

V SEMINÁRIO DE CIÊNCIA EXPERIMENTAL DA INSTALAÇÃO DE CIÊNCIA ANIMAL (ICA) DO UNIFESO



V SEMINÁRIO DE CIÊNCIA
EXPERIMENTAL DA INSTALAÇÃO DE
CIÊNCIA ANIMAL DO UNIFESO

TERESÓPOLIS — RJ
2025

FUNDAÇÃO EDUCACIONAL SERRA DOS ÓRGÃOS – FESO

Antônio Luiz da Silva Laginestra
Presidente

Jorge Farah
Vice-Presidente

Luiz Fernando da Silva
Secretário

Carlos Alberto Oliveira Ramos da Rocha
José Luiz da Rosa Ponte
Paulo Cezar Wiertz Cordeiro
Wilson José Fernando Vianna Pedrosa
Vogais

Luis Eduardo Possidente Tostes
Direção Geral

Michele Mendes Hiath Silva
Direção de Planejamento

Solange Soares Diaz Horta
Direção Administrativa

Fillipe Ponciano Ferreira
Direção Jurídica

CENTRO UNIVERSITÁRIO SERRA DOS ÓRGÃOS – UNIFESO

Verônica Santos Albuquerque
Reitora

Roberta Montello Amaral
Direção de Pós-Graduação, Pesquisa e Extensão

Mariana Beatriz Arcuri
Direção Acadêmica de Ciências da Saúde

Vivian Telles Paim
Direção Acadêmica de Ciências e Humanas e Tecnológicas

Marcelo Siqueira Maia Vinagre Mocarzel
Direção de Educação a Distância

HOSPITAL DAS CLÍNICAS COSTANTINO OTTAVIANO – HCTCO

Rosane Rodrigues Costa
Direção Geral

CENTRO EDUCACIONAL SERRA DOS ÓRGÃOS – CESO

Roberta Franco de Moura Monteiro
Direção

CENTRO CULTURAL FESO PROARTE – CCFP

Edenise da Silva Antas
Direção

Copyright© 2025
Direitos adquiridos para esta edição pela Editora UNIFESO

EDITORA UNIFESO

Comitê Executivo

Roberta Montello Amaral (Presidente)
Jucimar André Secchin (Coordenador de Pesquisa)

Conselho Editorial e Deliberativo

Roberta Montello Amaral
Mariana Beatriz Arcuri
Verônica dos Santos Albuquerque
Vivian Telles Paim

Assistente Editorial

Matheus Moreira Nogueira

Formatação

Matheus Moreira Nogueira

Capa

Gerência de Comunicação

C389 Centro Universitário Serra dos Órgãos.
Anais [do] V Seminário de Ciência Experimental da Instalação de Ciência
Animal do Unifeso / Centro Universitário Serra dos Órgãos. -- Teresópolis:
UNIFESO, 2025.
104 p.: il. color.

ISBN 978-65-5320-042-5

1. Comunicação e Divulgação Científica. 2. Pesquisa Experimental. 3. Ciência
dos Animais de Laboratório. 4. Biotério. 5. Unifeso. 6. Anais. I. Título.

CDD 378.8153

EDITORA UNIFESO

Avenida Alberto Torres, nº 111

Alto - Teresópolis - RJ - CEP: 25.964-004

Telefone: (21) 2641-7184

E-mail: editora@unifeso.edu.br

Endereço Eletrônico: <http://www.unifeso.edu.br/editora/index.php>

COMISSÃO ORGANIZADORA

Marcel Vasconcellos
Carlos Alfredo Franco Cardoso
Valéria Cristina Lopes Marques

COMISSÃO CIENTÍFICA

Marcel Vasconcellos
Carlos Alfredo Franco Cardoso
Valéria Cristina Lopes Marques
Maria Eduarda Monteiro da Silva
Alberto Torres Angonese
Síria da Fonseca Jorge
Carina Teixeira Ribeiro
Sandro Pinheiro da Costa
Geórgia Rosa Lobato
Leandro Vairo
Leandro Teixeira de Oliveira
Hugo Macedo Ramos
Joelma de Rezende Fernandes

SUMÁRIO

PREFÁCIO	8
-----------------------	----------

O EFEITO DA SEMAGLUTIDA NA MODULAÇÃO DOS NEUROTRANSMISORES MEDIADOS PELOS AGONISTAS DOS RECEPTORES GLP-1	9
---	----------

Aimée de Almeida Carreiro, Giovanna Simões Macedo, Ana Carolina Rocha de Lima, Karla Maria Gonçalves Brito de Sousa, Gleiciane Pereira de Souza, Poliana Ferreira de Oliveira, Mariana de Jesus Barboza, Valéria Cristina Lopes Marques, Marcel Vasconcellos

AUTOTRANSPLANTE DE TECIDO PARATIREOIDIANO CRIOPRESERVADO NO TRATAMENTO DO HIPOPARATIREOIDISMO PÓS-OPERATÓRIO. ESTUDO EXPERIMENTAL.....	19
---	-----------

Barbara Alves de Melo Sá, Camila Tolentino de Sá, Antonella Cisari Constanza, Amanada Matias Bezerra, Gabrielle Goulart Balthazar, Luca Magalhães Beisl, Pedro Henrique Nascimento Ornelas, Victoria Scheeffler Carvalho de Almeida, Catarina Pinto Nogueira de Souza, Clara Amaral Fernandes de Souza da Silva, Clara Sinhorelo Pereira de Figueiredo, Fernanda Coelho Velano, Flávia Areas Cavalcante da Silva, Isabela Afonso Mancebo, Isabella Meira Baylao, Julia Conceição Batista, Valéria Cristina Lopes Marques, Marcel Vasconcellos

ESTUDO DA SUPRESSÃO DOS HORMÔNIOS TIREOIDIANOS NOS ÓRGÃOS REPRODUTORES MASCULINOS DE RATOS WISTAR	31
--	-----------

Carina Teixeira Ribeiro, Maria Eduarda Monteiro Silva, Maria Julia Desouzart de Aquino Viana, Bruna Silveira de Oliveira, Juliana Jesus de Monteiro Alves

TÉCNICA OPERATÓRIA MODIFICADA DE MIECTOMIA TOTAL E AVALIAÇÃO DIAGNÓSTICA POR BIOMICROSCOPIA ULTRASSÔNICA ENDOLUMINAL EM RATOS .	39
--	-----------

Amanda Matias Bezerra, Raphaela Valente de Almeida Ito, Pedro Filipe Campos Rampini, Ricardo Maia Cruz Brazuna, Júlia Gonçalves de Marina, Giovana Monteiro Martins Teixeira, Vanessa Henriques Novaes da Silva, Valéria Cristina Lopes Marques, Marcel Vasconcellos, João Carlos Machado

FERRAMENTA DE VISÃO COMPUTACIONAL PARA SUPORTE AO TESTE DE CAMPO ABERTO (OPEN FIELD TEST).....	49
---	-----------

Alberto Torres Angonese, João Pedro Moreira Ferreira, Marcel Vasconcellos, Rafael Soares Areal Costa, Valéria Cristina Lopes Marques, Arthur da Conceição Cunha, Gustavo Mattos Rodrigues, Gustavo Kimus Pimentel Nogueira, Marco Antônio Araujo de Almeida, Ana Beatriz Rocha Câmara, Tayna Mendes Maurat

ENTRE O REAL E O VIRTUAL: UMA ANÁLISE COMPARATIVA COM ROEDORES UTILIZANDO A CAIXA DE SKINNER E O TESTE DO CAMPO ABERTO	58
---	-----------

Drielly Abreu de Souza, Valéria Cristina Lopes Marques, Marcel Vasconcellos

UTILIZAÇÃO DA PELE DE TILÁPIA DO NILO (OREOCHROMIS NILOTICUS) PROCESSADA EM GLUTARALDEÍDO 0,5% OU CLOREXIDINA 2% EM HERNIOPLASTIA ABDOMINAL DE RATTUS NORVEGICUS VARIEDADE WISTAR.....	64
---	-----------

Síria da Fonseca Jorge, Luiza Lobo Caitano, Júlia de Oliveira Araujo Almeida, Leticia Arthou Aatahides, Maria Júlia Ribeiro de Oliveira, Juliana de Jesus Monteiro Alves, Carolina Seabra da Costa, Marcelo Abidu Figueiredo

EFEITOS TRANSGERACIONAIS DA SEPARAÇÃO MATERNA EM FILHOTES DE RATOS WISTAR: ANÁLISE COMPORTAMENTAL POR MEIO DOS TESTES DE CAMPO ABERTO E LABIRINTO EM CRUZ ELEVADA.....79

Geórgia Rosa Lobato, Suzana Maria Bernadino Araújo, Maria Eduarda Cordeiro da Cunha, Camila Matos Assunção Ana Carolina Klein dos Santos, Aline Pacheco Moura da Silva, Valéria Cristina Lopes Marques, Marcel Vasconcellos

AValiação da nanoemulsão de *BRUGMANSIA SUAVEOLENS* na cicatrização de feridas cutâneas em ratos91

Ana Carolina Borba de Frias, Marcel Vasconcellos, Sandro Pinheiro da Costa

VALORES GLICÊMICOS DE REFERÊNCIA DA INSTALAÇÃO DE CIÊNCIA ANIMAL.....99

Poliana Ferreira de Oliveira, Marcelly Adachi Custódio, Jennyffer Ferreira Varela, Ana Vitória Araujo de Souza, Anna Julia Rodrigues Kobbi, Hemily de Siqueira Pinheiro, Julia Vieira Moraes, Julia Cardoso de Oliveira, Mariana de Jesus Barboza, Gustavo Kimus Pimentel Nogueira, Giovanna Simões Macedo, Alícia Correa de Queiroz, Valéria Cristina Lopes Marques, Marcel Vasconcellos

PREFÁCIO

É com grande satisfação que apresentamos o V Seminário de Ciência Experimental, um evento que se consolida como um espaço essencial para o fortalecimento da pesquisa científica e do pensamento crítico nas diversas áreas do conhecimento. Em sua quinta edição, o seminário reafirma seu compromisso com a promoção de uma educação transformadora, baseada na investigação, na curiosidade e na construção coletiva do saber.

Vivemos em um tempo em que a ciência ocupa um papel central na vida em sociedade — seja na compreensão dos desafios globais, como as mudanças climáticas e as pandemias, seja na busca por soluções inovadoras e sustentáveis para o cotidiano. Nesse contexto, a ciência experimental emerge como ferramenta vital para fomentar não somente o conhecimento técnico, mas também habilidades como a observação, a análise, o questionamento e a criatividade.

O V Seminário de Ciência Experimental representa, portanto, muito mais do que uma simples reunião acadêmica. Ele é um ponto de encontro entre estudantes, professores, pesquisadores e entusiastas da ciência que acreditam no poder da experimentação como caminho para a descoberta e para a transformação social. Cada apresentação, cada projeto e cada discussão que compõem este evento carrega consigo o entusiasmo de quem se dedica a aprender com o mundo e sobre o mundo.

Esperamos que esta edição continue a inspirar mentes inquietas, a estimular novas ideias e a fortalecer o vínculo entre ciência, educação e sociedade. Que este seminário seja, para todos os envolvidos, uma oportunidade de crescimento, inspiração e compromisso com um futuro mais consciente, crítico e colaborativo.

Boa leitura!

Marcel Vasconcellos

O EFEITO DA SEMAGLUTIDA NA MODULAÇÃO DOS NEUROTRANSMISSORES MEDIADOS PELOS AGONISTAS DOS RECEPTORES GLP-1

Aimée de Almeida Carreiro, Giovanna Simões Macedo, Ana Carolina Rocha de Lima, Karla Maria Gonçalves Brito de Sousa, Gleiciane Pereira de Souza, Poliana Ferreira de Oliveira, Mariana de Jesus Barboza, Valéria Cristina Lopes Marques, Marcel Vasconcellos

RESUMO

Os agonistas do receptor GLP-1, como a semaglutida, têm mostrado benefícios no controle da glicemia, perda de peso e redução de complicações cardiovasculares. Contudo, além de suas aplicações clínicas estabelecidas, estudos recentes sugerem que esses medicamentos podem ter efeitos no sistema nervoso, particularmente na modulação dos neurotransmissores. De acordo com um estudo publicado no National Institutes of Health (NIH), a modulação farmacológica dos neurotransmissores, como dopamina e serotonina, pode desempenhar um papel importante nos efeitos comportamentais e fisiológicos observados em diversos pacientes. Diversos trabalhos sugerem que a semaglutida pode influenciar na liberação e na ação desses neurotransmissores, fundamentais em processos de motivação e no controle do apetite. A modulação desses neurotransmissores pode explicar, em parte, os efeitos comportamentais e neuropsiquiátricos observados em pacientes tratados com esses fármacos, como redução da ingestão alimentar e mudanças comportamentais. Contudo, ainda há uma lacuna no entendimento exato de como os agonistas do GLP-1 interagem com esses sistemas neuroquímicos. Assim, objetiva-se investigar o impacto da semaglutida na modulação dos neurotransmissores em modelo experimental. Para tanto, foram utilizados 12 ratos Wistar (*Rattus norvegicus*), machos, com 3 meses, randomizados em dois grupos: I) Grupo Controle (GC, n = 6); sem uso do fármaco; II) Grupo Semaglutida (GGLP-1, n = 6); administração oral de semaglutida (0,1 mg/kg/dia), por 35 dias. Observou-se que os ratos tratados com semaglutida, apresentaram um menor ganho de peso quando comparados aos seus controles ($p = 0,0079$). Por meio do cálculo da distância percorrida, foi demonstrado que os animais do GGLP-1 se expuseram menos nas áreas centrais de risco que o GC ($p = 0,0043$), assim como no Teste do Labirinto em Cruz Elevada o número de entradas nos braços fechados deste grupo foi significativamente maior que o GC ($p = 0,026$). Os achados sugeriram o efeito ansiogênico do fármaco e modulação de vias neurais envolvidas na ingestão alimentar.

Palavras-chave: Agonistas do Receptor GLP-1; Neurotransmissores; Sistema Nervoso Central; Ratos Wistar.

INTRODUÇÃO

Os agonistas do receptor do peptídeo semelhante ao glucagon 1 (GLP-1 AR), como exenatida, liraglutida, dulaglutida e semaglutida, são medicamentos de segunda linha ou superior, comumente usados no tratamento do diabetes tipo 2. Eles induzem a ativação direta do receptor GLP-1, estimulando a secreção de insulina pancreática de maneira dependente da glicose, ao mesmo tempo em que inibem a secreção de glucagon¹. Além dos benefícios comprovados no controle glicêmico, perda de peso e redução das complicações cardiovasculares associadas ao diabetes tipo 2, os agonistas do GLP-1 têm se destacado por sua potencial eficácia no tratamento da obesidade, sendo utilizados *off-label* por pacientes que buscam emagrecimento^{2,3}.

Embora os efeitos periféricos desses medicamentos sejam amplamente reconhecidos, estudos recentes têm revelado um crescente interesse pelos efeitos dos agonistas do GLP-1 no Sistema Nervoso Central. A modulação dos neurotransmissores, como dopamina e serotonina, tem sido uma área importante de pesquisa, uma vez que esses neurotransmissores desempenham papéis essenciais nos processos de motivação, recompensa e controle de apetite⁴. Essas interações podem ter implicações significativas para a saúde mental, como alterações no comportamento, memória e até mesmo o risco de doenças neurodegenerativas, como o Alzheimer⁵.

Considerando a crescente utilização desses fármacos e a lacuna existente na compreensão de seus efeitos no sistema nervoso central, o presente estudo busca investigar o impacto da semaglutida na modulação de neurotransmissores cerebrais, com ênfase nos efeitos neurológicos potenciais e suas implicações para a saúde cognitiva.

JUSTIFICATIVA

Considerando o crescente uso *off-label* do fármaco, principalmente entre os jovens, estudos que avaliem seus efeitos colaterais no Sistema Nervoso Central se tornam oportunos e relevantes.

OBJETIVOS

Investigar o impacto da semaglutida na modulação dos neurotransmissores em modelo experimental (*Rattus norvegicus*).

MÉTODOS

Descrição da amostra

Foram utilizados 12 ratos (*Rattus norvegicus*) Wistar, machos com 3 meses, peso de 300 ± 25 g, mantidos em gaiolas com lotação de até 4 animais, na Instalação de Ciência Animal do Centro Universitário Serra dos Órgãos-UNIFESO.

A Instalação de Ciência Animal possui controle do ciclo circadiano (12h claro / 12h escuro), temperatura (22 ± 2 °C), umidade relativa do ar ($50 \pm 5\%$), além de manejo padronizado de alimentação, higiene e fornecimento de água *ad libitum*.

O estudo foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de animais (CEUA), sob o protocolo n.º 592/2024. Ressalta-se que o estudo se encontra de acordo com a Lei n.º 11.794, de 8 de outubro de 2008 e em conformidade com os princípios sobre a utilização, manutenção e proteção de animais de laboratório estabelecidos internacionalmente.

Desenho experimental

Após a randomização, os animais foram distribuídos em dois grupos:

I) Grupo Controle (GC, n = 6); sem uso do fármaco; Foram realizados testes comportamentais e bioquímicos séricos;

II) Grupo Semaglutida (GGLP-1 n = 6); administração oral de semaglutida (0,1 mg/kg/dia), na água de beber, durante 35 dias, seguidos de testes comportamentais e bioquímicos séricos.

Exames bioquímicos

A concentração sérica de cortisol basal foi determinada após o período experimental.

Testes comportamentais

Teste do Campo Aberto (Open Field Test)

O teste do Campo aberto é amplamente utilizado para avaliar alterações na atividade locomotora, hiperatividade, ansiedade e comportamentos exploratórios de roedores. Realizado em um ambiente isolado e com iluminação reduzida, sendo o animal colocado no centro de uma arena circundada por paredes medindo 60 x 60 x 450 cm (largura, comprimento, altura) (Figura 1A) e o seu comportamento exploratório é filmado durante cinco minutos. Ao final, será analisado o comportamento do animal durante o teste, e os seguintes parâmetros serão obtidos: distância total percorrida e tempo passado na periferia e no centro da arena, sendo os dois últimos parâmetros para avaliação de comportamento do tipo ansioso.⁶

Considera-se que os ratos exibem uma aversão natural a áreas abertas bem iluminadas. Por outro lado, eles também têm um impulso para explorar um estímulo percebido como ameaçador. A diminuição dos níveis de ansiedade leva ao aumento do comportamento exploratório. O aumento da ansiedade, em contrapartida, resultará em menos locomoção e preferência por ficar perto das paredes do campo.⁶

Teste do Labirinto em Cruz Elevada (Elevated Plus Maze Test)

O Teste do Labirinto em Cruz Elevada (LCE) é um dos testes de ansiedade mais utilizados por diversos grupos de pesquisa em todo o mundo, e baseia-se no comportamento natural dos animais, não oferecendo nenhum tipo de punição aos mesmos. O aparato utilizado neste teste, construído em madeira, é constituído por dois braços abertos unidos perpendicularmente a dois braços circundados por paredes (braços fechados) e foi a princípio utilizado para avaliar o comportamento de ratos. Os autores do teste observaram que os animais, ao serem colocados no centro do aparato, demonstravam clara tendência a explorar os braços fechados, em detrimento dos abertos. A exposição dos ratos a situações naturalmente ameaçadoras, representadas no modelo pela altura e pelo espaço aberto, explicaria a maior aversão para explorar os braços abertos. O labirinto em cruz elevada (LCE) é um teste de ansiedade amplamente utilizado tanto para a descoberta de novos agentes ansiolíticos, quanto para investigar as bases psicológicas e neuroquímicas da ansiedade⁷ (Figura 1B).

Figura 1. Teste do Campo Aberto (Open Field Test) e Labirinto em Cruz Elevada (LCE)

Fonte: Autores, 2025.

Quando o rato é colocado no labirinto para que o explore livremente durante um período de tempo determinado, geralmente de 5 minutos, o animal tende a explorar os braços abertos somente durante 20 a 25% do tempo, sugerindo que a possível aversão causada por esses braços realmente exista.⁷

Esse parâmetro (tempo total de permanência nos braços abertos do modelo), portanto, representa um forte índice relacionado à ansiedade.

