste Oral de Tolerância a Glicose (TOTG). Os dados foram comparados entre os grupos, no mesmo tempo da curva e entre os tempos no mesmo grupo. Houve um aumento no tempo 30' em comparação ao tempo 0, em ambos os grupos. Além disso, o grupo GP possui valores aumentados quando comparado ao CP no mesmo tempo

(30'). Em relação aos 60' ambos os grupos foram maiores quando comparados ao tempo 0min. Por fim, quando analisado os dados do tempo 120', houve uma diminuição em ambos os grupos quando comparados ao tempo 60 min e 30 min.

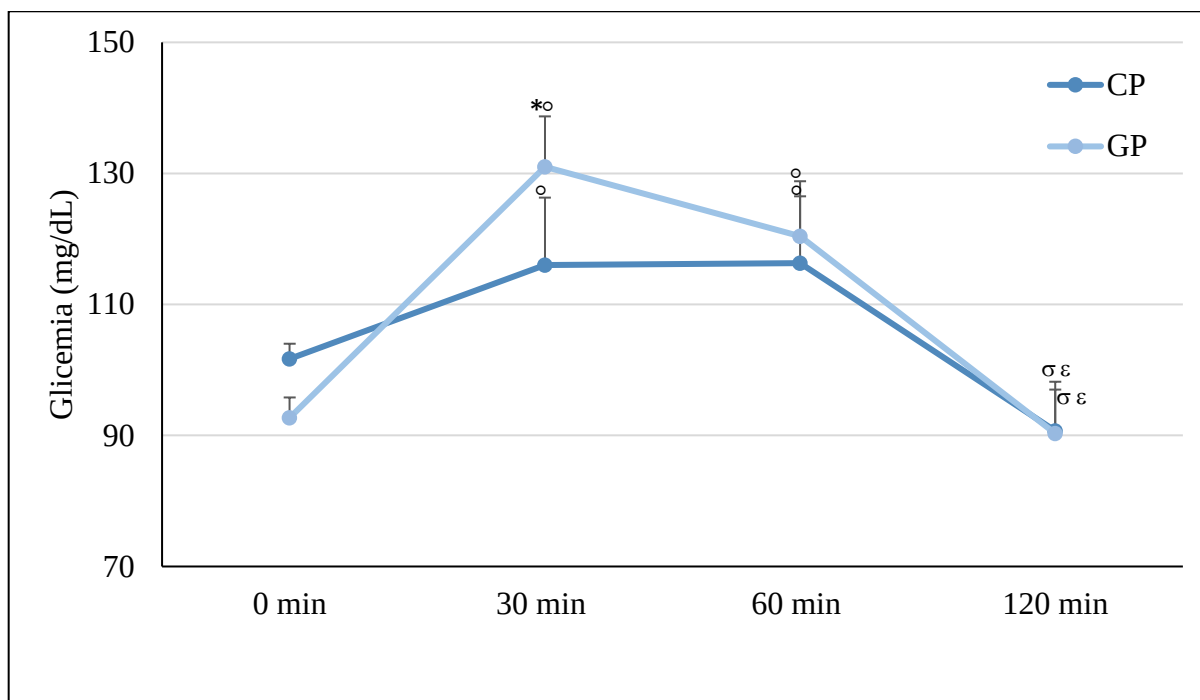


Figura 6 – Teste Oral de Tolerância a Glicose (TOTG) de ratos tratados com prednisona condicionados em caixa (CP) e em gaiola (GP). Valores expressos em média $\pm$ desvio padrão. * Comparado ao grupo CP (mesmo tempo); ° Comparado ao tempo 0 min (mesmo grupo); ε Comparado ao tempo 30 min (mesmo grupo); σ Comparado ao tempo 60 min (mesmo grupo) – ANOVA seguida do teste *tukey*. $p < 0,05$.

A Figura 7 mostra as glicemias da Área Sob a Curva (ASC) do TOTG. É verificado um aumento dos valores do grupo GP no intervalo de tempo de teste 30-60 min quando comparado ao grupo CP ($p < 0,05$). Para os demais tempos não foram encontradas diferenças entre os grupos. ($p > 0,05$).

A Taxa de Glicose por Minuto (TGM) mostra a carga glicêmica média presente por minuto no sangue dos ratos, em cada intervalo de tempo do TOTG, e seus valores são mostrados na Figura 8. Houve um aumento do grupo GP no tempo 30-60 min comparado ao jejum. Contudo, no tempo 60-120 min ambos os grupos tiveram a glicemia reduzida em relação ao tempo 30-60 min ($p < 0,05$).