Quando os animais são tratados com compostos ansiolíticos, tais como diazepam ou clordiazepóxido, o tempo total de permanência nos braços abertos tende a aumentar significativamente em comparação a animais que não tenham recebido nenhum tipo de tratamento. Contrariamente a esta resposta, quando os animais são tratados com compostos conhecidos por aumentar os níveis de ansiedade (compostos ansiogênicos), acabam passando mais tempo acucados nos braços fechados do que explorando os braços abertos.⁷

Com relação aos parâmetros observados, além do tempo total de permanência em cada um dos braços e do número total de entradas. Alguns pesquisadores também consideram na análise outras medidas, consideradas comportamentais, tais como o número de vezes que o animal explora a extremidade dos braços abertos, número de vezes que se levanta contra as paredes dos braços fechados, entre outras medidas.⁷

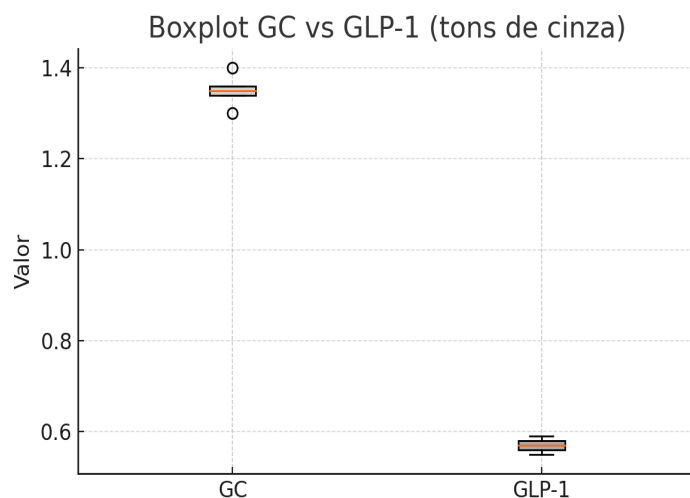
Análise estatística dos dados

Os achados (ganho de peso em 35 dias, concentração de cortisol basal, tempo total percorrido na área central do Teste do Campo Aberto, tempo total de permanência e número de entrada nos braços abertos e fechados do Teste do Labirinto em Cruz Elevada) foram analisados com o teste não-paramétrico de Mann-Whitney U, considerando-se um intervalo de confiança de 95% e $p \leq 0,05$.

RESULTADOS

Durante 35 dias, os animais do Grupo Controle e do Grupo GLP-1 foram pesados semanalmente, e seus respectivos ganhos de peso comparados no gráfico 1.

Gráfico 1. *Box plot* do ganho de peso (g) do Grupo Controle e do Grupo Semaglutida



Fonte: Autores, 2025.

Em seguida, realizou-se o Teste do Campo Aberto. Os resultados foram registrados na tabela 2.

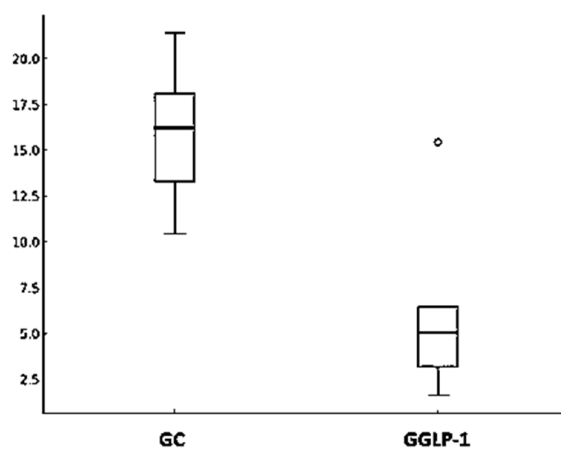
Tabela 2. Resultados (metros) do Teste do Campo Aberto

Grupo Controle	Total percorrido (m)	Total percorrido na área central (m)	% percorrido na área central
1	22,40	4,80	21,42
2	17,20	1,80	10,46
3	14,60	2,40	16,43
4	17,20	3,00	16,00
5	22,46	4,20	18,69
6	14,50	1,80	12,41
Grupo GLP-1	Total percorrido (m)	Total percorrido na área central (m)	% percorrido na área central
1	22,00	1,40	6,36
2	18,40	1,20	6,52
3	24,60	3,80	15,44
4	20,00	0,60	3,00
5	24,00	0,40	1,66
6	21,20	0,80	3,77

Fonte: Autores, 2025.

Elaborou-se um gráfico comparativo entre o percentual de locomoção na área central do campo aberto dos grupos experimentais.

Gráfico 2. Percentual (%) de locomoção na área central no Teste do Campo Aberto

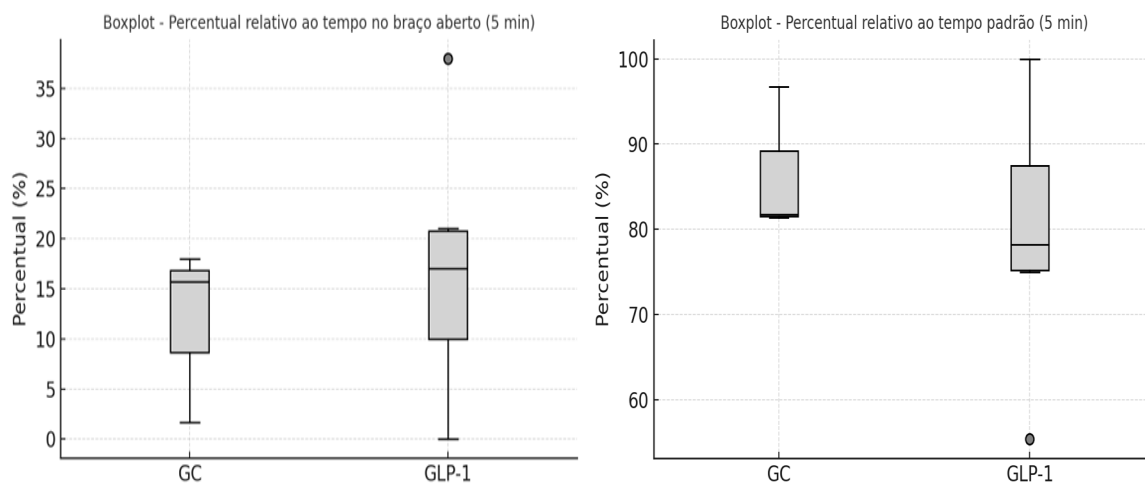


*GC > GGLP-1.

Fonte: Autores, 2025.

O segundo teste consistiu no uso do Labirinto em Cruz Elevada (LCE). Os resultados foram registrados no gráfico 3.

Gráfico 3. Tempo de permanência (segundos) no braço aberto e fechado do LCE

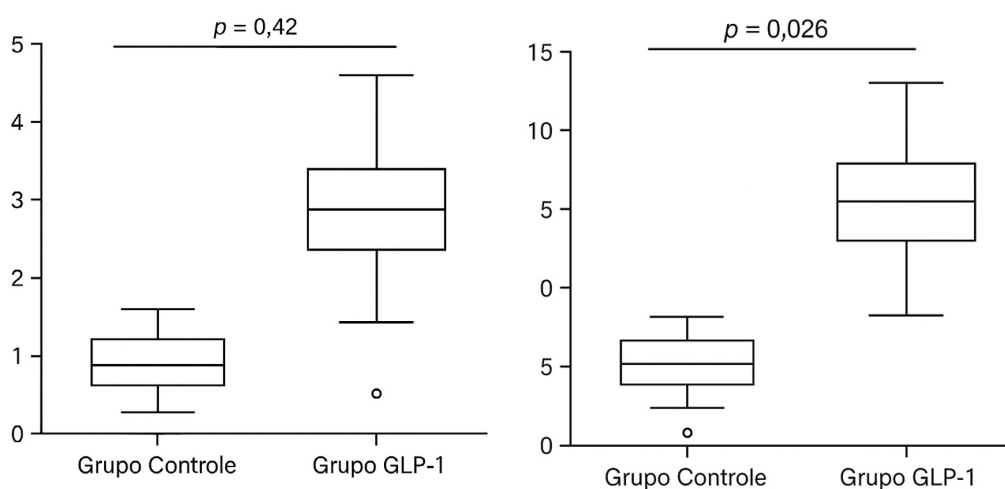


a) *GC = GGLP-1.

b) *GC = GGLP-1.

Fonte: Autores, 2025.

No gráfico 4, analisou-se o número de entradas nos braços abertos e fechados do LCE.

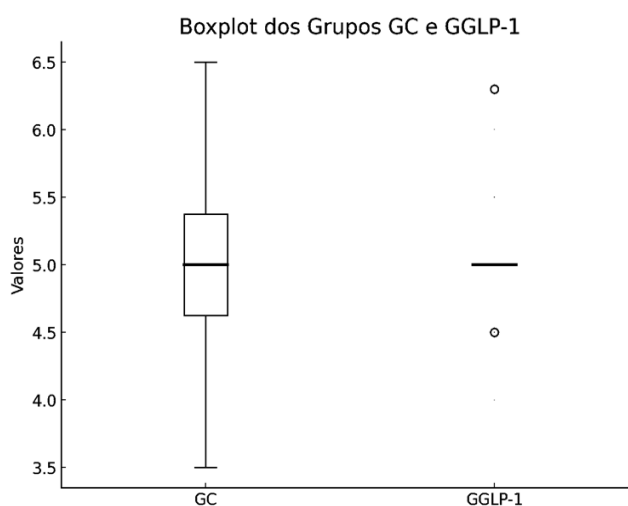
Gráfico 4. Número de entradas no braço aberto e fechado do LCE


a) *GC = GGLP-1.

b) *GC < GGLP-1.

Fonte: Autores, 2025.

Após a eutanásia, foram colhidas amostras de sangue por via intracardíaca terminal e procedida a determinação da concentração de cortisol sérico. O gráfico 5 ilustra a comparação entre os valores encontrados nos grupos.

Gráfico 5. Comparação da concentração sérica de cortisol no GC e no GGLP-1


GC = GGLP-1.

Fonte: Autores, 2025.

DISCUSSÃO

A semaglutida é um análogo do GLP-1 com uma sequência de homologia de 94% relativamente ao GLP-1 humano. O fármaco atua como agonista dos receptores de GLP-1 que se liga seletivamente e ativa o receptor de GLP-1, o alvo para GLP-1 nativo. A semaglutida reduz o peso corporal e a massa de gordura corporal por meio da diminuição da necessidade de aporte de energia, o que envolve uma redução geral do apetite. Dados

pré-clínicos não revelam riscos especiais para o ser humano, segundo estudos convencionais de farmacologia de segurança, toxicidade de dose repetida ou genotoxicidade.⁸

Nossos resultados demonstraram que os ratos tratados com semaglutida oral por 35 dias, apresentaram um menor ganho de peso quando comparados aos seus controles ($p = 0,0079$) (Gráfico 1). Particularmente, o grupo tratado com semaglutida apresentou um ganho médio de 0,57 g/dia, enquanto o GC obteve um ganho de 1,35 g/dia no mesmo período. Essa diferença estatisticamente significativa sugeriu que a semaglutida influenciou os mecanismos relacionados à regulação do peso corporal em ratos.

Tais achados corroboram com o estudo de Gabery et al.,⁴ que investigaram os efeitos da semaglutida em roedores e observaram redução na ingestão alimentar e perda de peso sem diminuição do gasto energético. Ademais, os autores demonstraram que a semaglutida acessou diretamente áreas cerebrais como o tronco encefálico, núcleo septal e hipotálamo, interagindo com órgãos circumventriculares e regiões adjacentes aos ventrículos cerebrais. A ativação central de c-Fos foi observada em 10 áreas cerebrais, incluindo regiões sem interação direta com os receptores de GLP-1, como o núcleo parabrancial lateral, sugerindo que a semaglutida pode modular vias neurais distribuídas envolvidas na ingestão alimentar, recompensa e gasto energético.^{4,9,10}

Considerando que os ratos Wistar expressam receptores de GLP-1 em regiões cerebrais associadas ao controle do apetite e da saciedade, conforme demonstrado por Hayes et al.⁹, é plausível admitir que a semaglutida atue nesses receptores para promover os efeitos observados no presente estudo. Essa via alternativa de sinalização pode modular a atividade de neurotransmissores como dopamina e serotonina — justamente os alvos do presente estudo — os quais estão diretamente implicados nos mecanismos de saciedade, recompensa alimentar e motivação, reforçando a relevância do eixo GLP-1/SNC como alvo terapêutico multifuncional.^{5,1}

Para uma maior abrangência da nossa avaliação, utilizou-se dois testes comportamentais amplamente validados na detecção de transtornos de ansiedade e depressão em modelos experimentais como ratos (*Rattus norvegicus*) e camundongos (*Mus musculus*).

O primeiro teste é conhecido como Teste de Campo Aberto (*Open Field Test*), onde é avaliado o comportamento locomotor, exploratório e ansioso em roedores.

Durante o teste, o animal é colocado em uma arena aberta, subdividida em 25 quadrados de 20 x 20 cm que facilitam a quantificação dos seus movimentos. Na prática, a avaliação consistiu em medir a distância percorrida pelo animal tanto no centro quanto nas bordas da arena, contabilizando os quadrados efetivamente explorados. Para que um quadrado (20 cm) fosse contabilizado, era necessário que o rato posicionasse as quatro patas dentro dele, garantindo assim que o animal transitou completamente por aquela área e não apenas se aproximou parcialmente. Essa abordagem realizada por vários observadores independentes, permitiu um controle mais rigoroso da movimentação e evitou possíveis vieses, como a contagem de movimentos parciais ou esporádicos.¹¹

A análise do tempo ou distância no centro da arena foi considerada a medida mais importante, pois é sabido que os animais que exploram mais a região central, que é aberta e exposta à possíveis predadores, tendem a apresentar níveis menores de ansiedade, enquanto aqueles que permanecem predominantemente nos quadrados periféricos demonstram comportamento mais ansioso, ocupando áreas consideradas seguras.¹²

A partir dos dados coletados, calculou-se o percentual de exploração da área central, que consiste na proporção da distância percorrida em relação ao total percorrido na arena. Os resultados foram expressos na tabela 2.

Por meio do cálculo da distância percorrida, foi demonstrado que os animais do GGLP-1 (semaglutida) se expuseram menos nas áreas centrais de risco, quando comparados aos seus controles ($GC > GS$, $p = 0,0043$), indicando um maior grau de ansiedade e sugerindo efeito ansiogênico do fármaco (Gráfico 2).

Quanto a este achado, Kornelius et al.,¹³ em um estudo de coorte populacional, demonstraram que pacientes obesos em uso de agonistas do receptor de GLP-1 apresentaram risco significativamente aumentado de desenvolver depressão, ansiedade e comportamentos suicidas. Contudo, é importante destacar que os efeitos

psicoativos da semaglutida não são unânimes na literatura. Embora estudos clínicos envolvam variáveis psicossociais mais complexas, nossos achados indicam a necessidade de precaução e de uma avaliação individualizada de risco-benefício da semaglutida, sobretudo em pacientes com histórico de transtornos psiquiátricos, evidenciando que os efeitos da semaglutida podem ser modulados por fatores contextuais ou genéticos, devendo ser considerados com cautela ao extrapolar resultados de modelos animais para humanos.

Vale mencionar que durante a análise dos dados obtidos no Teste do Campo Aberto, foi identificado um animal com comportamento discrepante no grupo tratado com semaglutida (*outlier*). Esse animal apresentou um percentual de exploração do centro consideravelmente mais alto em relação aos demais do mesmo grupo. Em análises estatísticas, um *outlier* é definido como um valor que se distancia significativamente dos demais dados do conjunto, podendo resultar de erros experimentais ou mesmo variabilidade biológica.

Embora a exclusão de *outliers* seja prática comum em algumas abordagens analíticas com o intuito de reduzir a distorção das médias, neste estudo optou-se por manter os dados do animal na análise. A decisão se fundamentou no entendimento de que, em experimentos com amostras pequenas e sujeitos biológicos, a variabilidade individual é esperada e faz parte do fenômeno estudado. Além disso, o dado não sugeria características de erro técnico experimental, sendo compatível com a realidade experimental.

Em relação ao segundo teste, o do Labirinto em Cruz Elevada (LCE), este apresenta proposta similar à utilizada no campo aberto. O teste se baseia na aversão inata dos animais a espaços abertos e elevados, sendo, portanto, uma ferramenta válida para avaliar os efeitos de fármacos e condições experimentais sobre o comportamento ansioso. O aparelho é composto por quatro braços dispostos em cruz, dois deles abertos e dois fechados por paredes laterais, posicionados perpendicularmente entre si e elevados do chão por cerca de 50 cm. Durante o experimento, o animal é colocado na parte central da cruz, voltado para um dos braços abertos, e é livre para explorar os braços por um período padrão de cinco minutos.¹²

Os principais parâmetros analisados no LCE incluem o número de entradas nos braços abertos e fechados e o tempo que o animal permanece em cada um desses ambientes. O tempo total e o número de entradas nos braços abertos são inversamente relacionados ao comportamento ansioso: roedores mais ansiosos tendem a evitar os braços abertos, preferindo permanecer nos braços fechados, considerados mais seguros por oferecerem proteção contra quedas e predadores.¹³ Por outro lado, um aumento na frequência ou duração da permanência nos braços abertos sugere um possível efeito ansiolítico da intervenção testada.

Quanto ao tempo de permanência nos braços abertos e fechados no LCE, não foi observada diferença estatisticamente significativa entre o GC e o GGLP-1 (respectivamente $p = 0,714$; $p = 0,35$) (Gráficos 3a e 3b), sugerindo não haver o efeito ansiogênico observado no teste anterior.

Porém em relação ao número de entradas nos braços do LCE, ainda que não tenha havido diferença significativa entre os grupos no braço aberto ($p = 0,42$) (Gráfico 4a), no braço fechado houve diferença significativa (GGLP-1 > GC, $p = 0,026$) (Gráfico 4b), corroborando com o efeito ansiogênico demonstrado por este grupo no teste anterior (Gráfico 2).

Assim a distância percorrida nas áreas consideradas “seguras” do campo aberto e o número de entradas nos braços fechados e protegidos do LCE, podem sugerir um possível efeito ansiogênico do fármaco¹⁴, fato não corroborado quando a variável analisada foi temporal.

Na determinação de concentração sérica de cortisol basal, não foi encontrada diferença entre os valores séricos entre os grupos ($p = 1,0$) (Gráfico 5). Vale ressaltar, que o cortisol é um hormônio glicocorticoide envolvido na resposta ao estresse, porém o cortisol é usado principalmente em humanos, enquanto a corticosterona é usada principalmente em ratos e camundongos¹⁵. A diferença química é que o cortisol tem um grupo hidroxila extra no 17º carbono, enquanto a corticosterona não. Infelizmente, não foi possível proceder ao exame conforme solicitado.

Como limitações do estudo podemos citar, o tamanho amostral reduzido, ausência de avaliação em ambos os sexos e de um biomarcador específico de ansiedade para a espécie.

CONCLUSÃO

Os achados sugeriram o efeito ansiogênico do fármaco e modulação de vias neurais envolvidas na ingestão alimentar.