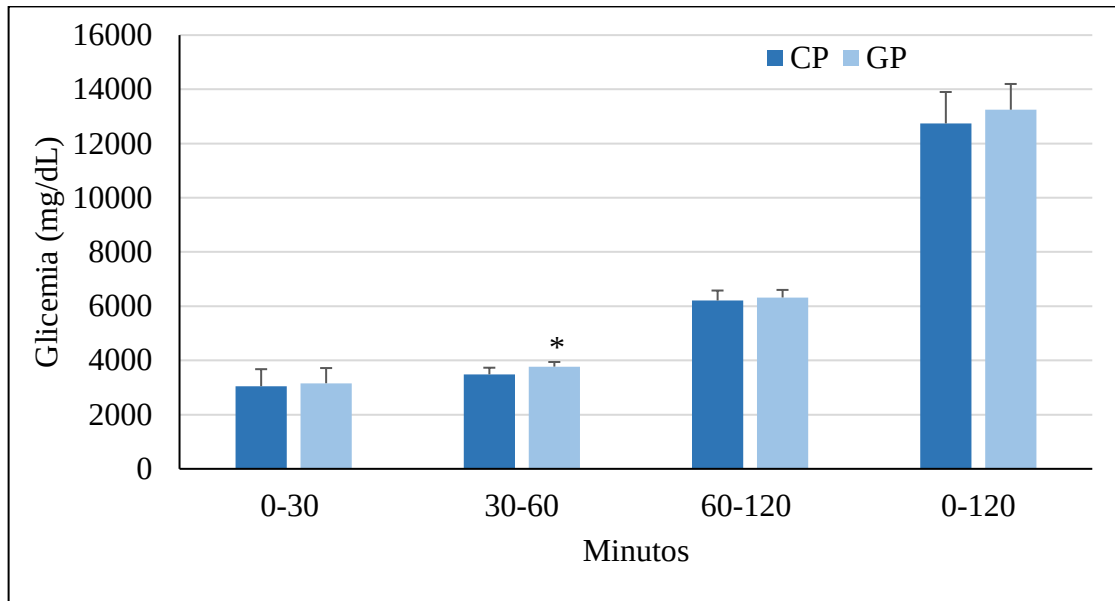


Figura 7 – Área sob a curva (ASC) do Teste Oral de Tolerância a Glicose (TOTG) de ratos tratados com prednisona condicionados em caixa (CP) e em gaiola (GP). Valores expressos em média $\pm$ desvio padrão. * Comparado ao grupo CP (mesmo dia);– Teste *t* de Student. $p < 0,05$.

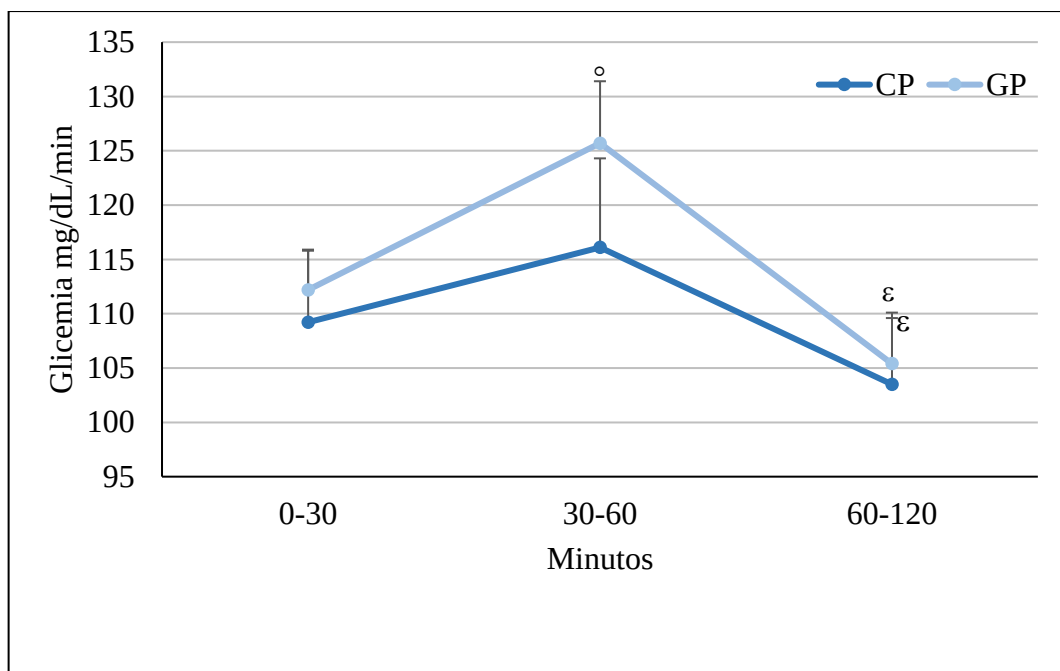


Figura 8 – Taxa de Glicose por minuto (TGM) de ratos tratados com prednisona condicionados em caixa (CP) e em gaiola (GP). Valores expressos em média $\pm$ desvio padrão. * Comparado ao grupo CP (mesmo dia); ° Comparado ao tempo 0-30 min (mesmo grupo); ε Comparado ao tempo 30-60min (mesmo grupo) – ANOVA seguida do teste de Tukey. $p < 0,05$.

A Figura 9 mostra as glicemias do Teste de Tolerância a Insulina (TTI), mostrando uma diminuição glicêmica em ambos os grupos experimentais no tempo 15' comparado ao jejum, no tempo 30' em relação ao tempo 15' e finalmente no tempo 60' comparado ao tempo 30' ($p < 0,05$).