REFERÊNCIAS

1. Baggio LL, Drucker DJ. Glucagon-like peptide-1 receptors in the brain: controlling food intake and body weight. *J Clin Invest.* 2014;124(10):4223-6. doi: 10.1172/JCI78371.
2. Marso SP, Daniels GH, Brown-Frandsen K, Kristensen P, Mann JF, Nauck MA, et al. Liraglutide and Cardiovascular Outcomes in Type 2 Diabetes. *N Engl J Med.* 2016 ;375(4):311-22. doi: 10.1056/NEJMoa1603827.
3. Barroso AC, Avelar GT, Minucci GR, Almeida VAR. Efeito dos Agonistas GLP-1 no Controle do Diabetes Mellitus Tipo 2. *Brazilian Journal of Implantology and Health Sciences*, 2024;6(8):5029-35. doi: 10.36557/2674-8169.2024v6n8p5029-5035.
4. Gabery S, Salinas CG, Paulsen SJ, Ahnfelt-Rønne J, Alanentalo T, Baquero AF, et al. Semaglutide lowers body weight in rodents via distributed neural pathways. *JCI Insight.* 2020;5(6):e133429. doi:10.1172/jci.insight.133429.
5. Secher A, Jelsing J, Baquero AF, Hecksher-Sørensen J, Cowley MA, Dalbøge LS, et al. The arcuate nucleus mediates GLP-1 receptor agonist liraglutide-dependent weight loss. *J Clin Invest.* 2014;124(10):4473–88. doi:10.1172/JCI75276.
6. Silva RH, Frussa-Filho R. The plus-maze discriminative avoidance task: A new model for studying memory-anxiety interactions. Effects of chlordiazepoxide and caffeine. *J Neurosci.* 2000; 102(2):117-25. doi: 10.1016/s0165-0270(00)00289-2.
7. Pinto WBV de R, Ko GM, Valero-Lapchik VB, Ariza CB, Porcionatto M. Teste de labirinto em cruz elevado: aplicações e contribuições no estudo de doenças neuropsiquiátricas em modelos animais. *Rev. Soc. Bras. Ciênc. Anim. Lab;* 2012;1(1):102-20. Disponível em: <https://www.sbcal.org.br/old/upload/arqupload/artigo14-d6fe4.pdf>.
8. Sorli C, Harashima SI, Tsoukas GM, Unger J, Karsbøl JD, Hansen T, Bain SC. Efficacy and safety of once-weekly semaglutide monotherapy versus placebo in patients with type 2 diabetes (SUSTAIN 1): a double-blind, randomised, placebo-controlled, parallel-group, multinational, multicentre phase 3a trial. *Lancet Diabetes Endocrinol.* 2017 Apr;5(4):251-260. doi: 10.1016/S2213-8587(17)30013-X.
9. Hayes MR, De Jonghe BC, Kanoski SE. Role of the glucagon-like-peptide-1 receptor in the control of energy balance. *Physiol Behav.* 2010;100(5):503-10. doi: 10.1016/j.physbeh.2010.02.029.
10. Kalinderi K, Papaliagkas V, Fidani L. GLP-1 Receptor Agonists: A New Treatment in Parkinson's Disease. *Int J Mol Sci.* 2024;25(7):3812. doi: 10.3390/ijms25073812.
11. Carola V, D'Olimpio F, Brunamonti E, Mangia F, Renzi P. Evaluation of the elevated plus-maze and open-field tests for the assessment of anxiety-related behaviour in inbred mice. *Behav Brain Res.* 2002;134(1-2):49-57. doi: 10.1016/s0166-4328(01)00452-1.
12. Belovicova K, Bogi E, Csatlosova K, Dubovicky M. Animal tests for anxiety-like and depression-like behavior in rats. *Interdiscip Toxicol.* 2017;10(1):40-43. doi: 10.1515/intox-2017-0006.
13. Kornelius E, Huang JY, Lo SC, Huang CN, Yang YS. The risk of depression, anxiety, and suicidal behavior in patients with obesity on glucagon like peptide-1 receptor agonist therapy. *Sci Rep.* 2024;14(1):24433. doi: 10.1038/s41598-024-75965-2.
14. Pellow S, Chopin P, File SE, Briley M. Validation of open: closed arm entries in an elevated plus-maze as a measure of anxiety in the rat. *J Neurosci Methods.* 1985;14(3):149-67. doi: 10.1016/0165-0270(85)90031-7.
15. Coutinho AE, Chapman KE. The anti-inflammatory and immunosuppressive effects of glucocorticoids, recent developments and mechanistic insights. *Molecular and Cellular Endocrinology.* 2011;335(1):2-13. doi: 10.1016/j.mce.2010.04.005

AUTOTRANSPLANTE DE TECIDO PARATIREOIDIANO CRIOPRESERVADO NO TRATAMENTO DO HIPOPARATIREOIDISMO PÓS- OPERATÓRIO. ESTUDO EXPERIMENTAL

Barbara Alves de Melo Sá, Camila Tolentino de Sá, Antonella Cisari Constanza, Amanada Matias Bezerra, Gabrielle Goulart Balthazar, Luca Magalhães Beisl, Pedro Henrique Nascimento Ornelas, Victoria Scheeffler Carvalho de Almeida, Catarina Pinto Nogueira de Souza, Clara Amaral Fernandes de Souza da Silva, Clara Sinhorelo Pereira de Figueiredo, Fernanda Coelho Velano, Flávia Areas Cavalcante da Silva, Isabela Afonso Mancebo, Isabella Meira Baylao, Julia Conceição Batista, Valéria Cristina Lopes Marques, Marcel Vasconcellos

RESUMO

Introdução: Considerando a falta de diretrizes unificadas e padronizadas para o autotransplante criopreservado de paratireoide, e taxas de sucesso variáveis, uma investigação sobre a viabilidade e funcionalidade do tecido criopreservado se faz oportuna e relevante. **Objetivos:** Verificar a viabilidade e funcionalidade do autotransplante heterotópico de tecido paratireoideano criopreservado, em ratos submetidos à paratireoidectomia bilateral, no tratamento do hipoparatireoidismo **pós-operatório**. **Métodos:** O estudo foi aprovado pela CEUA/UNIFESO sob o n.º 607/25. Serão utilizados 60 ratos Wistar (*Rattus norvegicus*), de ambos os sexos, com média de idade de 3 meses e peso de 300 ± 50 g, distribuídos em três grupos: I) Grupo Controle (GC, n = 20); 10 machos; 10 fêmeas. Não haverá nenhum procedimento experimental, exceto a colheita de sangue para exames bioquímicos e hormonais (cálcio total, fósforo, vitamina D e paratormônio), comum aos demais grupos; II) Grupo Criopreservação A (GCA, n = 20); 10 machos; 10 fêmeas. Após a paratireoidectomia bilateral, a glândula esquerda será submetida ao processo de criopreservação lenta. Os animais receberão suplementação de cálcio durante 12 dias. Ao término deste período, será realizado o implante cirúrgico do lobo paratireoideano no músculo bíceps femoral do membro posterior esquerdo; III) Grupo Criopreservação B (GCB, n = 20); 10 machos; 10 fêmeas. Procedimento similar ao grupo anterior, com exceção de um período maior de criopreservação de 36 dias. **Resultados:** Realizou-se uma revisão de literatura, com foco no transplante autólogo da glândula paratireoide, sua criopreservação e os fatores que afetam a hipofunção do enxerto. No estudo experimental, durante a fase de capacitação cirúrgica, observou-se a dificuldade na identificação anatômica precisa das paratireoides no rato. **Conclusão:** Para contornar o problema, aventou-se o uso da aplicação de nanopartículas de óxido de ferro na glândula tireoidiana, destacando assim a tireoide do tecido paratireoideano.

Palavras-chave: Hipoparatireoidismo; Autotransplante; Ratos Wistar.

INTRODUÇÃO

O hipoparatiroidismo permanente decorre de cirurgia da tireoide e da paratireoide, realizada sobretudo no tratamento do câncer e do hiperparatiroidismo primário, secundário ou terciário.¹

A condição pode ser definida como hipocalcemia persistente (≥ 3 meses) secundária a um baixo nível de PTH, exigindo suplementação de cálcio e vitamina D.²

A ausência de hormônio da paratireoide (PTH) tem efeitos sistêmicos de longo prazo no corpo, como o desenvolvimento de osteoporose, catarata prematura, disfunção cardíaca e disfunção neurológica.³

O tratamento baseado na suplementação de cálcio e vitamina D pode gerar complicações graves, tais como calcificação ectópica de tecidos moles, insuficiência renal e disfunção cognitiva.⁴

Embora o implante de tecido paratireoidiano criopreservado após a paratireoidectomia total seja um procedimento bem estabelecido e com resultados comprovados, as taxas de sucesso variam entre 10% e 83%. O tempo de criopreservação e a quantidade de tecido implantado são apontados como os principais fatores que influenciam a viabilidade e a funcionalidade do implante.⁵

A criopreservação facilita as decisões clínicas e cirúrgicas, evita autotransplantes imediatos desnecessários de paratireoide e oferece uma chance de curar o hipoparatiroidismo.³

Considerando a falta de diretrizes unificadas e padronizadas para o autotransplante criopreservado de paratireoide, e taxas de sucesso variáveis entre as instituições⁶, uma investigação sobre a viabilidade e funcionalidade do tecido criopreservado se faz oportuna e relevante.

Vale ressaltar que há pouca pesquisa sobre os fatores que influenciam o sucesso do autotransplante nos últimos anos, além da ausência de um tempo máximo e ideal de congelamento do tecido paratireoidiano.⁶

O hipoparatiroidismo (HP) é uma das complicações mais comuns após a cirurgia de pescoço, especialmente na tireoidectomia, uma técnica bem estabelecida no tratamento curativo do câncer de tireoide, que é o câncer endócrino mais comum em todo o mundo^{6,7}. O HP pós-operatório é causado predominantemente por trauma direto, isquemia ou remoção da paratireoide na cirurgia devido a uma grave deficiência da capacidade de discriminar de forma confiável os lobos da glândula tireoide¹ e outros tecidos circundantes (por exemplo, gânglios linfáticos e gordura periférica) em tempo real na sala de operação. Barrios et al.⁸ relataram uma média de erro de na secção da glândula em 22,4% em 1.114 casos de tireoidectomia, e até mesmo cirurgiões experientes apresentavam uma taxa de erro mínima de 7,7%. Essas altas taxas de erros são consistentes com outros relatórios semelhantes⁹⁻¹¹. Portanto, erros na paratireoidectomia é um fator de risco independente para doença transitória e HP pós-operatório permanente.

OBJETIVOS

Primário:

Verificar a viabilidade e funcionalidade do autotransplante heterotópico de tecido paratireoidiano criopreservado, em ratos submetidos à paratireoidectomia total, no tratamento do hipoparatiroidismo **pós-operatório**.

Secundários:

Capacitar discentes do Curso de Medicina em técnica cirúrgica de animais de laboratório;

Capacitar discentes do Curso de Biomedicina nos métodos de criopreservação de tecidos biológicos e análise imunohistoquímica;

Incentivar a formação de grupos de pesquisa interdisciplinares nos Cursos de Medicina e Biomedicina do UNIFESO;

Promover a Iniciação Científica (IC), por meio da Aprendizagem Baseada em Projetos (ABP).

JUSTIFICATIVA E RELEVÂNCIA

Considerando a falta de diretrizes unificadas e padronizadas para o autotransplante criopreservado de paratireoide, a qual resulta em taxas de sucesso variáveis entre as instituições, uma investigação sobre a viabilidade e funcionalidade do tecido criopreservado se faz oportuna e relevante.

Vale ressaltar que há pouca pesquisa sobre os fatores que influenciam o sucesso do autotransplante nos últimos anos, além da falta de consenso entre pesquisadores sobre qual o tempo máximo e ideal de congelamento do tecido paratireoidiano.

Não foi encontrado na literatura pesquisada, modelo experimental alternativo para o estudo.

MÉTODOS

Descrição da amostra

Serão utilizados 60 ratos Wistar (*Rattus norvegicus albinus*), de ambos os sexos, com média de idade de 3 meses, peso de 300 ± 50 g. Os animais serão separados por sexo e mantidos em gaiolas com lotação de no máximo 4 animais, na Instalação de Ciência Animal (ICA), localizada no Campus Quinta do Paraíso, do Centro Universitário Serra dos Órgãos- UNIFESO.

A disponibilização dos animais pela ICA ao projeto se dará segundo o fluxograma de criação do biotério e gradualmente durante o período previsto do projeto.

A Instalação de Ciência Animal (ICA) possui controle do ciclo circadiano (12h claro / 12h escuro), temperatura (22 ± 2 °C), umidade relativa do ar ($50 \pm 5\%$), além de manejo padronizado de alimentação, higiene e fornecimento de água *ad libitum*.

O estudo foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de animais (CEU/UNIFESO), sob o nº 607/2025, e se encontra em conformidade com a Lei nº 11.794, de 8 de outubro de 2008, bem como aos princípios sobre a utilização, manutenção e proteção de animais de laboratório estabelecidos internacionalmente.

Delineamento experimental

Após a randomização, os animais serão distribuídos em três grupos:

I) Grupo Controle (GC, n = 20); composto por 10 machos e 10 fêmeas híginas. Não haverá nenhum procedimento experimental, exceto a colheita de sangue (via intracardíaca terminal), para exames bioquímicos e hormonais (cálcio total, fósforo, vitamina D e paratormônio), no 1º dia, seguida da exérese da glândula paratireoide para exame histológico e imuno-histoquímico.

II) Grupo Criopreservação A (GCA, n = 20); composto por 10 machos e 10 fêmeas. Após a paratireoidectomia total bilateral, a glândula esquerda será submetida ao processo de criopreservação lenta (-4 °C por 1h, seguida de sua imersão em nitrogênio líquido a -196 °C). Os animais receberão suplementação de cálcio injetável durante 12 dias. Ao término deste período, será realizado o implante cirúrgico do lobo paratireoidiano criopreservado no músculo bíceps femoral do membro posterior esquerdo. Após 30 dias serão realizados exames bioquímicos, hormonais, histológicos e imuno-histoquímicos.

III) Grupo Criopreservação B (GCB, n = 20); composto por 10 machos e 10 fêmeas. Após a paratireoidectomia total bilateral, a glândula esquerda será submetida ao processo de criopreservação lenta (-4 °C por

1h, seguida de sua imersão em nitrogênio líquido a -196°C). Os animais receberão suplementação de cálcio injetável durante 36 dias. Ao término deste período, será realizado o implante cirúrgico do lobo paratireoideano criopreservado no músculo bíceps femoral do membro posterior esquerdo. Após 30 dias serão realizados exames bioquímicos, hormonais, histológicos e imuno-histoquímicos.

O meio de cultura utilizado na criopreservação, será composto por 43% de RPMI 1640, 50% de Soro fetal bovino e 7% de DMSO (dimetilsulfóxido) (Sigma-Aldrich®, St. Louis, Mo, US).

Os períodos de criopreservação de 12 e 36 dias baseiam-se na relação da idade entre o homem e o rato citada por Andreollo et al.¹², os quais aduziram que 1 dia de vida do rato corresponde proporcionalmente a 30 dias em *anima nobile*. Assim, de forma análoga, os enxertos serão avaliados por períodos correspondentes de 1 e 3 anos humanos, suficientes para a tomada de decisão do cirurgião sobre o autotransplante, considerando que em muitos casos, o hipoparatireoidismo transitório pós-cirúrgico, não evolui para o hipoparatireoidismo permanente¹.

A colheita de sangue terminal para exames bioquímicos e hormonais (cálcio total, fósforo, vitamina D e paratormônio) nos grupos experimentais será realizada por via intracardiaca, sob anestesia geral inalatória e com uso de seringa de 3 ml e agulha 25×7 mm respectivamente no 1º, 42º e 66º dia. Em seguida, as amostras serão refrigeradas (2 a 8 °C) e enviadas para laboratório de análises clínicas.

A suplementação de cálcio utilizará alternadamente as vias intramuscular e subcutânea. As injeções serão feitas a cada 3 dias, com uso de gluconato de cálcio (U.C.B®, SP, BR, 1g/ml), na dose de 43,6 mg/kg, equivalente no homem a uma dose baixa de 420 mg/dia.¹³ A contenção dos animais será feita mediante o uso do método *Open-drop*, onde 0,3 ml de Isoflurano a 2% será embebido numa gaze dentro de uma câmara de acrílico. A recuperação total dos animais dura cerca de 30 segundos.

Enfatiza-se que os animais que apresentarem sintomas clínicos de miastenia, tetania ou sofrimento serão eutanasiados por motivos humanitários, segundo as Diretrizes emanadas pelo CONCEA/MCTI (Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal).¹⁴

Descrição da técnica operatória utilizada na paratireoidectomia total

O procedimento cirúrgico será realizado na Instalação de Ciência Animal (ICA), localizada no Campus Quinta do Paraíso, do Centro Universitário Serra dos Órgãos- UNIFESO, Teresópolis-RJ.

Os animais serão submetidos ao procedimento anestésico com uma solução composta por 100 mg/kg de cloridrato de cetamina a 10% (Vetaset®) e 10 mg/kg de cloridrato de xilazina a 2% (Virbaxyl®) e aplicada por via intraperitoneal no quadrante abdominal inferior direito.

Em seguida, realizar-se-á a tricotomia da região infra-hioidea, e após cuidados de assepsia e antissepsia com uso de solução degermante de digluconato de clorexidina a 2% (Riohex®), procederemos à infiltração na pele e no tecido subcutâneo da área a ser incisada, com 5 mg/kg de cloridrato de lidocaína a 2% (Lidovet®). Será realizada uma incisão cutânea longitudinal de 2,5 cm na região cervical ventral, com divulsão do tecido subcutâneo, abertura do platismo na linha média (direção crânio-caudal), exposição e afastamento dos músculos esternocleidomastoideo e esternohioideo. Em seguida, a linha mediana será seccionada. Procederemos, então, uma dissecação metódica dos lobos esquerdo e direito da glândula paratireoide com o uso de cotonete úmido em solução fisiológica e tesoura Íris para facilitar a divulsão do plano entre os tecidos e a preservação das estruturas nobres em topografia adjacente (tireoide, nervos laríngeos recorrentes e estruturas vasculares). Após a exérese glandular total, será realizada a aproximação do plano muscular na linha média e sutura contínua, compreendendo a fáscia, em plano único, com fio absorvível de Vicryl™ 4-0 (Ethicon®), além da sutura da pele, em pontos separados, com mononáilon 3-0 (Technofio®).

Período pós-operatório

Após o procedimento cirúrgico, a recuperação dos animais ocorrerá em sala silenciosa, com baixa luminosidade, sendo os animais aquecidos por lâmpada incandescente de 40W, até a completa recuperação anestésica.

A analgesia pós-operatória consistirá na administração de 1 mg/kg de cloridrato de tramadol (Cronidor®) por via intraperitoneal, e de 30 mg/kg de ibuprofeno oral (Alivium®), durante cinco dias, diluído na água do bebedouro. Diariamente, será realizada a inspeção e limpeza da ferida cirúrgica.

Determinação do peso absoluto da glândula paratireoide e do tecido transplantado

Após a paratireoidectomia e o implante autólogo, as glândulas paratireoides serão pesadas e depois, isoladamente, o fragmento a ser implantado. Será determinado o peso absoluto do tecido paratireoidiano (expresso em mg), assim como calculada a porcentagem (%) do material transplantado em relação ao peso total da glândula, mediante o uso de balança digital analítica (Shimadzu AY220®, peso máx. 210 g/0,0001 g, Kyoto, JP). Os valores absolutos serão expressos em miligramas (mg).

Técnica de criopreservação da glândula paratireoide

Após sua remoção, a glândula paratireoide será mantida em solução PBS 1x estéril (pH = 7,4). Em câmara de fluxo laminar, o material será acondicionado em um *ependorf* previamente resfriado em gelo, contendo uma solução nutritiva a 43% de RPMI 1640; 50% de Soro fetal bovino e 7% de DMSO (dimetilsulfóxido) (Sigma-Aldrich®, St. Louis, Mo, US). Em seguida, o *ependorf* com volume de 1,5 ml será colocado no freezer (-4 °C) por 1 hora. Ao final do processo, a amostra será identificada e armazenada por 12 ou 36 dias, em botijão de nitrogênio líquido a -196 °C, de acordo com o grupo experimental.

Visando manter um padrão de qualidade, utilizar-se-á o meio nutritivo do Roswell Park Memorial Institute (RPMI 1640), aplicado na cultura de células humanas que apresentam uma maior exigência nutricional devido à sua maior complexidade, se comparada à célula murina. Todo o processo de criopreservação será realizado em câmara de fluxo laminar, evitando-se a contaminação e perda das amostras. Para maximizar a viabilidade celular durante e após o processo de congelamento, usaremos o dimetilsulfóxido (DMSO) com atuação crioprotetora e que, não obstante associado a uma suposta toxicidade celular, apresenta características higroscópicas as quais agem na extração de água do interior das células.¹⁵

Para o descongelamento, utilizar-se-á o banho Maria a 37 °C, até a amostra alcançar a temperatura ambiente e com a realização de duas lavagens com PBS estéril (0,001 M/pH = 7,4) (método rápido).

Descrição da técnica operatória do transplante paratireoidiano

De acordo com o grupo experimental, o lobo paratireoidiano esquerdo do animal doador, será implantado no terço médio do músculo bíceps femoral da coxa esquerda (transplante autólogo), por meio de incisão longitudinal de 1,5 cm. O lobo contralateral será desprezado. Uma sutura com mononáilon 3-0 (Technofio®) será colocada na bainha do músculo para marcar o local de enxertia, seguida de síntese, por planos, da aponeurose e da pele, com o mesmo fio.

Estudo histológico

Após a eutanásia dos animais por sobredose anestésica, será realizada a exérese do enxerto e, em seguida, sua imersão em paraformaldeído tamponado a 4% por 48 horas. Após desidratação e diafanização, a mesma será colocada em parafina e o bloco de parafina cortado em fragmentos com 4 µm de espessura.

As amostras serão coradas com H&E e os preparados histológicos serão analisados sob microscopia óptica (E200 Nikon®, BR), com ampliações de 200x e 400x no Laboratório de Patologia Veterinária Histovet® (Botucatu, SP, BR).

Exame imunohistoquímico

O exame imunohistoquímico para o marcador molecular de proliferação celular PCNA (*Proliferating cell nuclear antigen*) e para o marcador de apoptose celular (Caspase-3 ativada) será realizado no Laboratório de Patologia Molecular Veterinária VetMoL® (Botucatu, SP, BR).

Serão utilizadas quatro preparações em lâminas silanizadas StarFrost® (Advanced Polycat, Braunschweig, DE) para cada um dos grupos. Os preparados histológicos serão levados à estufa a 57 °C, por 12 horas. A seguir, secções de 4 µm serão desparafinizadas com xilol e reidratadas em álcoois decrescentes (100%, 90% e 70%). A recuperação antigênica do PCNA será realizada com tampão ácido cítrico 0,01M/pH = 6,0 e aquecimento em micro-ondas. A recuperação antigênica da caspase-3 será realizada com tampão A+B (citrato de sódio + ácido cítrico) no *steamer* a 96 °C, durante 20 minutos. A inativação da peroxidase endógena será efetuada com o peróxido de hidrogênio (H₂O₂ a 3%) e metanol. Um segundo bloqueio realizar-se-á com PBS/BSA 5% + tween 0,05% + triton 0,1% + gelatina 0,01%, pH = 7,4, durante 30 minutos. Os cortes serão incubados com anticorpo primário anti-PCNA (anti-PCNA F-2 # E0713 *mouse monoclonal*, Santa Cruz Biotechnology, Santa Cruz, CA, US) ou anti-caspase-3 (anti-casp 3, p11 *mouse monoclonal*, Cat # SC-271759 Santa Cruz Biotechnology, Santa Cruz, CA, US) nas diluições de 1/100 em uma câmara escura, *overnight*, à 4 °C. No dia seguinte, após a lavagem, os cortes serão incubados na câmara escura com o reagente de detecção Histofine® por uma hora e 30 minutos. A atividade da peroxidase será desenvolvida com o substrato DAB durante 5 e 15 minutos (PCNA e caspase-3, respectivamente) e contracorados com Hematoxilina de Harris por 2 minutos. Após lavagens, os cortes serão desidratados em álcoois crescentes, clarificados com xilol e selados em meio de montagem Vectorshield® (Vector Laboratories Inc. US).

O padrão de positividade será baseado no cálculo da imunorreatividade percentual em no mínimo 500 células. Para cada uma das quatro lâminas de cada marcador, realizaremos a contagem de células foliculares positivas, com ampliação de 200x.

Determinação das concentrações séricas de cálcio total, fósforo, vitamina D e paratormônio (PTH)

Em D1 (GC), D42 (GCA) e D66 (GCB), serão determinadas as concentrações séricas de cálcio total (mmol/L), fósforo (mg/dL), vitamina D (ng/mL) e paratormônio (PTH) (pg/mL). Os valores serão expressos segundo o Sistema Internacional de Unidades (*Système International d'Unités*).

Análise estatística

Os achados encontrados nos exames bioquímicos, hormonais, histológicos e imunohistoquímicos serão analisados com o teste não-paramétrico de Kruskal-Wallis, seguido do teste t (Welch) com a correção de Bonferroni, considerando-se um intervalo de confiança de 95% e $p \leq 0,05$. Será usado o software livre Jamovi® (Versão 1.1.9), que tem como base a linguagem estatística R.

RESULTADOS

Com objetivo de embasar o estudo experimental, foi realizada uma revisão narrativa de literatura com busca de artigos nas bases de dados do MEDLINE/PubMed® (National Library of Medicine) e SciELO (Scientific Electronic Library Online). Não houve restrição quanto ao período de publicação ou idioma.

Foi utilizada a seguinte estratégia de busca: “*Parathyroidectomy*” AND “*Autografts*”. Como critérios de inclusão, foram selecionados artigos cujo escopo abordava o transplante autólogo da glândula paratireoide, sua criopreservação e os fatores que afetam a hipofunção do autoimplante paratireoidiano. A busca resultou em 63 artigos. Destes, foram selecionados 15 para análise crítica. A síntese das publicações encontra-se descrita no quadro 1.

Quadro 1. Síntese dos estudos selecionados

Autor/ano	Título	Síntese
Li et al., 2017 ¹⁶	<i>Total parathyroidectomy versus total parathyroidectomy with autotransplantation for secondary hyperparathyroidism: systematic review and meta-analysis.</i>	Trata-se de uma metanálise com objetivo de comparar a segurança e eficácia da paratireoidectomia total e a paratireoidectomia total com autotransplante no tratamento do hiperparatireoidismo secundário. Os autores concluíram que a paratireoidectomia total se mostrou mais eficaz na diminuição do risco de recorrência do hiperparatireoidismo e reoperação em comparação à paratireoidectomia total seguida de implante. No entanto, devido à escassez de ensaios clínicos randomizados com alto poder estatístico, os autores consideram ser necessários estudos comparativos futuros.
Li et al., 2017 ¹⁷	<i>To assess the effects of parathyroidectomy (TPTX versus TPTX+AT) for Secondary Hyperparathyroidism in chronic renal failure: A Systematic Review and Meta-Analysis.</i>	O hiperparatireoidismo secundário (HPTS) que requer paratireoidectomia (PT) ocorre mais comumente em pacientes com doença renal crônica progressiva e naqueles em terapia prolongada com lítio. A PT bem-sucedida frequentemente resulta em uma queda drástica nos níveis de hormônio da paratireoide, alivia os sintomas clínicos do paciente e reduz a mortalidade. No entanto, há um debate em andamento sobre o tratamento cirúrgico ideal para o HPTS. Atualmente, nenhuma diretriz ou ensaio clínico respondeu definitivamente à questão de se a paratireoidectomia total (TPT) é superior ou igual à paratireoidectomia total com autotransplante (PTX + AT). Os achados indicam que a PTX é superior à PTX + AT, no que se refere à taxa de HPTS recorrente. No entanto, essa conclusão precisa ser testada em ensaios confirmatórios de larga escala. A PTX parece ser uma opção terapêutica alternativa viável para o tratamento cirúrgico do HPTS refratário.
Gong et al., 2021 ¹⁸	<i>[Risk factors affecting graft survival after parathyroidectomy and parathyroid autotransplantation in patients on maintenance hemodialysis]</i>	O objetivo do estudo foi o de investigar os fatores de risco que afetam a sobrevida do enxerto autólogo de paratireoide após paratireoidectomia total combinada com transplante autólogo no músculo esternocleidomastoideo (PTX + AT) em pacientes em hemodiálise de manutenção complicada com hiperparatireoidismo secundário (HPTS). A PTX + AT é um tratamento seguro e eficaz para HPTS, e os autoenxertos de paratireoide têm menor probabilidade de sobreviver após o transplante de paratireoide em pacientes com altos níveis pré-operatórios de fosfatase alcalina.
Dreyer et al., 2026 ¹⁹	<i>Parathyroid responsiveness during hypocalcemia after total parathyroidectomy and autotransplantation in patients with renal hyperparathyroidism</i>	O hiperparatireoidismo é uma complicação frequente da doença renal crônica (DRC). A paratireoidectomia total (PTX) com autotransplante (AT) de tecido paratireoideo é uma opção de tratamento para os indivíduos que não respondem ao tratamento clínico. Entre os pacientes com DRC testados de 6 a 12 meses após a cirurgia, o tecido paratireoideo enxertado revelou uma capacidade secretora diminuída durante a hipocalcemia induzida por bicarbonato, sem alterações nos níveis de iPTH.
Chuki et al., 2023 ²⁰	<i>Long-Term Outcomes of Parathyroid Autografts in Primary Hyperparathyroidism</i>	O implante autólogo de tecido paratireoide é frequentemente utilizado após paratireoidectomia em pacientes com formas hereditárias de hiperparatireoidismo primário (HPTP). Dados sobre o resultado funcional a longo prazo desses enxertos são escassos. O objetivo do estudo foi o de investigar os resultados a longo prazo de enxertos autólogos de paratireoide. A recorrência pós-enxerto de HPT ocorre frequentemente na primeira década após o enxerto e é difícil de localizar. O tempo até a recorrência após o enxerto é significativamente menor e o gradiente de PTH é maior para a recorrência relacionada ao enxerto

Steffen et al., 2029 ²¹	<i>Secondary hyperparathyroidism: recurrence after total parathyroidectomy with autotransplantation</i>	O hiperparatireoidismo secundário (HPTS) é comum em pacientes com doença renal crônica terminal. Se a terapia medicamentosa falhar, a paratireoidectomia total com autotransplante de tecido paratireoideo para o antebraço (PTX-AT) é o procedimento mais amplamente utilizado. Altas taxas de recorrência de HPTS após PTX-AT são relatadas na literatura. A recorrência do HPTS após PTX continua sendo um problema, ocorrendo em um em cada cinco pacientes. Em nossa experiência, a introdução da dosagem intraoperatória do PTH ajudou a reduzir as taxas de persistência e recorrência. Reduções adicionais na taxa de recorrência podem ser alcançadas com novas técnicas de imagem pré e intraoperatórias mais precisas.
Neagoe et al., 2026 ²²	<i>Subtotal parathyroidectomy versus total parathyroidectomy with autotransplant in secondary hyperparathyroidism — a single-centre prospective cohort of 43 patients</i>	A necessidade de paratireoidectomia permanece elevada no grupo de pacientes em diálise de longo prazo com hiperparatireoidismo secundário (HPTS) refratário a medicamentos. Nosso objetivo é comparar os resultados após paratireoidectomias subtotais (PT) e paratireoidectomias totais com autotransplante (PT + AT) realizadas para HPTS em um único centro de referência. Em nossa opinião, ambas as técnicas apresentam resultados comparáveis em relação aos desfechos clínicos e laboratoriais e às taxas de hipoparatiroidismo pós-operatório, pelo menos no acompanhamento de curto e médio prazo.
Khalil D & Kerr PD, 2017 ²³	<i>PTH monitoring after total parathyroidectomy with forearm auto-transplantation: potential for spuriously high levels from grafted forearm</i>	Identificamos uma causa para níveis falsamente elevados de hormônio da paratireoide (PTH) após paratireoidectomia total com autotransplante de antebraço (PT-AT). Nossos casos destacam a necessidade de coletar amostras de PTH remotamente, longe dos locais de enxerto do antebraço, para garantir níveis precisos. É possível obter níveis de PTH falsamente elevados a partir de antebraços enxertados, levando ao falso diagnóstico de hiperparatireoidismo recorrente. Recomendamos que os níveis de PTH sejam coletados remotamente dos locais de enxerto para garantir que os níveis sistêmicos precisos sejam refletidos.
Montenegro, 2000 ²⁴	Paratireoidectomia total com ou sem autotransplante no tratamento do hiperparatireoidismo secundário	A progressão do hiperparatireoidismo secundário (HPTS) no doente com insuficiência renal crônica é acompanhada de complicações. Após tentativa de tratamento clínico, pode ser necessária paratireoidectomia (PT). Com o objetivo de analisar a evolução pós-operatória foram estudados 40 casos consecutivos operados por HPT. Em 12 doentes foi realizada PT total sem autotransplante e em 28 casos, a PT total foi associada a autotransplante imediato de paratireoide em músculo do antebraço. O consumo de cálcio, o consumo de calcitriol, a evolução dos sintomas, as dosagens de cálcio, fósforo e fosfatase alcalina foram semelhantes nos dois grupos. Houve maior ocorrência de doença óssea dinâmica e intoxicação por alumínio em casos com nível sérico não detectável do hormônio da paratireoide.
Cohen et al., 2005 ²⁵	<i>Long-term functionality of cryopreserved parathyroid autografts: a 13-year prospective analysis.</i>	Os resultados funcionais do autotransplante heterotópico de paratireoide (CHPA) criopreservado não estão bem definidos. Os autores avaliaram os resultados do CHPA tardio para o tratamento do hipoparatiroidismo induzido cirurgicamente. Com base nesses dados e em estudos anteriores, aproximadamente 60% dos enxertos autólogos de paratireoide criopreservados tardiamente são funcionais. Neste estudo, 40% dos enxertos autólogos (46% dos pacientes) atingiram a competência total sem suplementos. Alguns pacientes apresentam evidências de função do enxerto com níveis normais de PTH, mas não são normocalcêmicos. A duração da criopreservação foi um indicador significativo de falha do enxerto, e nenhum enxerto autólogo funcional foi observado além de 22 meses de preservação. A CHPA é uma modalidade de tratamento útil para pacientes com hipocalcemia pós-operatória após cirurgia de tireoide ou paratireoide, que não respondem ao autotransplante imediato de paratireoide.
Gagné et al. 1992 ²⁶	<i>Short- and long-term efficacy of total parathyroidectomy with immediate autografting compared with subtotal parathyroidectomy in hemodialysis patients</i>	Um estudo retrospectivo foi realizado em pacientes crônicos em hemodiálise comparando paratireoidectomia total (PT) seguida por autoenxerto imediato (AI) (PT total + AI) com paratireoidectomia subtotal (PT subtotal). Em conclusão, embora excelentes resultados a curto prazo tenham sido obtidos com ambos os procedimentos, o controle satisfatório a longo prazo da função da glândula paratireoide foi alcançado em apenas um terço dos pacientes, os outros dois terços permaneceram hipoparatiroides ou desenvolveram hiperparatireoidismo recorrente. Por fim, o subtipo histológico das glândulas paratireoides foi parcialmente preditivo da recorrência do hiperparatireoidismo.

Mozes et al., 1980 ²⁷	<i>Total parathyroidectomy and autotransplantation in secondary hyperparathyroidism</i>	Dezesseis pacientes com insuficiência renal crônica e hiperparatireoidismo secundário sintomático foram submetidos à paratireoidectomia total. Dezesseis a 25 fragmentos de tecido paratireoide medindo 1 mm ³ foram autotransplantados para o músculo braquiorradial. Evidências de “pega” do autotransplante estavam presentes em todos os pacientes, embora quatro pacientes ainda apresentem hipocalcemia e necessitem de suplementação de cálcio e vitamina D. Três pacientes apresentaram diminuição tardia da função do autotransplante. A melhora sintomática ocorreu prontamente em 15 dos 16 pacientes. Dois pacientes com níveis persistentemente elevados de paratormônio foram tratados por excisão parcial do implante, e um paciente cujo autoenxerto funcionou inadequadamente foi tratado com sucesso por implante de tecido paratireoideo autólogo criopreservado. A paratireoidectomia total com autotransplante de fragmentos de paratireoide para o antebraço é o procedimento cirúrgico de escolha para o hiperparatireoidismo secundário.
Ellis, 1988 ²⁸	<i>Fate of long-term parathyroid autografts in patients with chronic renal failure treated by parathyroidectomy: a histopathological study of autografts, parathyroid glands and bone</i>	Quatorze pacientes foram estudados; 106 fragmentos de paratireoide implantados foram identificados em nove na necropsia e nos cinco pacientes restantes múltiplos fragmentos foram obtidos no momento da redução cirúrgica do autoenxerto. Dos pacientes estudados na necropsia, em dois os autoenxertos eram pequenos e hipofuncionais e em um destes os implantes pareciam parcialmente involuídos. Em nenhum deles havia osteíte fibrosa. Nos outros havia graus variados de hiperplasia e osteíte fibrosa. Quatro dos autoenxertos excisados cirurgicamente eram marcadamente hiperplásicos, mas não havia evidência inequívoca de malignidade. Em um caso, que exigiu a redução repetida de tecido de enxerto autólogo de rápido crescimento, houve mitoses frequentes na glândula paratireoide doadora e no enxerto autólogo. A presença de características celulares atípicas e mitoses frequentes em cortes congelados intraoperatórios de uma glândula paratireoide inviabilizam seu uso para implantação.
Santos, 2006 ²⁹	Autotransplante muscular de tecido paratireoideo na região pré-esternal em pacientes com hiperparatireoidismo secundário e terciário	224 doentes renais crônicos foram submetidos a paratireoidectomia total com autotransplante intramuscular pré-esternal. Foram selecionados 65 com informações necessárias e suficientes para obtenção de dados referentes ao período pré-operatório, a cirurgia e ao primeiro ano do pós-operatório. Tivemos 41 doentes com HPTS (26 femininos/15 masculinos), com idade média de 38,6 anos (19 a 70) e 24 com HPTT (13 femininos/11 masculinos), com média de idade de 43,1 anos (24 a 60). Cálcio iônico, Cr (apenas nos transplantados), P, FA, e PTH, além do consumo de Ca e VitD, foram avaliados antes e 1 mês, 6 meses e 1 ano após a cirurgia. PTH rápido intra-operatório foi usado para confirmar remoção total das paratireóides. Houve elevação do nível de PTH ao longo do 10º ano de pós-operatório nos 2 grupos, alcançando a média de 151,5 pg/mL nos doentes com HPTS e 76,13 pg/mL nos HPTT. Reposição oral com Ca e VitD diminuiu 00 longo do 10 ano de pós-operatório nos 2 grupos. Um único paciente apresentou recorrência devido hiperfunção do autotransplante, que foi ressecado sob anestesia local, sem complicações. A avaliação dos pacientes em diálise (HPTS) e transplantados (HPTT) ao longo do tempo, feita com o uso do modelo de análise de variância com medidas repetidas, evidenciou diferenças estatisticamente significativas nos valores de PTH, FA e Ca Via Oral independente do grupo, e do valor de VitD via oral para o grupo diálise. PTH rápido intra-operatório foi efetivo para confirmar remoção total das paratireóides em todos pacientes em que foi utilizado. Concluiu-se que o autotransplante intramuscular de tecido paratireoideo na região pré-esternal e uma opção técnica viável e segura no tratamento cirúrgico de pacientes com hiperparatireoidismo secundário e terciário, sendo tão efetiva quanto as outras opções técnicas de autotransplante disponíveis..
Montenegro et al., 2007 ³⁰	<i>Successful implant of long-term cryopreserved parathyroid glands after total parathyroidectomy</i>	A criopreservação das paratireóides é essencial em alguns casos de cirurgia paratireoidiana. O destino do tecido autoenxertado após criopreservação prolongada não é totalmente discutido na literatura. Relata-se a experiência bem-sucedida com o uso de tecidos paratireóides preservados por 21 e 30 meses. Ambas as pacientes eram mulheres com hiperparatireoidismo renal submetidas à paratireoidectomia total sem autotransplante. A paciente 1 era uma mulher de 40 anos. Aos 21 meses de acompanhamento, seu nível de hormônio da paratireoide (PTH) era indetectável e, apesar da suplementação oral de cálcio, ela apresentava hipocalcemia. Quarenta e cinco fragmentos criopreservados foram descongelados e implantados em seu antebraço. Os níveis de cálcio melhoraram e o PTH aumentou de forma constante em ambos os braços. Os níveis de PTH 18 meses após o autoenxerto foram de 37,0 pg/mL no braço contralateral e 1150,0 pg/mL no braço do implante. A paciente 2 era uma mulher de 44 anos. Após 30 meses, seu PTH estava indetectável e ela foi submetida a implante de tecido criopreservado. Esses casos demonstram que o tecido paratireoideano pode permanecer viável mesmo após armazenamento prolongado.

Fonte: Autores, 2025.