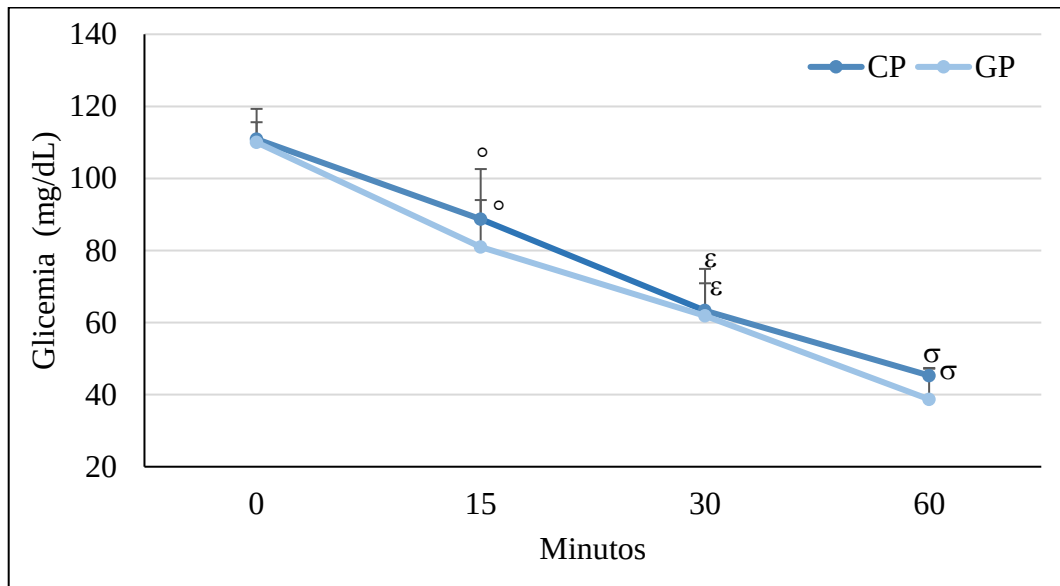


Figura 9 – Teste de Tolerância a Insulina (TTI) de ratos tratados com prednisona condicionados em caixa (CP) e em gaiola (GP). Valores expressos em média $\pm$ desvio padrão. * Comparado ao grupo CP (mesmo dia); ° Comparado ao tempo 0 min (mesmo grupo); ε Comparado ao tempo 15 min (mesmo grupo); σ Comparado ao tempo 30 min (mesmo grupo) – ANOVA seguida do teste de Tukey. $p < 0,05$.

Em sequência, a Figura 10 mostra as glicemias da Área Sob a Curva (ASC) do TTI, onde as glicemias em todos os intervalos de tempo não foram diferentes entre os grupos experimentais ($p > 0,05$). Além disso, os valores obtidos no Índice de Captação Glicêmica (ICG) da Figura 11 também não tiveram alterações entre os grupos CP e GP ($p > 0,05$).

A Tabela 2 mostra os valores bioquímicos séricos de Colesterol Total (CT), Triglicérides (TG), Lipoproteína de Alta Densidade (HDL-c), Colesterol não-HDL (não HDL-c) e Glicose, onde não foram encontrados diferenças entre os grupos de ratos ($p > 0,05$).

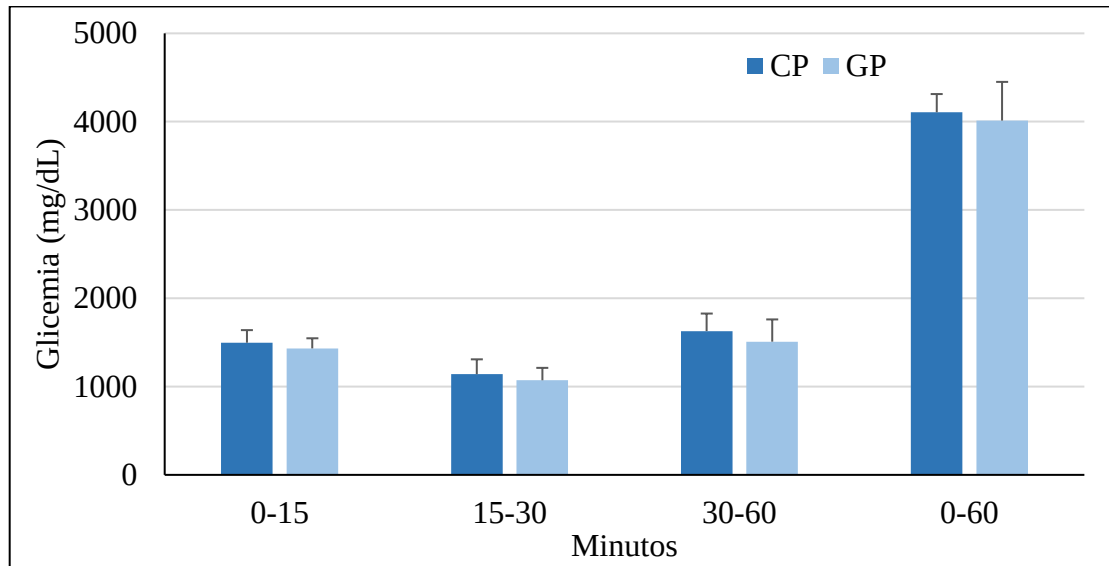


Figura 10 – Área Sob a Curva (ASC) do TTI de ratos tratados com prednisona condicionados em caixa (CP) e em gaiola (GP). Valores expressos em média $\pm$ desvio padrão.