DISCUSSÃO

Alguns estudos concluíram que a paratireoidectomia total se mostrou mais eficaz na diminuição do risco de recorrência do hiperparatireoidismo e reoperação quando comparada à paratireoidectomia total seguida de implante.¹⁶⁻¹⁸

Em relação ao autotransplante, um estudo sobre a paratireoidectomia total combinada com transplante autólogo em pacientes em hemodiálise de manutenção complicada por hiperparatireoidismo secundário, aduziram que o procedimento é seguro, porém os níveis elevados de fosfatase alcalina e a durabilidade do tecido autotransplantado influenciaram negativamente a eficácia do autotransplante.¹⁸

Há relatos de funcionalidade parcial ou falha dos enxertos a longo prazo, além de dificuldades no diagnóstico da recorrência devido à falsas elevações de PTH quando colhido próximo ao local do enxerto. A criopreservação de tecido paratireoideo mostra potencial em alguns casos, mesmo após longos períodos, mas os resultados ainda são inconsistentes.²³

Comparações entre técnicas (paratireoidectomia, paratireoidectomia e autoimplante, autoimplante com criopreservação) demonstram eficácia semelhante no curto e médio prazo, mas apontam diferenças em termos de recorrência, hipoparatiroidismo e necessidade de suplementação.¹⁷⁻²³

Em relação ao estudo experimental, durante a fase de capacitação cirúrgica do grupo de pesquisa, observou-se a dificuldade na identificação anatômica precisa das paratireoides no rato. Para contornar o problema, aventou-se o uso da aplicação de óxido de ferro na glândula tireoidiana, destacando assim a tireoide do tecido paratireoideo.³¹

CONSIDERAÇÕES PRELIMINARES

A paratireoidectomia se mostra mais eficaz em evitar a recorrência do hiperparatireoidismo secundário, mas o autotransplante ainda é uma alternativa viável, especialmente quando se busca manter alguma função glandular. A decisão entre as técnicas deve considerar o perfil do paciente, os riscos de hipoparatiroidismo e a viabilidade de seguimento a longo prazo.

REFERÊNCIAS

1. Yuan H, Zhong Z, Liu Z, Ye Q. Factors influencing the success of cryopreserved parathyroid autotransplantation: A systematic review. *Asian J Surg*. 2023;46(9):3426-3431. doi: 10.1016/j.asjsur.2023.04.032.
2. Shoback D. Clinical practice. Hypoparathyroidism. *N Engl J Med*. 2008;359(4):391-403. doi: 10.1056/NEJMc0803050
3. Guerrero MA. Cryopreservation of parathyroid glands. *Int J Endocrinol*. 2010;2010:829540. doi: 10.1155/2010/829540.
4. Bilezikian JP, Khan A, Potts JJ, et al. Hypoparathyroidism in the adult: epidemiology, diagnosis, pathophysiology, target-organ involvement, treatment, and challenges for future research. *J Bone Miner Res*. 2011;26:2317-37.
5. Leite AKN, Junior CP do N, Arap SS, Massoni L, Lourenço DM, Brandão LG, Montenegro FLM. Successful parathyroid tissue autograft after 3 years of cryopreservation: a case report. *Arq Bras Endocrinol Metab*. 2014;58(3):313-6. Doi: 10.1590/0004-2730000002850
6. Olson, E., Wintheiser, G., Wolfe, K. M., Droessler, J., Silberstein, P. T. Epidemiology of thyroid cancer: a review of the national cancer database, 2000-2013. *Cureus*. 11 (2), e4127 (2019).

7. Du L, Zhao Z, Zheng R, Li H, Zhang S, Li R, Wei W, He J. Epidemiology of Thyroid Cancer: Incidence and Mortality in China, 2015. *Front Oncol.* 2020 Nov 10;10:1702. doi: 10.3389/fonc.2020.01702.
8. Barrios L, Shafqat I, Alam U, Ali N, Patio C, Filarski CF, Bankston H, Mallen-St Clair J, Luu M, Zumsteg ZS, Adashek K, Chen Y, Jain M, Braunstein GD, Sacks WL, Ho AS. Incidental parathyroidectomy in thyroidectomy and central neck dissection. *Surgery.* 2021 May;169(5):1145-1151. doi: 10.1016/j.surg.2020.11.023.
9. Sitges-Serra, A. et al. Inadvertent parathyroidectomy during total thyroidectomy and central neck dissection for papillary thyroid carcinoma. *Surgery.* 161 (3), 712-719 (2017).
10. Sakorafas, GH et al. Incidental parathyroidectomy during thyroid surgery: an underestimated event Complication of thyroidectomy. *World Journal of Surgery.* 29 (12), 1539-1543 (2005).
11. Sahyouni, G. et al. Incidental parathyroidectomy rate in a pediatric population. *OTO Open.* 5 (4), 2473974X211059070 (2021)
12. Andreollo NA, Santos EF, Araújo MR, Lopes LR. Idade dos ratos versus idade humana: qual é a relação?. *Arq. Bras. Cir. Dig.* 2012;25(1). doi: 10.1590/So102-67202012000100011
13. Barreira CESR, Cernea CR, Brandão LG, Custódio MR, Caldini ETEG, Montenegro FLM. Effects of Time on Ultrastructural Integrity of Parathyroid Tissue Before Cryopreservation *World Journal of Surgery,* 2011;35(11):2440-4. doi:10.1007/s00268-011-1261-x
14. Brasil. Ministério da Ciência, Tecnologia e Inovação. Diretrizes da Prática de Eutanásia do Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal – CONCEA. Resolução Normativa CONCEA nº 37, de 15.02.2018. Disponível em: https://antigo.mctic.gov.br/mctic/opencms/legislacao/outros_atos/resolucoes/Resolucao_CONCEA_n_37_de_15022018.html
15. Berz D, McCormack EM, Winer ES, Colvin GA, Quesenberry PJ. Cryopreservation of hematopoietic stem cells. *Am J Hematol.* 2007 Jun;82(6):463-72. doi: 10.1002/ajh.20707.
16. Li C, Lv L, Wang H, Wang X, Yu B, Xu Y, Zhou X, Zhou Y. Total parathyroidectomy versus total parathyroidectomy with autotransplantation for secondary hyperparathyroidism: systematic review and meta-analysis. *Ren Fail.* 2017 Nov;39(1):678-687. doi: 10.1080/0886022X.2017.1363779.
17. Liu ME, Qiu NC, Zha SL, Du ZP, Wang YF, Wang Q, Chen Q, Cen XX, Jiang Y, Luo Q, Shan CX, Qiu M. To assess the effects of parathyroidectomy (TPTX versus TPTX+AT) for Secondary Hyperparathyroidism in chronic renal failure: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Int J Surg.* 2017 Aug;44:353-362. doi: 10.1016/j.ijssu.2017.06.029.
18. Gong W, Xie Y, Lin Y, Meng Z, Wang Y. [Risk factors affecting graft survival after parathyroidectomy and parathyroid autotransplantation in patients on maintenance hemodialysis]. *Nan Fang Yi Ke Da Xue Xue Bao.* 2021 Jun 20;41(6):947-952. Chinese. doi: 10.12122/j.issn.1673-4254.2021.06.20.
19. Dreyer P, Ohe MN, Santos LM, Kunii IS, Santos RO, Carvalho AB, Vieira JG. Parathyroid responsiveness during hypocalcemia after total parathyroidectomy and autotransplantation in patients with renal hyperparathyroidism. *J Bras Nefrol.* 2016 Jun;38(2):183-90. English, Portuguese. doi: 10.5935/0101-2800.20160027.
20. Chuki E, Graf A, Ninan A, Tora R, Abijo T, Bliss L, Nilubol N, Weinstein LS, Agarwal SK, Simonds WF, Jha S. Long-Term Outcomes of Parathyroid Autografts in Primary Hyperparathyroidism. *J Endocr Soc.* 2023 Apr 22;7(5):bvad055. doi: 10.1210/jendso/bvad055.
21. Steffen L, Moffa G, Müller PC, Oertli D. Secondary hyperparathyroidism: recurrence after total parathyroidectomy with autotransplantation. *Swiss Med Wkly.* 2019 Dec 4;149:w20160. doi: 10.4414/smww.2019.20160.
22. Neagoe RM, Mureșan M, Voidăzan S, Pașcanu I, Radu CP, Sala DT. Subtotal parathyroidectomy versus total parathyroidectomy with autotransplant in secondary hyperparathyroidism — a single-centre prospective cohort of 43 patients. *Endokrynol Pol.* 2016;67(2):202-9. doi: 10.5603/EP.a2016.0013.

23. Khalil D, Kerr PD. PTH monitoring after total parathyroidectomy with forearm auto-transplantation: potential for spuriously high levels from grafted forearm. *J Otolaryngol Head Neck Surg.* 2017 Jun 23;46(1):49. doi: 10.1186/s40463-017-0226-y.
24. Montenegro FLM. Paratireoidectomia total com ou sem autotransplante no tratamento do hiperparatireoidismo secundário. São Paulo, 2000. Tese (Doutorado), Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo. 167p.
25. Cohen MS, Dilley WG, Wells Jr SA. Long-term functionality of cryopreserved parathyroid autografts: a 13-year prospective analysis. *Surgery.* 2005;138:1003-41.
26. Gagné ER, Ureña P, Leite-Silva S, Zingraff J, Chevalier A, Sarfati E, Dubost C, Drüeke TB. Short- and long-term efficacy of total parathyroidectomy with immediate autografting compared with subtotal parathyroidectomy in hemodialysis patients. *Am Soc Nephrol.* 1992;3(4):1008-17.
27. Mozes MF, Soper WD, Jonasson O, Lang GR. Total parathyroidectomy and autotransplantation in secondary hyperparathyroidism. *Arch Surg.* 1980;115:378-85
28. Ellis HA. Fate of long-term parathyroid autografts in patients with chronic renal failure treated by parathyroidectomy: a histopathological study of autografts, parathyroid glands and bone. *Histopathology.* 1988;13:289-309.
29. Santos RO. Autotransplante muscular de tecido paratireóideo na região pré-esternal em pacientes com hiperparatireoidismo secundário e terciário. Tese [Doutorado]. Universidade Federal de São Paulo. 2006. 133p.
30. Montenegro FLM, Custodio MR, Arap SS, Reis LM, Sonohara S, Castro IV, Jorgetti V, Cordeiro AC, Ferraz AR. Successful implant of long-term cryopreserved parathyroid glands after total parathyroidectomy. *Head Neck.* 2007;29:296-300.
31. Chen F, Liu C, Guo P, Zheng W. Establishment of a Simple and Effective Rat Model for Intraoperative Parathyroid Gland Imaging. *J. Vis. Exp.* (186), e64222, doi:10.3791/64222 (2022).

ESTUDO DA SUPRESSÃO DOS HORMÔNIOS TIREOIDIANOS NOS ÓRGÃOS REPRODUTORES MASCULINOS DE RATOS WISTAR

Carina Teixeira Ribeiro, Maria Eduarda Monteiro Silva, Maria Julia Desouzart de Aquino Viana, Bruna Silveira de Oliveira, Juliana Jesus de Monteiro Alves

RESUMO

Os hormônios tireoidianos são essenciais para a manutenção do bom funcionamento do organismo, de modo que sua desregulação pode provocar consequências severas para a saúde e bem-estar do animal. Esses hormônios são fundamentais para a regulação e funcionamento do sistema reprodutor, portanto, casos de endocrinopatias como o hipotireoidismo, um distúrbio que ocasiona a queda na produção e secreção desses hormônios, podem provocar alterações na fertilidade e no comportamento do animal. A partir do cenário apresentado, infere-se que a análise dos impactos de uma supressão dos hormônios tireoidianos, mais especificamente o T3 e T4 no aparelho reprodutor masculino é de suma importância, uma vez que o hipotireoidismo é a endocrinopatia que mais acomete cães e poderá esclarecer as possíveis consequências provocadas em animais acometidos por esta. Para simular essa supressão, iremos realizar um experimento em 20 ratos machos da linhagem Wistar (*Rattus norvegicus albinus*) de três meses de idade, que serão divididos em dois grupos, o Grupo I passará por uma tireoidectomia, enquanto o Grupo II será o grupo controle. Após três meses da realização da cirurgia, procederemos com a eutanásia dos animais. Em seguida, será realizada a coleta de uma amostra sanguínea para investigação de possíveis mudanças nos níveis séricos dos hormônios gonadotróficos e tireoidianos, ademais, também será efetuada clivagem da cauda do epidídimo a fim de coletar espermatozoides para a realização do teste hiposmótico. Outrossim, iremos recolher a próstata e pênis para uma análise histomorfológica desses tecidos. Os resultados obtidos serão organizados em tabelas para que possam ser analisadas as diferenças entre o Grupo I e o Grupo II. Ao fim do estudo, espera-se que sejam observadas variações hormonais, histomorfométricas e nos parâmetros dos espermatozoides relacionadas a supressão dos hormônios tireoidianos, evidenciando seus efeitos no aparelho reprodutor masculino.

Palavras-chave: Tireoidectomia; T3 e T4; função reprodutiva.

INTRODUÇÃO

Os hormônios tireoidianos desempenham um papel fundamental na regulação do metabolismo, crescimento e diferenciação celular em diversos tecidos do organismo. Além de suas funções clássicas sobre o metabolismo energético e termorregulação, evidências crescentes indicam que esses hormônios também exercem influência significativa sobre o sistema reprodutor masculino, modulando processos como espermatogênese, desenvolvimento dos órgãos genitais e seu funcionamento. A disfunção tireoidiana, caracterizada por estados de hipo- ou hipertireoidismo, pode resultar em alterações reprodutivas que afetam diretamente a fertilidade masculina. Em particular, o hipotireoidismo tem sido associado à redução dos níveis séricos de testosterona, diminuição da atividade das células de Leydig e alterações morfofuncionais nos órgãos-alvo androgênio-dependentes, como próstata e pênis. Essas alterações podem comprometer a funcionabilidade do pênis, a secreção prostática e, consequentemente, a capacidade reprodutiva. Diante disso, compreender de que forma a supressão dos hormônios tireoidianos afeta o desenvolvimento e a integridade dos órgãos reprodutores masculinos torna-se essencial para ampliar o entendimento das interações entre o sistema endócrino e a função sexual.

JUSTIFICATIVA

O estudo da influência da supressão dos hormônios tireoidianos é fundamental para compreender os mecanismos fisiopatológicos orgânicos e metabólicos envolvidos, especialmente no que se refere aos impactos sobre os órgãos reprodutores masculinos. Essa abordagem tem como principal objetivo elucidar as consequências fisiológicas e metabólicas decorrentes do déficit hormonal tireoidiano, o que é essencial para conduzir intervenções eficazes frente às endocrinopatias e adaptar condutas terapêuticas em diferentes espécies. Evidências preliminares indicam que as disfunções hormonais, mais especificamente tireoidianas podem exercer influência significativa sobre a saúde reprodutiva do animal. A investigação detalhada desses efeitos em ratos pode oferecer subsídios relevantes para entender como o hipotireoidismo compromete os órgãos reprodutores masculinos. Essa análise é essencial para subsidiar o desenvolvimento de estratégias voltadas à mitigação dos impactos e à promoção do bem-estar de animais afetados por tal endocrinopatia.

OBJETIVOS

Objetivo geral:

O presente trabalho procura analisar e realizar um compreensível estudo quanto as influências da supressão dos hormônios tireoidianos nos órgãos do sistema reprodutor masculino com ratos Wistar (*Rattus norvegicus albinus*).

Objetivos específicos:

- Descrever histologicamente os impactos da supressão dos hormônios tireoidianos no pênis e próstata.
- Analisar as implicações da supressão dos hormônios tireoidianos sobre os parâmetros espermáticos: motilidade, viabilidade e concentração dos espermatozoides.
- Interpretar os efeitos da repressão dos hormônios tireoidianos nos níveis dos hormônios androgênicos e cálcio séricos.

REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

Os hormônios tireoidianos, Triiodotironina (T3) e Tiroxina (T4) desempenham um papel essencial na manutenção do metabolismo corpóreo e agem como reguladores de diversas funções do organismo (Duke, 2017; Guyton & Hall, 2021). A desregulação desses hormônios pode comprometer diversas áreas do organismo, não apenas em processos metabólicos gerais, como ocorre no caso do hipotireoidismo (Cunningham et al., 2019; Johnston et al., 2001).

O hipotireoidismo, é um distúrbio endócrino que consiste na diminuição da produção e secreção dos hormônios tireoidianos. Esse transtorno é a endocrinopatia que mais aflige cães no mundo, logo é de suma importância a compreensão dos efeitos dessa disfunção hormonal no organismo dos animais acometidos por ela (Feldman et al., 2014).

Ademais, os hormônios tireoidianos exercem um papel essencial na regulação dos mecanismos reprodutivos femininos e masculinos, influenciando a maturação gonadal, produção hormonal e integridade fisiológica dos órgãos sexuais (Cunningham et al., 2019; Dukes, 2017). A irregularidade nos níveis hormonais de T3 e T4, como no hipotireoidismo, são capazes de desencadear alterações anatômicas e fisiológicas em órgãos gonadais, como a próstata e pênis, induzindo a distúrbios reprodutivos nos animais acometidos com esta endocrinopatia. (Johnston et al., 2001; Pineda; Dooley; 2008).

Estudos evidenciam os impactos da supressão destes hormônios no sistema reprodutor masculino, descrevendo uma relação do funcionamento do eixo hipotálamo-hipófise-gonadal (HHG), modulando a secreção de hormônios sexuais e provocando a diminuição espermatogênica, levando a um quadro de infertilidade no animal (Cunningham, 2019; Johnston et al., 2001). Também foram documentados a presença de receptores de Triiodotironina (T3) em células localizadas no epidídimo, órgão em que ocorre a maturação dos espermatozoides e desenvolvem a motilidade (Pineda; Dooley; 2008; Rocha; Papa, 2012).

Os ratos Wistar, são amplamente utilizados como modelos experimentais em pesquisas científicas dado à sua semelhança fisiológica com humanos e outros animais, além de possibilitar um controle mais rigoroso das variáveis experimentais (Ferreira; Ferreira, 2003). A literatura apresenta resultados variados sobre como a ausência dos hormônios tireoidianos interfere na morfologia e função dos órgãos sexuais masculinos, ressaltando a complexidade dessa interação.

MÉTODOS

Considerações éticas

Este projeto faz parte de um estudo experimental aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais do Centro Universitário Serra dos Órgãos (CEUA – UNIFESO) em 05 de março de 2024, sob o número CEUA nº 569/2024.

Amostra

Para o desenvolvimento do projeto, será utilizado uma amostra de 20 ratos machos da linhagem Wistar. As amostras serão mantidas no Laboratório de Ciência Animal do Centro Universitário Serra dos Órgãos – UNIFESO sob ciclo circadiano, que consiste em manter os animais 12 horas na claridade e 12 horas na escuridão, além de seguir uma dieta balanceada e serem mantidos em um ambiente climatizado. Ao completar três meses, os ratos serão divididos em dois grupos, Grupo I – grupo cirúrgico e Grupo II – grupo controle, onde o Grupo I passara pela tireoidectomia e os animais do Grupo II serão anestesiados, a fim de simular algumas das condições que os ratos do grupo cirúrgico serão expostos.

Técnica cirúrgica

A fim de facilitar o manejo e garantir a segurança durante a manipulação, os animais serão individualmente alocados na câmara de indução anestésica com uma gaze molhada com isoflurano 10% até a redução dos reflexos e início do sono artificial, em seguida serão pesados, devidamente numerados e por via intraperitoneal, na região abdominal caudal direita, será administrado como anestésico geral a associação dos fármacos cloridrato de cetamina a 10% (100 mg/kg) e cloridrato de xilazina a 2% (10 mg/kg). Após a administração do anestésico geral, será realizada a tricotomia da região infrahióidea, em sequência a antissepsia e assepsia da região com auxílio do degermante digluconato de clorexidina a 2% e solução de iodo povidona a 10%, conforme recomendação da literatura para preparo cutâneo pré-procedimento.

A tireoidectomia será realizada com auxílio de uma plataforma cirúrgica criada pelo aluno Pedro Augusto da Costa, discente do curso de biomedicina do UNIFESO, na qual serão acoplados dispositivos de ampliação visual, como lupa, foco cirúrgico e microscópio digital. Essa adaptação permitiu melhor visualização do campo operatório, contribuindo para maior precisão e redução do tempo cirúrgico.

Além disso, será utilizado um afastador específico para região e espécie confeccionado pelo Prof. Marcel Vasconcellos, que facilitará o acesso à região cervical durante o procedimento.

A abordagem cirúrgica terá início com uma incisão vertical na região cervical ventral na linha média do pescoço, seccionando os tecidos circundantes e realizando o afastamento dos músculos para exposição da traqueia e tireoides. Em seguida, a tireoide será meticulosamente dissecada de sua aderência à traqueia até sua completa retirada. O procedimento é finalizado com a síntese da ferida cirúrgica, primeiro realizando uma sutura contínua simples para síntese da musculatura e em seguida, pontos simples para síntese dos tecidos adjacentes e subcutâneos.