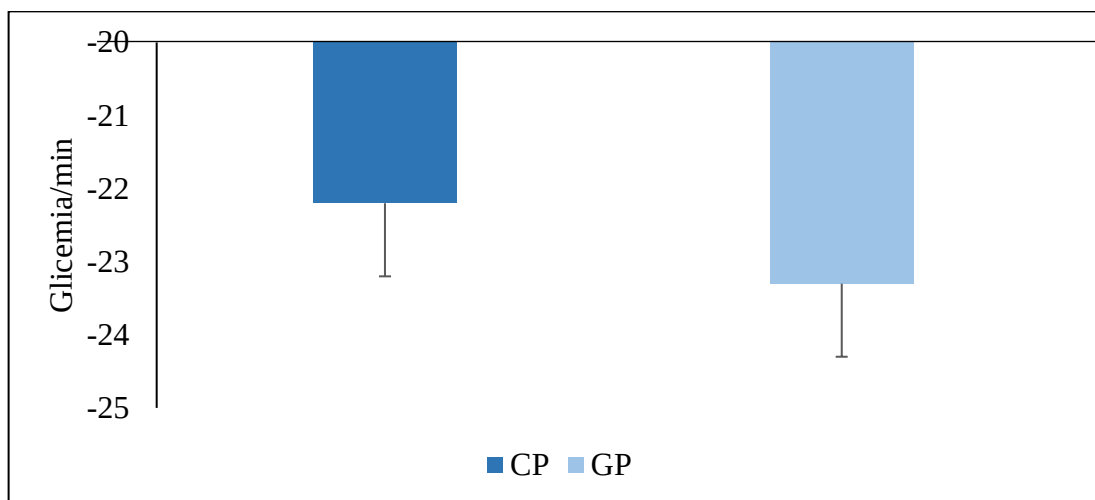


Figura 11 - Índice de captação glicêmica de ratos tratados com prednisona condicionados em caixa (CP) e em gaiola (GP). Valores expressos em média $\pm$ desvio padrão.

Tabela 2 – Parâmetros bioquímicos séricos de Colesterol total (CT), Triglicérides (TG), Lipoproteína de Alta Densidade (HDL-c) e Colesterol não-HDL (n-HDL-c) em ratos tratados com prednisona condicionados em caixa (CP) e em gaiola metabólica (GP).

	CP	GP
CT (mg/dL)	88,0 $\pm$ 23,0	84,0 $\pm$ 9,3
TG (mg/dL)	259,0 $\pm$ 77,6	228,3 $\pm$ 42,8
HDL-c (mg/dL)	27,1 $\pm$ 9,2	28,5 $\pm$ 5,5
Não HDL-c (mg/dL)	59,2 $\pm$ 8,6	51,6 $\pm$ 15,6

Valores expressos como média $\pm$ desvio padrão.

5. DISCUSSÃO

Assim como os humanos, os animais também respondem a situações de estresse, principalmente quando há a troca das caixas para limpeza na rotina de laboratório, transporte, ruídos, mudanças na temperatura, alojamento individual, odores, além da contenção física provocada pelo ambiente da gaiola metabólica (NEVES *et al.*, 2013; ANDRADE *et al.*, 2002).

O mecanismo clássico de resposta ao estresse é indispensável para a sobrevivência do organismo, já que se trata de uma resposta do mesmo na tentativa de se adaptar às situações de alarme. Nos casos de estresse agudo, o número de leucócitos pode aumentar para se proteger contra invasores em resposta à estímulos pontuais. Entretanto, quando é uma situação crônica, a liberação de GCs endógenos é aumentada, e estes se ligam aos leucócitos, alterando o estado imunológico (PAGLIARONE & SFORCIN, 2009; BAUER., 2002; OPPERMANN *et al.*, 2002). Apesar disso, os resultados desse estudo mostraram que, nos ratos GP, a contagem inicial de leucócitos totais era reduzida, todavia ainda não havia influência do tratamento ou do ambiente estressor, sugerindo divergências biológicas entre os animais. Após o tratamento não houve redução no número de leucócitos em nenhum dos grupos, o que não corrobora com estudos de Oliveira (2018).

Sabe-se que um dos efeitos dos glicocorticoides é a alteração das células imunológicas, principalmente a redução do número de linfócitos (PEREIRA *et al.*, 2007). Isto ocorre porque os GCs possuem a capacidade de modular a expressão de citocinas, as moléculas de adesão, além do tráfego, maturação e a diferenciação de células imunológicas bem como a migração das células (DONATTI *et al.*, 2011). Entretanto, não houve alterações para linfócitos e monócitos, o que não corrobora com os estudos de Kauh *et al.* (2012), que apresentou diminuição destas células após o tratamento. O número de basófilos também não foi alterado nos dois grupos experimentais, corroborando desta forma com os achados de Oliveira (2018) em tratamento com a mesma dose de prednisona.

No processo de resistência aos momentos estressantes e aos efeitos anti- inflamatórios, o cortisol tem a capacidade de inibir a resposta imunológica mediada pelos linfócitos T, além dentre outros fatores causarem o aumento de neutrófilos, diminuição de eosinófilos e a diminuição de linfócitos (RODRIGUES, 2016). Em relação ao neutrófilos, os GCs tendem a aumentar sua quantidade na circulação sanguínea, sendo isso observado no grupo GP que também foram expostos ao ambiente estressor, um achado também verificado por Pereira e colaboradores (2007). Os eosinófilos do grupo acondicionado na caixa (CP) diminuiram no

final do tratamento, e tal redução também foi encontrada no estudo realizado por Kauh *et al.* (2012).

As alterações glicêmicas foram avaliadas através de curvas glicêmicas TOTG, que reflete a eficiência do organismo na metabolização de glicose em busca de manter a homeostase sanguínea. Além disso, este teste é utilizado para avaliação de um possível quadro de intolerância à glicose. O uso da prednisona torna-se semelhante ao cortisol no metabolismo de carboidratos, sendo que, assim como o do estresse fisiológico, possuem capacidade hiperglicemiante com potencial desenvolvimento de resistência insulínica em tecidos periféricos. A Sociedade Brasileira de Diabetes, SBD (2021) determina que níveis de glicemia em jejum acima de 125 mg/dL é um critério para diagnóstico da DM, e que em níveis superiores a 199 mg/dL após as 2 horas do TOTG caracteriza o quadro de diabetes. (BRITO, 2018; BUENO & GOUVÊA, 2011; LONGUI, 2007;)

O aumento da glicemia detectado em ambos os grupos experimentais no tempo 30' de teste é a sensibilização da insulina após a administração da dose oral de solução de glicose; porém é verificado também que os valores dos ratos GP foram elevados do que os ratos CP, sugerindo influência do ambiente estressor (gaiola metabólica). Além disso, a permanência em ambiente estressor fez com que o valor glicêmico final se tornasse menor do que o inicial. A intensidade da hiperglicemia depende de diversos fatores, como a reserva pancreática individual, que sofre efeito do aumento da gliconeogênese hepática resultante de uma maior atividade enzimática, além de um maior acesso a substratos periféricos como tecido adiposo e muscular e da influência de outros hormônios no processo, como o glucagon e catecolaminas. Acrescentado ao fato de que cada organismo possui mecanismos próprios para tentar normalizar os níveis de glicose no sangue, como alteração no metabolismo de insulina, inibição da reabsorção de glicose pelos rins, bem como estimular a captação de glicose pelos tecidos (ROSELINO *et al.*, 2012; FAIÇAL & UEHARA, 1998).

As alterações das curvas glicêmicas do TOTG podem ser mais bem compreendidas quando estudadas em conjunto com suas áreas sob as curvas e o fato de que, no intervalo de tempo 30-60', a glicemia do grupo GP foi maior do que o do grupo CP. Isso sugere que tanto as mobilizações energéticas desempenhas pelo cortisol, liberado pela exposição às gaiolas metabólicas, quanto pelos efeitos adversos da prednisona, foram responsáveis juntos à esta resposta fisiológica (LONGUI, 2007).

Através dos valores obtidos da ASC, foram também obtidas as glicemias da TGM, permitindo uma análise complementar da quantidade de glicose que é controlada pela ação da insulina secretada pelas células β -pancreáticas, por minuto. A glicemia de ambos os grupos

aumentou no intervalo de tempo 0-30' o que era esperado após a ingestão da solução de glicose, porém apenas GP mostrou aumento glicêmico no intervalo 30-60', comparado ao tempo 0-30' e ao grupo CP no mesmo tempo, mostrando assim o efeito hiperglicemiante provocado pelo ambiente estressor, corroborando com Reis e colaboradores (1998).

O TTI permite avaliar a resistência à insulina, acompanhando a taxa de queda glicêmica após a administração de insulina, realizado pelo estímulo da captação de glicose pelos tecidos insulino-dependentes. Quanto mais rápida a queda, mais sensível à insulina é o indivíduo (GELONEZE & TAMPASCIA, 2006). Os resultados deste estudo mostram que houve diminuição glicêmica em ambos os grupos, sugerindo ainda um quadro fisiológico de sensibilidade à insulina.

A sensibilização dos tecidos periféricos também pode ser evidenciada na avaliação do ICG, onde mostra a capacidade de um tecido em captar a glicose sérica por minuto durante o TTI. Valores negativos indicam que a célula está sensível à insulina, valores nulos e positivos demonstram um quadro de resistência insulínica (MIRANDA, 2016). Apesar do tratamento com a prednisona e a exposição ao ambiente estressor, não houve alterações visto que ambos os grupos se apresentaram sensíveis à insulina, acompanhando desta forma o resultado anterior. Os GCs sintéticos e endógenos estimulam a secreção pancreática de insulina, causando hiperinsulinemia, de maneira dependente tanto do tempo de uso quanto da dose. Esta ação resulta da regulação positiva da função das células β , oriunda dos mecanismos adaptativos compensatórios, devido a uma considerável resistência periférica à insulina causada pelo GC. Entretanto, uma resposta insuficiente destas células podem levar a tolerância à glicose diminuída e a hiperglicemia, podendo até mesmo evoluir para um quadro clínico de *Diabetes mellitus* tipo 2 (RAFACHO *et al.*, 2014), o que não foi verificado neste estudo.

O uso prolongado do GC eleva os níveis de ácidos graxos livres na circulação, fazendo com que aumente sua taxa de captação hepática, acrescentando desta forma também a um quadro de resistência insulínica hepática e à lipogênese, pois promovem a secreção das partículas de lipoproteínas de muita baixa densidade (VLDL), resultando em hipertrigliceridemia (ARLT & STEWART, 2005; PECKETT *et al.*, 2011; RAFACHO *et al.*, 2014). Tal efeito hipertriglicemiante foi notado nesse estudo que, embora não foram mostradas diferenças entre os valores de triglicerídeos entre os grupos experimentais, ambos apresentaram os níveis de triglicerídeos acima dos valores de referência padronizados em ratos *Wistar* de diferentes laboratórios que variam de 46,87 a 89,9 mg/dL (LIMA *et al.*, 2018). Os valores de colesterol total dos grupos GP e CP se encontram acima dos valores de 62,20 a 66,63 mg/dL encontrados por Branco *et al.* (2011) e Barril *et al.* (2019), respectivamente, como valores de

referência. Os valores de HDL corroboram com os de referência que variam de 23,1 a 89,9 mg/dL para esse mesmo parâmetro em padronizações de ratos Wistar em diferentes laboratórios (LIMA *et al*, 2018; DANTAS *et al.*, 2006), sugerindo que o uso da prednisona promove tais diferenças lipídicas séricas.