Após o procedimento cirúrgico, administraremos 0,2 ml de tramadol e dipirona gotas ao Grupo I, por um período de 3 dias. O tramadol será administrado a cada 24 horas e a dipirona gotas será diluída na água e disponibilizada a vontade aos animais, utilizamos uma diluição de 1 gota a cada 100ml.

Grupo Controle

Os animais do grupo controle serão submetidos ao mesmo protocolo anestésico do grupo cirúrgico, porém não serão expostos ao processo operatório. Apesar de considerada a possibilidade da execução de cirurgias de placebo, optou-se por não as realizar, com o intuito de evitar uma exposição a riscos desnecessários e preservar o bem-estar animal.

Eutanásia

Após três meses da realização do procedimento cirúrgico, a eutanásia será realizada de acordo com as práticas do Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal – CONCEA. Os sujeitos experimentais serão eutanasiados com uma sobredose da associação de cetamina 10% e xilazina 2% de três vezes a dose recomendada dos anestésicos, por via intraperitoneal. Após a administração dos fármacos, serão coletadas amostras sanguíneas por punção via intracardiaca. Em seguida, realizaremos uma incisão na parede abdominal para acessar o diafragma e em sequência a perfuração dessa estrutura para indução à parada cardiorrespiratória e confirmação do óbito, conforme preconizado pelos princípios éticos para procedimentos terminais em experimentação animal. Ao finalizar a coleta dos materiais necessários para análise, as carcaças serão devidamente descartadas, ensacadas em sacos hermeticamente fechados.

Coleta dos materiais

Após confirmado o óbito dos sujeitos experimentais, realizaremos uma laparotomia mediana total, a fim de coletar os materiais necessários para análise. Serão coletados os testículos, epidídimo, próstata, pênis, vesícula seminal e bexiga dos animais. Os testículos serão evidenciados a partir da tração dos cordões espermáticos, e em seguida será seccionado das estruturas adjacentes, que consistia no epidídimo e cordão espermático. A próstata, vesícula seminal e bexiga serão seccionadas em conjunto após a coleta dos testículos. O pênis será a última estrutura coletada, seccionado da base peniana. Todas as estruturas coletadas serão postas em potes individuais com formalina a 10%. Ademais, os epidídimos serão imediatamente clivados a fim de realizar a análise de motilidade e viabilidade espermática. A amostra sanguínea coletada via intracardiaca será centrifugada, o soro será cuidadosamente pipetado para Eppendorfs e serão mantidos sob refrigeração até o momento da análise hormonal.

Avaliações biométricas

Os testículos, após serem coletados, serão submetidos ao teste de Scherle, a fim de estimar o volume testicular. O teste de Scherle consiste em submergir o testículo em um béquer repleto de água destilada com o auxílio de uma estrutura metálica adicional, a fim de suspender o testículo durante a mensuração. Os materiais empregados para a realização deste teste serão, uma balança, um béquer repleto de água destilada posicionado sobre a balança, uma grade metálica de suporte disposta na vertical ao lado do béquer, com a funcionalidade de sustentar uma estrutura metálica adicional, composta por um cabo e uma estrutura côncava com malha fina, toda metálica, pensada como meio de suspensão do testículo, para que este não tocasse nas paredes e fundo do béquer. O testículo envolto por uma gaze, a fim de evitar danos teciduais, será suspenso pela estrutura metálica e inteiramente submerso em água destilada, em que o peso registrado na balança tarada seria utilizado para o cálculo de volume, considerando a densidade da água como na unidade de referência, ou seja, $d=1\text{ g/ml}$. O teste de Scherle se baseia no princípio de Arquimedes, em que é possível calcular a densidade de um objeto submerso a partir do deslocamento do líquido.

Avaliações dos espermatozoides Após a coleta, a cauda do epidídimo será clivada em cinco fragmentos para realizar a coleta dos espermatozoides, estes que serão postos em um tubo Falcon e sequentemente homogeneizados em uma solução espermática composta por tampão fosfato-salino (PBS) com 0,5% de albumina de soro bovino (BSA), aquecida a 37°C. Em seguida, para a avaliação da concentração espermática será pipetado 10ul desta solução e diluída em dois Eppendorfs contendo PBS/BSA 0,5% também aquecida a 37 °C em concentrações diferentes, o primeiro Eppendorf na proporção de 1:3 e o segundo 1:4. Posteriormente, a solução resultante será levada até a câmara de Neubauer em microscopia ótica na objetiva de imersão, com câmara acoplada para realizar a contagem dos espermatozoides. A contagem será realizada a partir do número de espermatozoides observados nos quadrantes da câmara de Neubauer, além disso, as diluições serão consideradas para o cálculo de concentração final. Quanto a motilidade, os espermatozoides inertes serão subtraídos do total para que pudesse determinar a quantidade de espermatozoides móveis. Para avaliar a viabilidade espermática, será realizado o teste hipo-osmótico, que consiste em diluir a solução espermática em uma solução de citrato de sódio e frutose, neste experimento utilizou-se do produto BotuSêmenGold da Botupharma, que é composto por colesterol e caseína, com o objetivo de viabilizar os espermatozoides por mais tempo para um transporte seguro. No experimento, utilizamos esse produto para realizar o teste hipo-osmótico, onde após homogeneizadas as soluções, serão incubadas a 37 °C durante meia hora. Em seguida, será levada para observação na microscopia óptica, onde apenas as células com caudas dobradas serão consideradas viáveis. A viabilidade espermática é calculada a partir da porcentagem de espermatozoides viáveis em relação ao total observado.

Análises histomorfométricas

Seguidamente da eutanásia, serão extraídos os órgãos de interesse ao presente estudo, que consiste em órgãos reprodutores masculinos, ou seja, próstata e pênis. Os órgãos serão fixados em potes individuais contendo formalina, onde serão processados para inclusão de parafina e secções desta em unidades de 5 μm . Fez-se uso dos corantes hematoxilina e eosina para corar as lâminas, com isso será possível realizar as seguintes análises:

- Mensurar a altura do epitélio da próstata de cada rato com o auxílio do *software ImageJ*.
- Será realizado um cálculo medidor quanto a altura do epitélio da uretra e a circunferência do corpo cavernoso e esponjoso do pênis.

Exames laboratoriais

A dosagem sérica hormonal também será realizada utilizando kits específicos para cada hormônio. No total, realizamos a dosagem hormonal de 5 hormônios, o T3 total, T4 livre, TSH, Testosterona e Estradiol.

Análise dos dados

Após a finalização dos testes e métodos, os resultados encontrados serão tabelados, analisados e calculados em uma média para cada parâmetro, a fim de comparar os resultados via teste t de Student não pareado, não paramétricos. Logo, o objetivo de evidenciar possíveis alterações no sistema reprodutor masculino em um animal com hipotireoidismo será cumprido. O software GraphPad Prism 5.0 (GraphPad Software, San Diego, EUA) será responsável pela análise dos resultados, em que as variações serão consideradas significativas quando atingiam $p < 0,05$. Os resultados serão expressos, em totalidade como média e desvio padrão.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Até o momento, as etapas previstas no cronograma foram realizadas conforme o planejado. Os animais do grupo cirúrgico passaram pela tireoidectomia, enquanto os do grupo controle foram apenas anestesiados, seguindo o mesmo protocolo anestésico. Após três meses, realizamos a eutanásia dos animais e a coleta dos materiais biológicos. Foram retirados pênis, próstata, testículos, epidídimos e amostras sanguíneas. Os testículos foram pesados e avaliados quanto à densidade pelo método de Scherle. O epidídimo foi clivado em solução nutritiva e dividido em duas amostras, com diluições de 1:3 e 1:4, para análise espermática. Essas amostras foram observadas na câmara de Neubauer, e vídeos foram gravados para permitir uma análise futura mais detalhada da motilidade e da viabilidade dos espermatozoides. Os órgãos coletados foram fixados individualmente em formol a 10% e encaminhados para processamento histológico. As amostras foram incluídas em blocos de parafina, cortadas e coradas, de forma que parte das lâminas já se encontram prontas, enquanto outras ainda estão em preparação. Apesar de algumas lâminas já

estarem confeccionadas e prontas para leitura, a análise ainda não foi realizada e será feita na próxima etapa do projeto. As amostras sanguíneas foram centrifugadas, e o soro resultante foi separado em Eppendorfs individuais, que permanecem armazenados no freezer até a realização das análises hormonais. Portanto, já concluímos grande parte do desenvolvimento do projeto, os próximos passos incluem a análise histológica dos tecidos, a interpretação dos vídeos para avaliação da motilidade e viabilidade espermática, bem como as análises hormonais. A partir desses resultados será possível discutir com maior profundidade os efeitos da supressão dos hormônios tireoidianos sobre os órgãos reprodutores masculinos, principalmente o pênis e a próstata.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Este trabalho encontra-se em andamento e, até o momento, todas as etapas iniciais foram concluídas com sucesso, incluindo a cirurgia, o acompanhamento dos animais, a eutanásia e a coleta dos materiais biológicos. Embora os resultados ainda não tenham sido analisados, as amostras obtidas foram devidamente preparadas e armazenadas, garantindo a continuidade da pesquisa. A próxima fase, que envolve análises histológicas, hormonais e espermáticas, será essencial para compreender os efeitos da supressão dos hormônios tireoidianos sobre os órgãos reprodutores masculinos de ratos Wistar, especialmente o pênis e a próstata.

REFERÊNCIAS

- CUNNINGHAM, J. G.; KLEIN, B. G.; DYREND AHL, D. R. Tratado de Fisiologia Veterinária. 6. ed. El sevier, 2019.
- DUKES, H. H. Fisiologia dos Animais Domésticos 13. ed. Rio de Janeiro: Roca, 2017.
- DYCE, K. M.; SACK, W. O.; WENSING, C. J. G. Tratado de Anatomia Veterinária. 5. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2021.
- EVANS, H. E.; CHRISTENSEN, G. C. Miller's Anatomy of the Dog. 4. ed. Elsevier, 2013.
- FELDMAN, E. C. et al. Canine and Feline Endocrinology. 4. ed.; Londres, England: W B Saunders, 2014. p.77-212.
- FERREIRA LM, FERREIRA LRK. Experimental model: historic and conceptual revision. Acta Cir Bras. 2003;18:1-3 GUYTON, A. C.; HALL, J. E Tratado de Fisiologia Médica. 14. ed. Rio de Janeiro: GEN Guanabara Koo gan, 2021. 1120 p.
- HARDY, M. P.; KIRBY, J. D.; HESS, R. A.; COOKE, P. S. Leydig cells increase their numbers but decline in steroidogenic function in the adult rat after neonatal hypothyroidism. Endocrinology, v. 132, p. 2417–2420, 1993.
- HOLSBERGER, D. R.; COOKE, P. S. Understanding the role of thyroid hormone in Sertoli cell development: a mechanistic hypothesis. Cell and Tissue Research, v. 322, p. 133–140, 2005.
- JOHNSTON, S. D.; ROOT KUSTRITZ, M. V.; OLSON, P. N. S. Canine and Feline Theriogenology. Saunders Elsevier, 2001.
- MULLUR, R.; LIU, Y.-Y.; BRENT, G. A. Thyroid hormone regulation of metabolism. Physiological reviews, v. 94, n. 2, p. 355–382, 2014.
- NELSON, R.W.; COUTO, G.C. Small Animal Internal Medicine. 5ª ed. St. Louis: Elsevier, 2013, p. 743 748). 1154
- PINEDA, M.; DOOLEY, M. P.; Veterinary Endocrinology and Reproduction. McDonald's 5. ed. 2008.
- RIBEIRO, C. T.; COSTA, W.S.; SAMPAIO, F. J. B.; PEREIRA-SAMPAIO, M. A.; DE SOUZA, D. B. Evaluation of the effects of chronic stress applied from the prepubertal to the adult stages or only during adulthood on penile morphology in rats. Stress, v. 22, n. 2, p. 248–255, 2019.
- RIBEIRO, C. T.; DE SOUZA, D. B.; COSTA, W. S.; SAMPAIO, F. J. B.; PEREIRA-SAMPAIO, M. A. Immediate and late effects of chronic stress in the testis of prepubertal and adult rats. Asian Journal of Andrology, v. 20, n. 4, p. 385–390, 2018.
- RIBEIRO, C. T.; MILHOMEM, R.; DE SOUZA, D. B.; COSTA, W. S.; SAMPAIO, F. J.; PEREIRA-SAMPAIO, M. A. Effect of antioxidants on outcome of testicular torsion in rats of different ages. Journal of Urology, v. 191, n. 5 Suppl., p. 1578–1584, 2014.

ROCHA A.S., PAPA F.O. et al. Efeitos do hipotireoidismo no sistema reprodutor masculino. Vet e Zootec. 2012 set.; 19(3): 294-302.

SCHERLE, W. A simple method for volumetry of organs in quantitative stereology. Mikroskopie, v. 26, n. 1, p. 57–60, jun. 1970.

TEERDS, K. J.; DE ROOIJ, D. G.; DE JONG, F. H.; VAN HAASTER, L. H. Development of the adult type Leydig cells cell population in the rat is affected by neonatal thyroid hormone levels. Biology of Reproduction, v. 59, p. 344–350, 1998.

WAYNFORTH, H. B.; FLECKNELL, P. A. Thyroidectomy (thyroparathyroidectomy). In: JONES, W. J. (Ed.). Experimental and Surgical Technique in the Rat. Academic Press, 1992. p. 310–312.

TÉCNICA OPERATÓRIA MODIFICADA DE MIECTOMIA TOTAL E AVALIAÇÃO DIAGNÓSTICA POR BIOMICROSCOPIA ULTRASSÔNICA ENDOLUMINAL EM RATOS

Amanda Matias Bezerra, Raphaela Valente de Almeida Ito, Pedro Filipe Campos Rampini, Ricardo Maia Cruz Brazuna, Júlia Gonçalves de Marina, Giovana Monteiro Martins Teixeira, Vanessa Henriques Novaes da Silva, Valéria Cristina Lopes Marques, Marcel Vasconcellos, João Carlos Machado

RESUMO

Introdução: A Doença do Refluxo Gastroesofágico (DRGE) apresenta estreita relação com o câncer, em especial por configurar um importante fator de risco para o desenvolvimento do adenocarcinoma esofágico. Essa associação ocorre de forma indireta e progressiva, mediante modificações crônicas da mucosa esofágica. O avanço de tecnologias de imagem, como a biomicroscopia ultrassônica endoluminal (BMUe), capaz de produzir imagens em tempo real com resolução comparável à da microscopia óptica panorâmica, oferece ao endoscopista maior precisão diagnóstica, favorecendo a detecção precoce e, consequentemente, a precocidade no tratamento. **Objetivos:** Estabelecer um modelo experimental de refluxo gastroesofágico em ratos, utilizando a biomicroscopia ultrassônica endoluminal (BMUe) em associação à endoscopia convencional. **Métodos:** O estudo foi aprovado pelo CEUA/UNIFESO (n.º 521/2021) e realizado com 36 ratos Wistar, distribuídos em três grupos: Grupo Controle (GC, n = 12), sem intervenção cirúrgica, submetidos apenas à aquisição de imagens do esôfago; Grupo Simulação (GS, n = 12), submetidos à simulação cirúrgica de miectomia total e vagotomia troncular, seguida de aquisição de imagens ultrassônicas e endoscópicas; e Grupo Refluxo Gastroesofágico (GRGE, n = 12), submetidos à miectomia total da junção gastroesofágica, com posterior aquisição de imagens. **Resultados:** A combinação do ultrassom de alta frequência (BMUe) com a endoscopia convencional possibilitou a análise simultânea da mucosa esofágica e das diferentes camadas estruturais da parede do esôfago. **Conclusão:** O estudo validou um modelo cirúrgico de refluxo gastroesofágico crônico, evidenciando achados histológicos e ultrassonográficos característicos nos diferentes grupos experimentais.

Palavras-chave: Neoplasias esofágicas; Ultrassom; Diagnóstico por imagem; Ratos Wistar.

INTRODUÇÃO

O desenvolvimento de modelos experimentais cirúrgicos que reproduzam aspectos fisiopatológicos e moleculares da sequência metaplasia–displasia–adenocarcinoma se mostra crucial em estudos sobre o câncer esofágico.¹

Nesse aspecto, uma grande variedade de animais tem sido utilizada, porém, somente os ratos (*Rattus norvegicus*) fornecem evidências seguras da progressão da metaplasia intestinal para o carcinoma *in situ* após uma intervenção cirúrgica.²

Os modelos cirúrgicos de refluxo gastroesofágico em ratos são classificados em modelos de refluxo controlado e modelos de refluxo não controlado, sendo que estes últimos se baseiam no *bypass* cirúrgico ou na destruição dos mecanismos antirrefluxo existentes.

No que se refere aos modelos cirúrgicos encontrados na literatura, estes demonstram uma taxa elevada de mortalidade pós-operatória decorrente, sobretudo, de anastomoses intestinais.²⁻⁹

Com base nos modelos cirúrgicos encontrados na literatura, optou-se por reproduzir a técnica operatória de miectomia total associada à vagotomia troncular, descrita por Gaia Filho¹⁰. Esta apresenta uma probabilidade reduzida de óbitos por broncoaspiração e tempo de sobrevida após o procedimento de 30 dias.

Considerando que o objetivo do presente estudo era o de desenvolver um modelo de refluxo gastroesofágico crônico, com tempo de sobrevida pós-operatório suficiente para que as alterações estruturais do Esôfago de Barrett (EB) se desenvolvessem, tornou-se necessária a modificação da técnica originalmente descrita.

OBJETIVOS

Desenvolver um modelo cirúrgico do refluxo gastroesofágico crônico em ratos (*Rattus norvegicus*).

MÉTODOS

A Comissão de Ética no Uso de Animais—UNIFESO, aprovou o estudo sob o protocolo n.º 525/2021.

Caracterização da Amostra

Foram utilizados 36 ratos machos da linhagem Wistar (*Rattus norvegicus*), com média de idade de três meses e peso corporal de 300 ± 50 g, provenientes da Instalação de Ciência Animal do UNIFESO. Os animais foram mantidos em condições ambientais controladas, alojados em gaiolas com ventilação adequada (15–25 renovações de ar por hora), com densidade de até quatro indivíduos por unidade. O ambiente experimental foi submetido a ciclo de iluminação de 12 horas claro/12 horas escuro, temperatura de 22 ± 2 °C e umidade relativa de $55 \pm 5\%$. O manejo incluiu fornecimento de dieta padronizada (ração Nuvilab CR-1 Irradiada, Quimtia®, PR, Brasil), higienização regular e acesso irrestrito à água.

Desenho do estudo experimental

Após a randomização simples por meio de editor Excel®, os animais foram distribuídos em dois grupos:

I) Grupo Controle (GC, n = 12); animais hígidos, sem procedimento cirúrgico, alimentados com ração industrializada. Aos 75 dias, os animais foram eutanasiados com sobredose anestésica, em seguida realizou-se a coleta de espécimes esofágicos, procedendo-se a exames histológicos.

II) Grupo Simulação (GS, n = 12), simulação do procedimento de miectomia total e vagotomia troncular, seguida da aquisição de imagens ultrassônicas e endoscópicas

III) Grupo Refluxo Gastroesofágico (GRG, n = 12); submetidos à técnica operatória modificada de miectomia total e vagotomia troncular.

Após 75 dias (t=75), todos os animais dos experimentais foram eutanasiados e colhidos espécimes esofágicos para estudo histológico.

Avaliação pré e pós-operatória

O peso corporal dos animais foi aferido no início do experimento (t=0) e na 10ª semana (t=75), em ambos os grupos.

Descrição da técnica operatória de miectomia total esofágica e vagotomia troncular da junção gastroesofágica

O procedimento cirúrgico foi realizado na Instalação de Ciência Animal do Centro Universitário Serra dos Órgãos (UNIFESO), Campus Quinta do Paraíso, Teresópolis-RJ. Adotou-se a técnica operatória descrita por Gaia Filho¹⁰, com modificações que incluíram a redução da extensão e do local de ressecção da camada muscular, bem como alterações dietéticas.

A contenção inicial dos animais foi realizada pelo método *open-drop*, utilizando câmara de acrílico contendo gaze embebida em isoflurano a 2%. Em seguida, foi induzida anestesia dissociativa por meio da administração intraperitoneal (IP) da associação de 75–100 mg/kg de cloridrato de cetamina a 10% (Cetamin® Syntec, SP, Brasil) e 5–10 mg/kg de cloridrato de xilazina a 2% (Xilazin® Syntec, SP, Brasil), aplicados na mesma seringa. Posteriormente, procedeu-se à assepsia e antissepsia, com o posicionamento do animal em decúbito dorsal.