Com isso, este estudo permitiu uma melhor compreensão da influência do ambiente estressor em que o indivíduo se encontra, para o perfil lipídico e glicêmico sob tratamento com a prednisona a longo prazo. Isso faz com estes parâmetros citados sejam sensíveis à fatores de estresse associados ao uso de glicocorticoides, e devem ser futuramente mais estudados para que não ocorram disruptores metabólicos graves, influenciando assim modificações de mecanismos fisiológicos e metabólicos, desenvolvendo por exemplo as Doenças Crônicas Não-Transmissíveis.

6. CONCLUSÃO

De acordo com os resultados apresentados neste estudo, pode-se concluir que o ambiente em que o indivíduo se encontra influencia na resposta frente ao uso da prednisona, sobretudo no metabolismo a glicose e dos lipídeos, visto que o estresse libera os glicocorticoides endógenos (cortisol) e aliado ao uso do glicocorticoide sintético (prednisona), e considerando que ambos possuem ação semelhante no organismo, esse efeito é potencializado. Contudo, a resposta é dependente de mecanismos individuais, que tem por objetivo a tentativa de normalizar os níveis da glicose e dos lipídeos frente ao estímulo estressor.

7. REFERÊNCIAS

- ANDRADE, A.; PINTO, S.C.; OLIVEIRA, R.S. **Animais de Laboratório: criação e experimentação**. Rio de Janeiro: FIOCRUZ, 2002.
- ANTONOW, D. R.; MONTEIRO, G. A.; ARAUJO, M. C. S. Glicocorticoides: uma meta-análise. **Disciplinarum Scientia**, v. 8, n. 1, p. 51- 68, 2007.
- ANVISA. Bula prednisona.Net, Campinas - SP., maio. 2022. Bulário Anvisa. Disponível em: <https://consultas.anvisa.gov.br/#/bulario>. Acesso em: 19/06/2021.
- ARLT, W. & STEWART, P. M. Adrenal corticosteroid biosynthesis, metabolism, and action. **Endocrinol Metab Clin North Am**. v.34, n.2, p.293-313, 2005.
- BARRIL, N.; STORINO, N.; SEVERINO, I. R. Valores de referência do perfil bioquímico de ratos (*Rattus norvegicus* linhagem Wistar) provenientes do biotério de um centro universitário do interior paulista. **Cuidarte Enfermagem**, v. 13, n 2, p. 143–146, 2019.
- BAUER M. E. Estresse: como ele abala as defesas do organismo. **Ciência hoje**. v.30, n. 179, p. 20-25, jan/fev, 2002.
- BAVARESCO, L.; BERNARDI, A.; BASTTASTINI, A. M. O. Glicocorticoides: usos clássicos e emprego no tratamento do câncer. **Infarma**, v. 17, n. 7/9, p. 58-60, 2005.
- BOERE, V. Behavior and environment enrichment. IN: Fowler ME, Cubas ZS. **Biology, medicine and surgery of South American wild animal**. Ames, IA: Iowa University Press, 2001. p. 263-266.
- BOERE, V. **Efeitos do estresse psicossocial crônico e do enriquecimento ambiental em saguis (*Callithrix penicillata*): um estudo comportamental, fisiológico e farmacológico**. 2002. 238f. Tese (Doutorado)- Instituto de Psicologia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2002.
- BRANCO, A. C. S. C.; DINIZ, M. F. F. M.; ALMEIDA, R. N. et al. Parâmetros Bioquímicos e Hematológicos de Ratos Wistar e Camundongos Swiss do Biotério Professor Thomas George. **Revista Brasileira de Ciências da Saúde**, v. 15, n. 2, p. 209 – 214, 2011.
- BROOM, D. M., MOLENTO, C. F. M. Bem-Estar Animal: conceitos e questões relacionadas – revisão. **Archives of Veterinary Science**. Curitiba, v. 9, n. 2, p. 1-11, 2004.
- BROOM, D. M.; JOHNSON, K. G.; **Stress and animal welfare**. London: Chapman & hall, 1993.
- BUENO, J. R.; GOUVÊA, C. M. C. P. Cortisol e exercício: efeitos, secreção e metabolismo. **Revista Brasileira de Prescrição e Fisiologia do Exercício (RBPFE)**, v. 5, n. 29, p. 7, 2011.
- COLPANI V. *et al*. Corticoides para infecção por SARSCoV-2 (Covid-19) Revisão sistemática rápida. 2020. Disponível em: <https://oxfordbrazilebm.com/index.php/2020/05/18/corticoides-para-infeccao-por-sars-cov-2-covid-19-revisao-sistematica-rapida/>. Acesso em: 10/06/2022.

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.

DA SILVA, A.K.L. A pandemia Covid-19 no mundo do trabalho: Efeitos psicossociais para a classe trabalhadora. **Estudos de Psicologia**, v.25, n.2, p. 177-187. 2020

DAMIANI, D.; KUPERMAN, H.; DCHTCHEKENIAN, V., et al. Corticoterapia e suas repercussões: a relação custo-benefício. **Revista Pediatria**, v. 23, p. 71-82, 2001.

DANTAS, J. A.; AMBIEL, C. R.; CUMAN, K. N. et al. Valores de referência de alguns parâmetros fisiológicos de ratos do Biotério Central da Universidade Estadual de Maringá, Estado do Paraná. **Acta Scientiarum Health Sciences**, Maringá, v. 28, n. 2, p. 165-170, 2006.