Realizou-se laparotomia mediana de aproximadamente 3 cm, estendendo-se do apêndice xifoide até a região umbilical, seguida da ressecção da camada muscular esofágica. Esta foi executada com extensão de 3 mm, iniciando-se na junção gastroesofágica (JGE), com dissecação dos bordos laterais da musculatura adjacente à mucosa, respeitando-se o plano de clivagem. A síntese da parede abdominal e da pele foi conduzida com sutura contínua ancorada de Ford, utilizando fio de náilon 2-0 (Ethicon™, Johnson & Johnson MedTech, CA, EUA).

Após o procedimento, os animais foram mantidos em sala silenciosa, com baixa luminosidade e aquecimento por lâmpada incandescente de 40W, até a completa recuperação anestésica. O protocolo de analgesia pós-operatória incluiu a administração intraperitoneal de cloridrato de tramadol (Tramal®) na dose de 1 mg/kg, associada à oferta de ibuprofeno (Alivium®, Brainfarma Indústria Química e Farmacêutica S.A., GO, Brasil) diluído na água de beber (30 mg/kg) durante sete dias consecutivos. Inspeções e higienização da ferida cirúrgica foram realizadas diariamente.

Após a recuperação, os animais foram monitorados ao longo de todo o período experimental (75 dias), com registro contínuo da ingestão alimentar e hídrica.

Cuidados de suporte nutricionais

No terceiro dia após a cirurgia, foi oferecida 42 g/dia de uma dieta hiperlipídica, palatável e de textura macia, composta por 18 g de maçã, 3 g de nozes e 21 g de ricota fresca (Tabela 1). A dieta foi administrada durante 75 dias.

Tabela 1. Dieta alimentar hiperlipídica

Alimento	Quantidade	CHO	PTN	LIP
Maçã	18,0 g	2,7% 69,5 g	0,1% 2,3 g	0,0% 0,0 g
Nozes	3,0 g	0,4% 10,2 g	0,5% 14,5 g	0,2% 23,9 g
Ricota	21,0 g	0,8% 20,3 g	2,6% 83,2 g	0,6% 76,1 g
TOTAL	42,0 g	3,9% 100,00 g	3,2% 100,00 g	0,8% 100,00 g

Legenda; CHO- Carboidrato; PTN- Proteína; LIP- Lipídio.

Fonte: Autores, 2025.

Estudo histológico

Induzida a morte nos animais por sobredose anestésica, realizou-se a exérese da porção distal do esôfago abdominal e sua fixação em paraformaldeído tamponado a 4% por 48 horas. As amostras foram coradas com Hematoxilina e Eosina (H&E) e os preparados histológicos analisados sob microscopia óptica (E200 Nikon®, BR), com magnificações de 200x e 400x.

Análise estatística dos dados

O achado (ganho de peso aos 75 dias) foi analisado com o teste não-paramétrico de Mann-Whitney U, considerando-se um intervalo de confiança de 95% e $p < 0,05$.

RESULTADOS

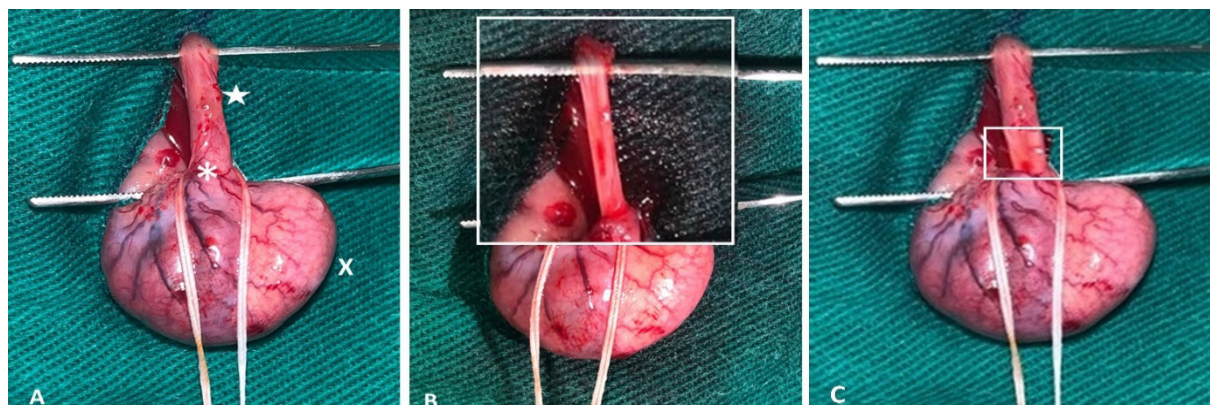
O estudo descreveu a modificação da técnica operatória de miectomia total e vagotomia troncular de Gaia Filho¹⁰, com ressecção de somente 3 mm da camada muscular do esôfago intra-abdominal (Figuras 1A, 1B), seguida de síntese cirúrgica.

Os animais foram recuperados em gaiola individual e, logo após, receberam dieta líquida. A partir do 3º dia, foi oferecida dieta pastosa hiperlipídica.

Nesse modelo, os animais apresentaram sobrevida de 75 dias, ao contrário do modelo original, em que houve mortalidade entre a 2ª e 3ª semana.

Considerando que o objetivo presente estudo era o de promover um modelo de refluxo gastroesofágico crônico, com tempo de sobrevida pós-operatório suficiente para que as alterações estruturais causadas pelo refluxo gastroesofágico crônico (Esôfago de Barrett), se desenvolvessem, a modificação dietética e extensão reduzida da ressecção da camada muscular lograram êxito (Figura 1C).

Figura 1. Técnica operatória de miectomia total original e modificada



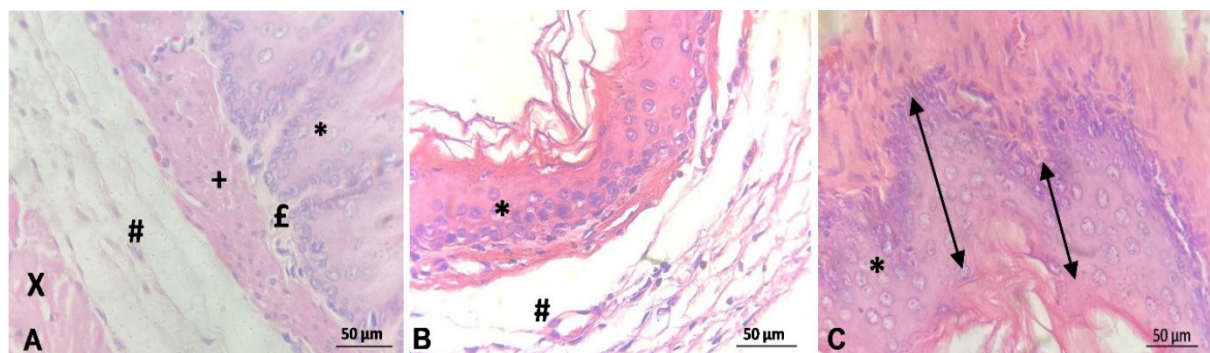
Legenda: Asterisco: Esôfago; Estrela; Junção gastroesofágica. Em C, podemos observar uma ressecção de apenas 3 mm quando comparada a técnica original (15 mm). Fonte: Autores, 2025.

Aos 75 dias, o exame histológico da porção distal do esôfago abdominal dos animais do GC evidenciou padrão compatível com a normalidade (Figura 2 A).

No GRG as imagens histológicas obtidas em um dos animais imediatamente após a cirurgia, atestou a ressecção total da camada serosa e muscular (Figura 2 B).

Aos 75 dias, observou-se o aumento da espessura do epitélio escamoso estratificado, correspondendo à fase de hiperplasia proliferativa, a qual antecede a metaplasia intestinal (Esôfago de Barrett)¹⁵, como citado por Matsui et al.¹¹ (Figura 2 C).

Figura 2. Exame histológico



Legenda: X= camada muscular externa; # camada submucosa; += Lâmina própria; *= Epitélio escamoso estratificado. Fonte: Autores, 2025.

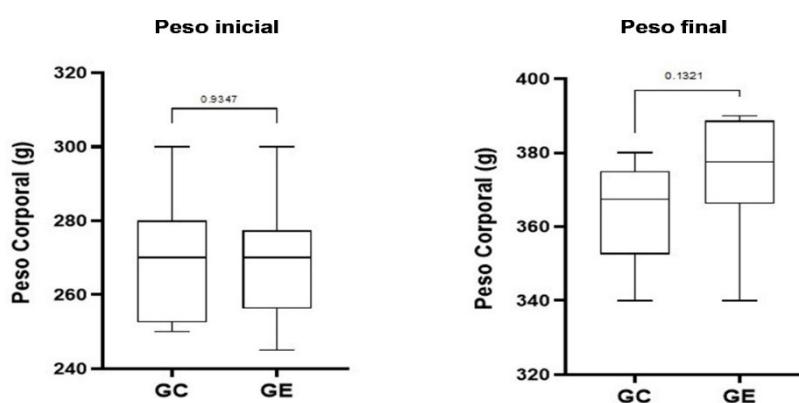
Os animais de ambos os grupos foram pesados em t=0 e t=75. Os valores encontram-se expressos na tabela 2.

Tabela 2. Desenvolvimento ponderal

ANIMAL	GC		GE	
	t=0	t=75	t=0	t=75
1	250	362	254	375
2	270	375	270	380
3	300	380	280	385
4	280	340	270	390
5	280	345	270	370
6	250	360	265	365
7	260	370	245	340
8	265	375	260	370
9	270	365	255	350
10	250	370	270	380
11	270	380	280	390
12	280	350	300	390
Média ± DP	268,75 ± 14,45	364,33 ± 12,84	268,25 ± 13,82	373,25 ± 15,29

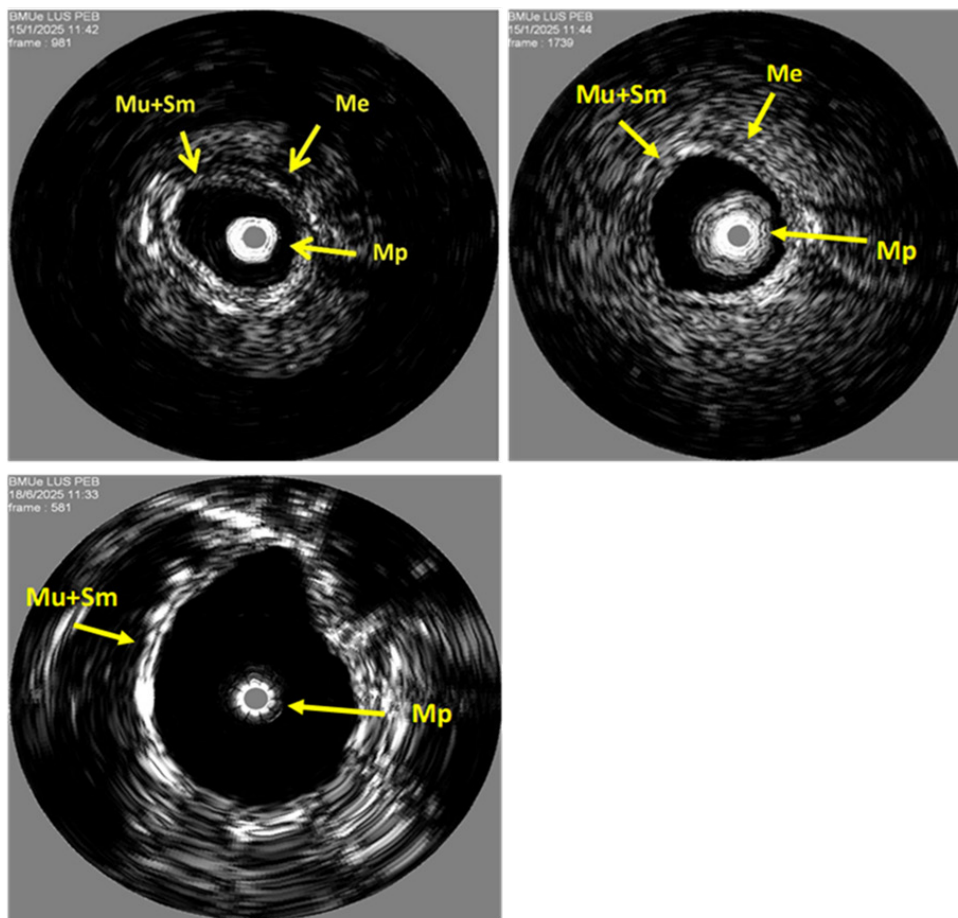
Fonte: autores, 2025.

Ao se analisar a perda ponderal, não houve diferença significativa na comparação entre o peso inicial ($p = 0,9347$) e final ($p = 0,1321$), nos grupos controle e refluxo gastroesofágico (Figura 3).

Figura 3. Gráfico *boxplot* do Grupo Controle e Grupo Refluxo Gastroesofágico


Fonte: Autores, 2025.

Figura 5. Biomicroscopia ultrassônica endoluminal (BMUe) do GC, GS e GRGE



Legendas: Mu+Sm= camada mucosa e submucosa; Me= camada muscular externa; Mp= mini probe. Fonte: Autores, 2025.

DISCUSSÃO

O presente estudo foi realizado na Instalação de Ciência Animal do Centro Universitário Serra dos Órgãos (UNIFESO), Campus Quinta do Paraíso, Teresópolis-RJ, utilizando ratos machos da linhagem Wistar (*Rattus norvegicus albinus*, Rodentia, Mammalia — Berkenhaout, 1769), mantidos sob condições ambientais controladas. A escolha dessa linhagem justificou-se por características como docilidade, pequeno porte, facilidade de manejo e baixo custo. Adicionalmente, a padronização do sexo, peso e idade dos animais contribuiu para a homogeneidade da amostra.

No que se refere aos aspectos anatômicos, fisiológicos e histológicos, tanto no esôfago humano quanto no murino observa-se a presença de fibras musculares estriadas (controle voluntário) e lisas (controle involuntário). As regiões constituídas por musculatura lisa recebem inervação do nervo vago, responsável pela coordenação do peristaltismo em condições fisiológicas.^{10,12}

No ser humano, aproximadamente 5 a 33% da porção proximal do esôfago é formada por músculo estriado. A região intermediária, que corresponde a cerca de 35 a 40% do órgão, apresenta fibras musculares mistas, enquanto os 50 a 60% distais são compostos exclusivamente por musculatura lisa. De forma análoga, em ratos observa-se uma transição gradual do músculo estriado para o liso, com uma zona mista — que corresponde a

aproximadamente 35% do comprimento esofágico — localizada na altura do arco aórtico. Os dois terços distais do esôfago são constituídos predominantemente por músculo liso, sob controle involuntário. Em ambas as espécies, a musculatura organiza-se em duas camadas: uma circular interna e outra longitudinal externa.^{10,11,12}

No ser humano, a barreira gastroesofágica antirrefluxo é constituída pelo esfíncter esofágico inferior, pelo diafragma crural, pelo ligamento frenoesofágico e pelo ângulo de His, cuja conformação determina a entrada oblíqua do esôfago no estômago. Em ratos, entretanto, a pressão exercida nas extremidades dessa barreira é significativamente superior ao gradiente pressórico observado no tórax e no abdome durante todas as fases do ciclo respiratório. Em condições fisiológicas, a intensidade dessa pressão e da força de contenção praticamente inviabiliza o refluxo nesses animais. Ressalta-se que o refluxo é um fenômeno passivo, caracterizado pelo retorno do conteúdo alimentar não digerido do estômago para o esôfago.¹⁵

Outro aspecto relevante refere-se à ausência de glândulas submucosas esofágicas nos ratos, estruturas que estão presentes no esôfago humano. Tal diferença anatômica exige cautela na extrapolação dos achados experimentais para a clínica, uma vez que o esôfago murino apresenta limitações de homologia em relação ao humano.¹⁶

Embora sua fisiopatologia ainda seja motivo de debate, o esôfago de Barrett resulta da exposição crônica da mucosa esofágica ao conteúdo gastroesofágico. Nesse processo, as células epiteliais escamosas estratificadas sofrem substituição por células de tipo colunar com características intestinais, tanto no nível estrutural quanto no molecular.^{2,9}

Assim, com o objetivo de atingir maior tempo de sobrevivência dos animais, tornou-se crucial modificar o manejo alimentar, o qual se baseava originalmente no fornecimento de ração comercial peletizada a partir do 8º dia. A mudança objetivou evitar a impactação gástrica e esofágica causada pela vagotomia troncular, a qual reduz a motilidade do piloro.^{10,11}

Destarte, observou-se maior facilidade na ingestão do alimento e bem-estar dos animais ao longo do período experimental. Na avaliação da perda ponderal, não houve diferença significativa na comparação entre o peso corporal inicial ($p = 0,9347$) e final ($p = 0,1321$), entre os grupos. Esses resultados propugnam a importância de adequação alimentar em modelos de refluxo gastroesofágico crônico.

Ao se utilizar a técnica operatória modificada, 100% dos animais (12/12) atingiram a 10ª semana (75 dias) após a cirurgia.

Há que se considerar que a redução do tamanho da exérese da camada muscular (de 15 para 3 mm), aumentou a dificuldade técnica e consequentemente o tempo médio operatório para cerca de 60 minutos.

No modelo desenvolvido, a miectomia total ocorreu apenas na junção gastroesofágica (JGE), acima do esfíncter esofágico inferior (EEI), numa extensão suficiente para mimetizar o relaxamento do EEI, causa de refluxo gastroesofágico.^{10,11,13,14}

Os achados histológicos do GRGE na 10ª semana demonstraram aumento da espessura do epitélio escamoso estratificado, correspondendo à fase de hiperplasia proliferativa que antecede a metaplasia intestinal (Esôfago de Barrett).¹⁶ Esse achado corroborou com Matsui et al.,¹¹ os quais aduziram que a metaplasia intestinal se desenvolve em roedores a partir da 10ª semana.

CONCLUSÃO

O estudo validou um modelo cirúrgico de refluxo gastroesofágico crônico, evidenciando achados histológicos e ultrassonográficos característicos nos diferentes grupos experimentais.

CONFLITO DE INTERESSES

Os autores declaram não haver nenhum conflito de interesses.

AGRADECIMENTOS

O estudo foi financiado pela Fundação Carlos Chagas Filho de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio de Janeiro — **FAPERJ**. Programa de Pós-doutorado Nota 10 (PDR10) — 2022. Edital 17/22. Proc. **SEI-RJ 260003/019572/2002**.

Ao **PICPq do DPPE** do Centro Universitário Serra dos Órgãos- UNIFESO pelo apoio concedido.

REFERÊNCIAS

1. Kapoor H, Lohani KR, Lee TH, Agrawal DK, Mittal SK. Animal Models of Barrett's Esophagus and Esophageal Adenocarcinoma—Past, Present, and Future. *Clin Transl Sci*. 2015 July 27;8(6):841-7. doi: 10.1111/cts.12304.
2. Dornelas CA, Almeida PRC de, Nascimento GL do, Lima ÉB, Moraes MO de. Modelo experimental do carcinossarcoma 256 de Walker em bexiga de ratos. *Acta Cir Bras*. 2006 Janeiro;21(1):38–42. doi: 10.1590/S0102-86502006000100009.
3. Helsing N Jr. Oesophageal lesions following total gastrectomy in rats. I. Development and nature. *Acta Chir Scand*. 1960 Jan 30; 118:202–16. PMID 14400939.
4. Helsing N. Oesophagitis following total gastrectomy in rats. II. Development of oesophagitis in relation to type of reconstruction. *Acta Chir Scand*. 1960 July 28; 119:230–45. PMID: 14400940.
5. Levrat M, Lambert R, Kirshbaum G. Esophagitis produced by reflux of duodenal contents in rats. *Am J Dig Dis*. 1962 Jun; 7:564–73. doi: 10.1007/BF02236137. PMID: 14464730.
6. Lambert R. Relative importance of biliary and pancreatic secretions in the genesis of esophagitis in rats. *Am J Dig Dis Sci* 1962; 7:1026–33. doi: 10.1007/BF02231905.
7. Salmon R, Hem B. Bile reflux esophagitis. A critical study of two models in the rat. *Digestion*. 1981;22(2):73–9. doi: 10.1159/000198598. PMID: 7274608.
8. Ishii Y, Fujii Y, Yamashita T. Effect of sodium polyacrylate on chronic reflux esophagitis in rats. *Arzneimittelforschung*. 1981;31(12):2112–5. PMID: 7199308.
9. Mud HJ, Kranendonk SE, Obertop H, Van Houten H, Westbroek DL. Active trypsin and reflux oesophagitis: an experimental study in rats. *Br J Surg*. 1982 May;69(5):269–72. doi: 10.1002/bjs.1800690513. PMID: 6803865.
10. Gaia Filho EV, Goldenberg A, Costa HO. Experimental model of gastroesophageal reflux in rats. *Acta Cir Bras*. 2005 Nov-Dec;20(6):437–44. doi: 10.1590/s0102-86502005000600008. Epub 2005 Nov 8. PMID: 16302079.
11. Matsui D, Omstead AN, Kosovec JE, Komatsu Y, Lloyd EJ, Raphael H, et al. High yield reproducible rat model recapitulating human Barrett's carcinogenesis. *World J Gastroenterol*. 2017 Sep. 7;23(33):6077–87. doi: 10.3748/wjg.v23.i33.6077. PMID: 28970723; PMCID: PMC5597499.
12. Castro Jr. MAM, Krueel CDP, Meurer L, Castro AP, Zimmermann BS. Modelo experimental de carcinogênese esofágica. *Rev Col Bras Cir*. 2007 June;34(3):153–6. doi: 10.1590/S0100-69912007000300004.