DE PONTES REGIS, A. H.; CORNELLI, G. Experimentação animal: panorama histórico e perspectivas. **Revista Bioética**, v. 20, n. 2, p. 232-243, 2012.

DONATTI, T. L; KOCH, V. H. K; L TAKAYAMA. L; PEREIRA, R. M. R. Effects of glucocorticoids on growth and bone mineralization. **Jornal de Pediatria**, v. 87, n.1, p. 4-12, 2011.

FACCINI, A. M; SILVEIRA, B.M; RANGEL R.T, SILVA V.L. Influência do estresse na imunidade: revisão bibliográfica. **Revista Científica da Faculdade de Medicina de Campos**. v.3, n.15,p.64-71, 2020

FAGUNDES, D.J & TAHA, M.O. Modelo animal de doença: Critérios de escolha e espécies de animais de uso corrente. **Acta Cirurgica Brasileira**. v.1, n.19, p. 59-65, 2004.

FAIÇAL, S. & UEHARA, M. Efeitos sistêmicos e síndrome de retirada em tomadores crônicos de corticosteróides. **Revista da Associação Médica Brasileira**, v. 44, n. 1, p. 69–74, 1998.

FALUDI, A. A. *et al.* Atualização da Diretriz Brasileira de Dislipidemias e Prevenção da Aterosclerose. **Arquivos brasileiros de cardiologia**, v. 109, n. 2, p. 1-76, 2017.

FARIDA E., NURAIDA L., GIRIWONO, P.E. *et al.* Lactobacillus rhamnosus Reduces blood glucose level through downregulation of gluconeogenesis gene expression. In Streptozotocin-Induced Diabetic Rats. **International Journal of Food Science**. v.2020, n.6, p.1-12, jan. 2020

FORNI, M. Laboratory animal science: a resource to improve the quality of science. **Veterinary Research Communication**, Dordrecht, v. 31, s. 1, p. 43-47, 2007

GELONEZE, B. & TAMBASCIA, M.A. Avaliação laboratorial e diagnóstico da resistência insulínica. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia**. v.50, p. 208-215, 2006.

GHELLER, A.C.G.V. **Avaliação bioquímica e genotóxica do tratamento de *Hibiscus sabdariffa* L. em ratos neonatos tratados com glutamato monossódico**. Programa de Pós-Graduação em Ciências Ambientais – Dissertação de mestrado. Universidade Federal do Mato Grosso, 2015, 70p.

GUIMARÃES, M.V.; FREIRE, J. E. D. C. ; MENEZES, L. M. B. D. Utilização de animais em pesquisas: breve revisão da legislação no Brasil. **Revista bioética**, v. 24, p. 217-224, 2016.

KAUH, E.; MIXSON, L.; MALICE, M. P. Prednisone affects inflammation, glucose tolerance, and bone turnover within hour of treatment in healthy individuals. **European Journal of Endocrinology**, v. 166, p. 459–467, 2012.

LERCO, M.M.; SPADELLA, C.T.; MACHADO, J. L.M.; SCHELLINI, A.S.; PADOVANI, C.R. Caracterização de um modelo experimental de *Diabetes Mellitus*, induzido pela aloxana em ratos: estudo clínico e laboratorial. **Acta Cirurgica Brasileira**, v.18, p. 132-142, 2003

LIMA, F. E. G.; SANTOS, M. S. N.; BACHUR, T. P. R. et al. Perfil bioquímico de ratos *Wistar* do Biotério Central da Universidade Federal do Ceará. **Ciência Animal**, v.28, n.3, p.1-11, 2018.

LONGUI, C. A. **Glucocorticoid therapy: minimizing side effects**. *Jornal de Pediatria*. v.83, p.163-171, 2007.

MCMILLAN, F. D. **Mental health and well-being in animals**. 2. ed. Boston: Blackwell Publishing, 2005.

MIRANDA, C. A. **Efeitos do tratamento com extrato aquoso de Hibiscus sabdariffa L. em ratos tratados com frutose**: Biomarcadores bioquímicos e imunológicos. Dissertação de Mestrado, Instituto de Ciências Biológicas e da Saúde, UFMT. Barra do Garças-MT. 65f, 2016.

NEVES, S.M.P; FILHO, J.M.; MENEZES, E.W. **Manual de Cuidados e Procedimentos com Animais de Laboratório do Biotério de Produção e Experimentação da FCF-IQ/USP**. 1a Edição. São Paulo: FCFIQ/USP, 2013.

NOGUEIRA, D. M; STRUFALDI, B.; HIRATA, M. H.; ABDALIS, D. S. P.; HIRATA, R. D. C.; **Métodos de Bioquímica Clínica**. São Paulo: Pascal Editora, 1990.

OCHOA-AMAYA, J. E. *et al*. Attenuated allergic inflammatory response in the lungs during lactation. **Life sciences**, v. 151, p. 281-287, 2016.

OLIVEIRA, B. M .**Interação entre número de leucócitos e imunoglobulinas com biomarcadores renais em ratos wistar tratados com prednisona**. 2018. 45 f. Dissertação – (Programa de Pós Graduação em Imunologia e Parasitologia básicas e aplicadas) Universidade Federal de Mato Grosso, Barra do Garças, 2018.

OPPERMANN, R. V.; ALCHIERE, J. C.; CASTRO, G. D; Efeitos do estresse sobre a imunidade e doença periodontal. **Revista da Faculdade de Odontologia de Porto Alegre**. v.43,n.2, p.52-59, 2002.

PAGLIARONE , A. C & SFORCIN, J. M. Stress: review about the effects on the immune system **Biosaúde**. v.1, n.11, p. 57-90, 2009.

PECKETT, A. J.; WRIGHT, D. C.; RIDDELL, M. C. The effects of glucocorticoids on adipose tissue lipid metabolism. **Metabolism**. v.60, n.11 p. 1500-1510, 2011

PEREIRA, A.L.C.; BOLZANI, F.C.B.; STEFANI, M.; CHARLÍN, R. Uso sistêmico de corticosteroides: revisão de literatura. **Medicina Cutânea Ibero-Latino Americana**, v.35, n. 1, p.35- 50, 2007.

RAFACHO, A.; ORTSATER,, H.; NADAL, A.; QUESADA, I. Glucocorticoid treatment and endocrine pancreas function: implications for glucose homeostasis, insulin resistance and diabetes. **Journal of Endocrinol**,v. 223, p.49-62, 2014.

REIS, F. M.;Oliveira-Junior, A. R.; Machado, L. J. C.; Guerra, R. M.;Reis, A. M.; Coimbra, C. C. Plasma prolactina and glucose alterations induced by surgical stress: a single or dual response?. **Experimental Physiology**. 83:1-10, 1998.

REZENDE, F.A.C.; MONTEIRO, J.B.R. Composição corporal: influência na ação da insulina, leptina, lipase lipoprotéica e lipase hormônio-sensível. **Nutrire: Sociedade Brasileira de Alimentação e Nutrição**, São Paulo, v. 30, p. 131-141, 2005.

RODRIGUES, P. **Sistema endócrino**. 2016. 46f. Trabalho acadêmico (Faculdade de Medicina) – Universidade Federal de Pelotas, 2016.

ROSELINO, M. N.; PAULY-SILVEIRA, N. D.; CAVALLINI, D. C. U. et al. A potential synbiotic product improves the lipid profile of diabetic rats. **Lipids in Health and Disease**, v. 11, n. 1, 2012.

RUSSELL, W. M. S.; BURCH, R. L. **The principles of humane experimental technique**. London: Methuen, 1959.

SALVIANO, C. M. T., et al. Hiperglicemia induzida por corticosteróide: uma revisão integrativa. **Visão Acadêmica**, Curitiba, v. 21 n.1, 2020.

SCHAFRANSKI, M. D., MERLINI, A. B., AUER, C., TRENTINI, F. F. J., & DE FREITAS JÚNIOR, J. R. Incidência de Efeitos Adversos relacionados à Prednisona em Ensaio Clínicos Randomizados e Controlados com seguimento superior a um ano. **Revista Brasileira de Medicina Interna**. v.1, n.1, p. 49-59. 2014.

SELYE, H. **The Stress of life**. New York: McGraw-Hill, 1956.

SHIMADA, M. K.; FISCHER, A. V.; MAZZAROTTO, G A. C. A. et al. **Curso Teórico sobre Manipulação na Experimentação Animal**. Curitiba, 2017. Disponível em: http://www.bio.ufpr.br/portal/wp-content/uploads/2018/10/Manual-treinamento-manipulação-animal_09_2018.pdf . Acesso: 05/05/2022.

SILVA, A. K. L. D.; COELHO-LIMA, F. e BARROS, S. C. A pandemia da Covid-19 no mundo do trabalho: efeitos psicossociais para a classe trabalhadora. **Estudos de Psicologia**. v. 25, n.2, p. 177-187, 2020.

STRAUB, R.H. & CUTOLO, M. Glucocorticoids and chronic inflammation. **Rheumatology**. v.6, n.4, p.55, 2016.

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, 1 fev. 1994.

TAVARES, F. R. S.; LUZ, E. R.; SILVA, C. E. G. et al. Deleterious effects of chronic use of corticosteroids: an approach to the development of Cushing's Syndrome. **Research, Society and Development**. v. 10, n. 4, p. 1-13, 2021.

XU, J.; WINKLER, J.; DERENDORF, H. A pharmacokinetic/pharmacodynamic approach to predict total prednisolone concentrations in human plasma. **Journal of Pharmacokinetics and Pharmacodynamics**. V. 34, n. 3, p. 355–372, 2007.

YOUNG, D. S. et al. Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests. **AACC Press**, 4 ed. 2000.

ANEXO

8.1 Aprovação do Comitê de Ética



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

CERTIFICADO

Certificamos que o Protocolo Nº **23108.087994/2020-10**, do Projeto intitulado **“Influência do enriquecimento ambiental em biomarcadores imunometabólicos de ratos tratados com prednisona e submetidos a um modelo de estresse.”**, sob a responsabilidade de **Larissa Daiane Lima Bisinoto, André Cantarelli Vilela, Paula Procópio Domenis, Camila Silva Bertacci, Luanna Gomes Ferreira Fasanello 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 **05/02/2021**.

CERTIFICATE

We certify that the Protocol Nº **23108.087994/2020-10**, related to the Project entitled **“Influence of environmental enrichment on immunometabolic biomarkers of rats treated with prednisone and subjected to a stress model.”**, 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 **02/05/2021**.

Barra do Garças, 12 de fevereiro de 2021.


Prof. Dr. **Victor Vitorino Lima**
Vice-Presidente do CEUA-Araguaia
Portaria CONSEPE no. **07/PROPEq/2020**