13. Montedonico S, Diez-Pardo JA, Tovar JA. Gastroesophageal reflux after combined lower esophageal sphincter and diaphragmatic crural sling inactivation in the rat. *Dig Dis Sci*. 1999 Nov;44(11):2283-9. doi: 10.1023/a:1026665022685. PMID: 10573375.
14. Oberg S, Lord RV, Peters JH, Chandrasoma P, Theisen J, Hagen JA, et al. Is adenocarcinoma following esophagoduodenostomy without carcinogen in the rat reflux-induced? *J Surg Res*. 2000 Jun;91(2):111-7. doi: 10.1006/jsre.2000.5908. PMID: 10839958.
15. Katzka DA. Digestive system disorders: gastroesophageal reflux disease. *West J Med*. 2000 Jul;173(1):48-53. doi: 10.1136/ewjm.173.1.48. PMID: 10903297; PMCID: PMC1070977.
16. Sarbia M, Donner A, Franke C, Gabbert HE. Distinction between intestinal metaplasia in the cardia and in Barrett's esophagus: the role of histology and immunohistochemistry. *Hum Pathol*. 2004 Mar;35(3):371-6. doi: 10.1016/j.humpath.2003.09.011. PMID: 15017595.

FERRAMENTA DE VISÃO COMPUTACIONAL PARA SUPORTE AO TESTE DE CAMPO ABERTO (*OPEN FIELD TEST*)

Alberto Torres Angonese, João Pedro Moreira Ferreira, Marcel Vasconcellos, Rafael Soares Areal Costa, Valéria Cristina Lopes Marques, Arthur da Conceição Cunha, Gustavo Mattos Rodrigues, Gustavo Kimus Pimentel Nogueira, Marco Antônio Araujo de Almeida, Ana Beatriz Rocha Câmara, Tayna Mendes Maurat

RESUMO

O presente artigo apresenta a etapa inicial de desenvolvimento da ferramenta de Visão Computacional para apoio ao Teste de Campo Aberto. O objetivo do projeto é proporcionar aos alunos a oportunidade de interagir com ferramentas tecnológicas avançadas, promovendo o desenvolvimento de habilidades em pesquisa e inovação. A proposta inclui a criação de uma solução automatizada para o Teste de Campo Aberto, um método utilizado para avaliar o comportamento de roedores, especialmente ratos, em ambientes controlados. Atualmente, essa avaliação é feita manualmente pelos alunos e pesquisadores do Biotério do Unifeso, o que pode resultar em análises menos precisas e mais trabalhosas. Através da integração entre os cursos de Ciência da Computação, Medicina Veterinária, Biomedicina, Farmácia e Psicologia, o projeto busca desenvolver uma ferramenta baseada em técnicas de Visão Computacional. Essa ferramenta permitirá o rastreamento automatizado dos padrões de movimentação dos roedores, facilitando a mensuração de comportamentos que indicam níveis de ansiedade e memória. A colaboração entre alunos de diferentes áreas será essencial para identificar as necessidades específicas do Teste de Campo Aberto e assegurar que a solução desenvolvida atenda a essas exigências. Além de contribuir para a formação acadêmica e profissional dos estudantes envolvidos, o projeto tem relevância educacional ao incentivar o uso de tecnologias avançadas no processo de aprendizagem e pesquisa. Em resumo, espera-se que o projeto resulte na criação de uma ferramenta eficaz e prática para o Teste de Campo Aberto, com benefícios diretos para os cursos envolvidos e para a qualidade das pesquisas realizadas no Unifeso.

Palavras-chave: Teste de Campo Aberto; Visão Computacional; Biotério.

INTRODUÇÃO

O Teste de Campo Aberto foi proposto por Calvin S. Hall em 1932 (HALL, 1932), que apesar de antigo, apresenta bastante aplicabilidade nos dias atuais para apoio à estudos nas áreas psicológicas e farmacológicas. O Teste de Campo Aberto é um teste que permite avaliar padrões comportamentais, através do rastreamento da locomoção de roedores, habitualmente ratos, durante um tempo definido. Para o teste utiliza-se uma arena, circular (Figura 1b) ou quadrada (Figura 1a), delimitada por paredes e com a área interna demarcada por linhas que se cruzam. Tais linhas formam uma grade interna, que permitem a definição da posição e distância percorrida pelo do roedor, dadas as dimensões conhecidas da arena e áreas internas (SOUZA et al, 2013).

Padrões comportamentais que indicam níveis de ansiedade e memória podem ser mensuráveis pelo rastreamento da movimentação do animal (STANTFORD, 2007). Podem ser observados a frequência com que o roedor cruza linhas de grade com todas as quatro patas, frequência e tempo de permanência na área central, frequência com que o animal se movimenta próximo às paredes, dentre outras. Os desafios do Teste de Campo Aberto, estão justamente na identificação visual assertiva dos padrões de comportamento, o que exige um treinamento e experiência adequados para a obtenção de diagnósticos precisos.

O trabalho descrito neste projeto apresenta a proposta de desenvolvimento de uma ferramenta de Visão Computacional, cujo objetivo é automatizar o processo de identificação visual dos padrões de movimentação dos animais, durante o Teste de Campo Aberto. Espera-se com isso, que a ferramenta possa auxiliar no processo de obtenção de diagnósticos mais precisos.

Visão Computacional é uma área da Inteligência Artificial que trabalha com dados visuais, isto é, imagens, vídeos, etc. O principal objetivo dos algoritmos desenvolvidos nesta área é interpretar os dados visuais adquiridos do ambiente a fim de fornecer informações relevantes aos usuários, ou a modelos de tomada de decisão (WECHSLER, 2014). Dentre as tarefas que Visão Computacional almeja abordar, pode-se citar, detecção de objetos, reconhecimento de faces, classificação de objetos, todos esses problemas utilizando apenas dados visuais. Um exemplo de aplicação são os carros autônomos, que precisam detectar e reconhecer pedestres, sinais de trânsito, etc., na grande maioria das vezes utilizando apenas informações visuais da cena.

Neste trabalho a Visão Computacional será empregada através de técnicas (algoritmos) serão avaliadas para a detecção e rastreamento dos animais durante o Teste de Campo Aberto, com o objetivo de automatização dos experimentos a serem realizados.

JUSTIFICATIVA

Atualmente o UNIFESO possui uma arena para a realização do Teste de Campo Aberto, conforme ilustrado na Figura 2, que fica localizada no Biotério da instituição no Campus Quinta do Paraíso. A arena está disponível para ser utilizada pelos cursos de Medicina, Biomedicina, Farmácia, Medicina Veterinária e Psicologia para a realização de experimentos.

Figura 2: Arena do Teste de Campo Aberto do Unifeso.

FONTE: Próprio Autor

Apesar da arena atender satisfatoriamente ao propósito da realização do Teste de Campo Aberto, todo o processo de observação comportamental dos roedores durante os experimentos é realizada de forma manual, como pode ser observado na Figura 2. O procedimento realizado dessa forma, necessita de atenção e cuidados redobrados para que as observações gerem diagnósticos corretos. Nesse sentido, a automatização do processo de observabilidade dos padrões de movimentação durante um experimento, pode auxiliar em diagnósticos mais precisos. Para tal, é proposto, neste projeto, o desenvolvimento de uma ferramenta de Visão Computacional para rastreamento dos roedores na arena do Teste de Campo Aberto.

Reforçamos que uma ferramenta comercial, com propósitos semelhantes, custa em torno de US\$ 7.500,00 (ANY-MAZE, 2023). Adicionalmente ao ganho de conhecimento que se pretende obter durante o desenvolvimento da ferramenta, vislumbramos a possibilidade de amadurecimento do projeto para a geração de um produto com aplicações relevantes à instituição.

OBJETIVOS

Objetivo geral:

O objetivo geral é o desenvolvimento de uma ferramenta de Visão Computacional para a rastreabilidade de movimentação de roedores durante a realização do Teste de Campo Aberto.

Objetivos específicos:

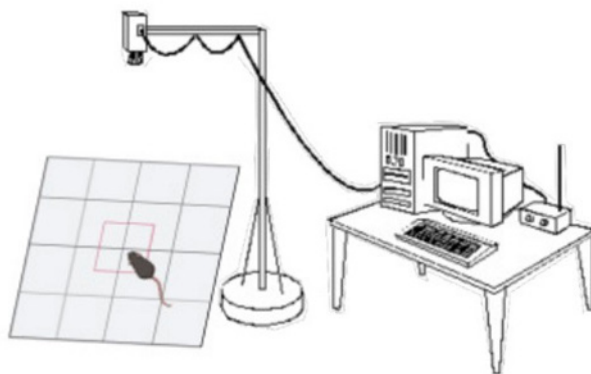
Para que o objetivo geral seja alcançado, são propostos os seguintes objetivos específicos:

1. Revisão de literatura, tanto da parte dos alunos de computação quanto dos alunos relacionados ao Biotério;
2. Aprendizagem, implementação, teste e validação da detecção de roedores utilizando a técnica de Visão Computacional HOG (Histogramas de Gradientes Orientados);
3. Avaliação da técnica utilizando as métricas de acurácia e precisão;
4. Aprendizagem, implementação, teste e validação da detecção de roedores utilizando a técnica de Visão Computacional CNN (Redes Neurais Convolucionais);
5. Avaliação da técnica utilizando as métricas de acurácia e precisão;
6. Testes em ambiente real da arena do biotério para escolha da técnica com melhor desempenho;
7. Implementação de ajustes e modificações na ferramenta de acordo com as avaliações dos alunos relacionados ao Biotério para que os critérios de observabilidade sejam satisfatórios.

MÉTODOS

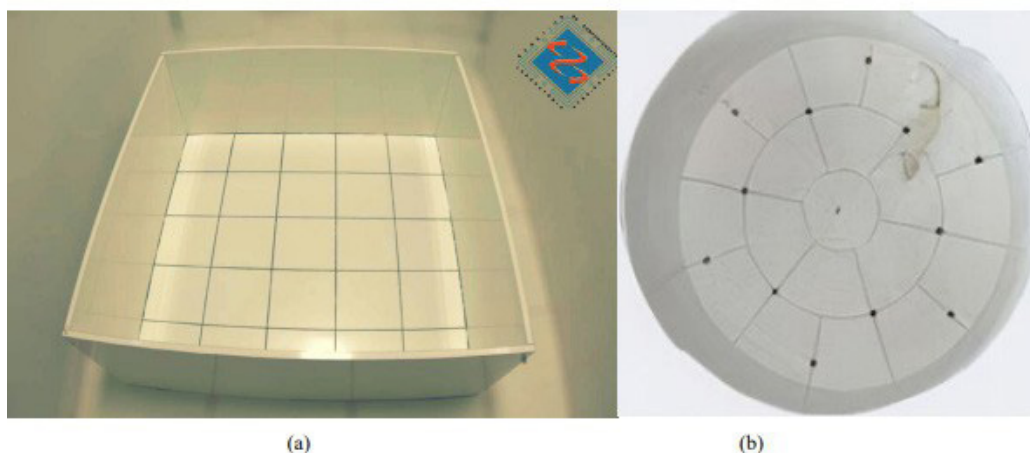
A proposta da ferramenta é realizar o rastreamento automatizado dos padrões de movimentação dos roedores na arena utilizando técnicas de Visão Computacional. Para isso, a abordagem inicial prevê a construção de um arcabouço, conforme ilustrado na Figura 3. O arcabouço deverá conter uma estrutura para acomodação de uma câmera, necessária para a aquisição das imagens em tempo real, durante a realização do Teste de Campo Aberto, e um computador conectado à câmera, em que será executado o programa de rastreamento por Visão Computacional.

Figura 3: Arcabouço da Ferramenta de Visão Computacional



FONTE: Adaptada de (DA ROSA, 2014)

Para o desenvolvimento do projeto será necessário a integração entre os alunos do curso de Ciência da Computação e alunos de cursos que utilizem a arena para o Teste de Campo Aberto do Biotério do Unifeso.

Figura 4: Tipos de arena do teste de Campo AbertoFONTE: Laboratório de Genética Comportamental UFSC, (SOUZA *et al.*, 2013)

Neste trabalho a Visão Computacional será empregada através de técnicas (algoritmos) serão avaliadas para a detecção e rastreamento dos animais durante o Teste de Campo Aberto, com o objetivo de automatização dos experimentos a serem realizados.

Preliminarmente está sendo adotada a avaliação comparativa de duas técnicas de Visão Computacional conhecidas, como proposta de solução para a detecção e rastreamento de roedores no Teste de Campo Aberto.

Serão utilizados como critérios de comparação os parâmetros de desempenho computacional e acurácia de detecção para definição da posição e distância percorrida do roedor na arena. A primeira técnica empregada será a detecção utilizando HOG (Histogramas de Gradientes Orientados), (TOMASI, 2012) e a segunda utilizando CNN (Redes Neurais Convolucionais). A primeira técnica é um descritor de características utilizado para detecção de objetos, que apresenta um bom desempenho computacional (DALAL et al, 2005), já a segunda é uma rede neural de aprendizado profundo, notoriamente conhecida pelos altos percentuais de acurácia (DIWAN et al, 2023). O objetivo é avaliá-las conforme o problema proposto no cenário de aplicação do Biotério da Unifeso.]

O desenvolvimento das atividades será executado pelos alunos do Curso de Ciência da Computação em conjunto com os alunos relacionados nas tarefas do Biotério, que se reunirão com frequência semanal para discussão e apresentação do andamento das atividades, conforme tarefas previstas no plano de trabalho individualizado.

Coleta de dados

As estratégias de coleta de dados adotadas no projeto se limitam às métricas de acurácia e precisão do processo de detecção do roedor pelo processo de visão computacional em tempo real durante a execução de um experimento na arena do Teste de Campo Aberto. As métricas adotadas somente servirão para a definição da técnica que melhor se adequa ao cenário proposto.

Considerando que os dados coletados se resumem às imagens dos vídeos e o experimento não envolve diretamente a pesquisa com o animal, entendemos que o projeto não se enquadra para ser submetido ao Comitê de Ética no Uso de Animais (CEUA).

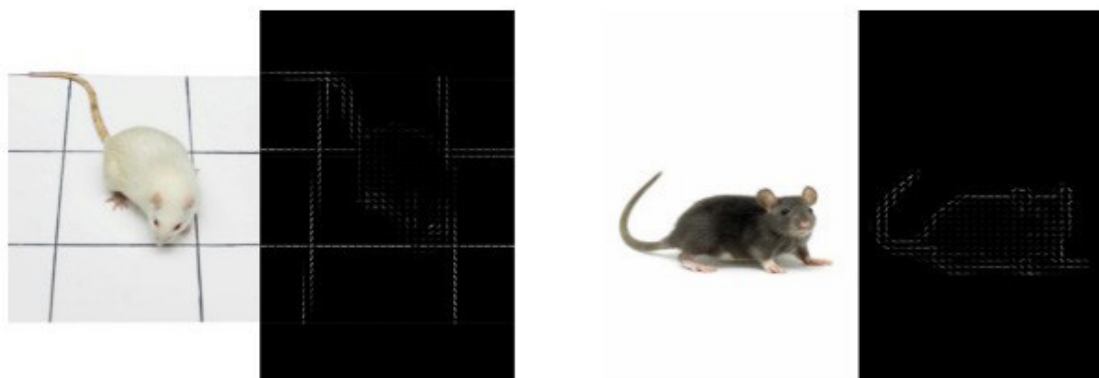
Reforçamos ainda que projetos dos cursos de saúde que utilizam a arena para execução do Teste de Campo Aberto, cujos experimentos servirão de base para validação da ferramenta computacional, já tem aprovação do CEUA. Um dos exemplos é o projeto intitulado Análise Comportamental de Filhotes de Ratos Wistar Submetidos à Separação Materna: Um Estudo Transgeracional, que está aprovado pelo CEUA/UNIFESO sob nº 553/23, (LOBATO et al, 2023).

EXPERIMENTOS E RESULTADOS PRELIMINARES

Os alunos dos cursos de Ciência da Computação, Biomedicina e Veterinária se reuniram para a troca de ideias, compartilhamento dos conhecimentos próprios de cada área e planejamento dos primeiros passos.

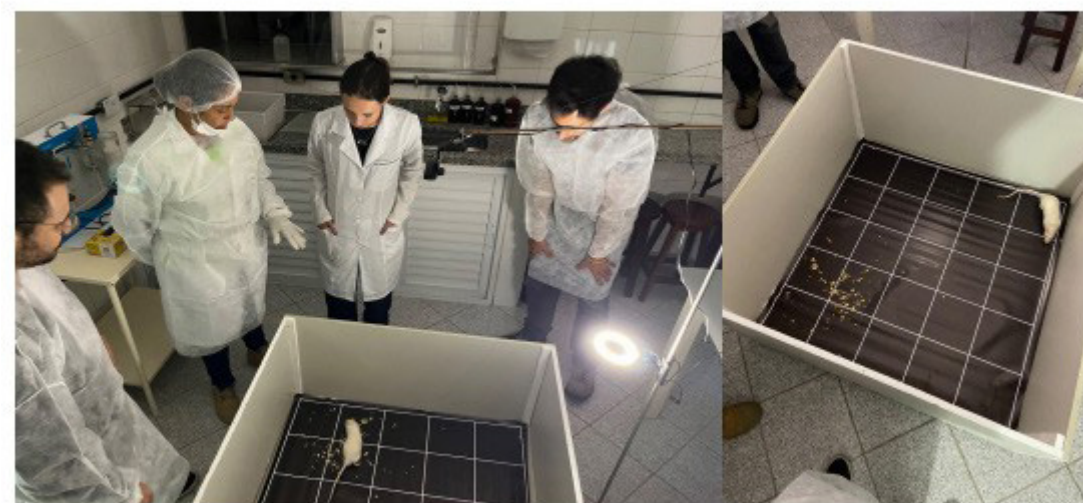
Preliminarmente, foi desenvolvido um script em Python para implementação inicial da técnica de visão computacional HOG. Foram selecionadas imagens de ratos e aplicadas ao script para verificação do processo de extração de características, conforme ilustrado na Figura 4. A figura apresenta a imagem do rato inserida no script e imediatamente a direita a imagem de saída após a execução do script. O resultado esperado do experimento foi a extração das características, pela aplicação do HOG e a geração de uma imagem com os contornos do rato, conforme a imagem de entrada.

É possível observar, que a imagem à esquerda da Figura 4 é de um rato branco em cima de uma superfície branca, já a da direita é de um rato escuro em uma superfície branca. Nesse cenário, a aplicação do HOG na imagem do rato à esquerda gerou uma extração de características com baixa resolução em relação à imagem do rato à direita da figura. Isso se deve em virtude do HOG trabalhar com a avaliação da magnitude do gradiente da imagem, o que significa que imagens que possuem maior realce apresentem resultados de extração de contornos mais definidos.

Figura 4: Resultados da extração de Característica pelo HOG


FONTE: Próprio autor

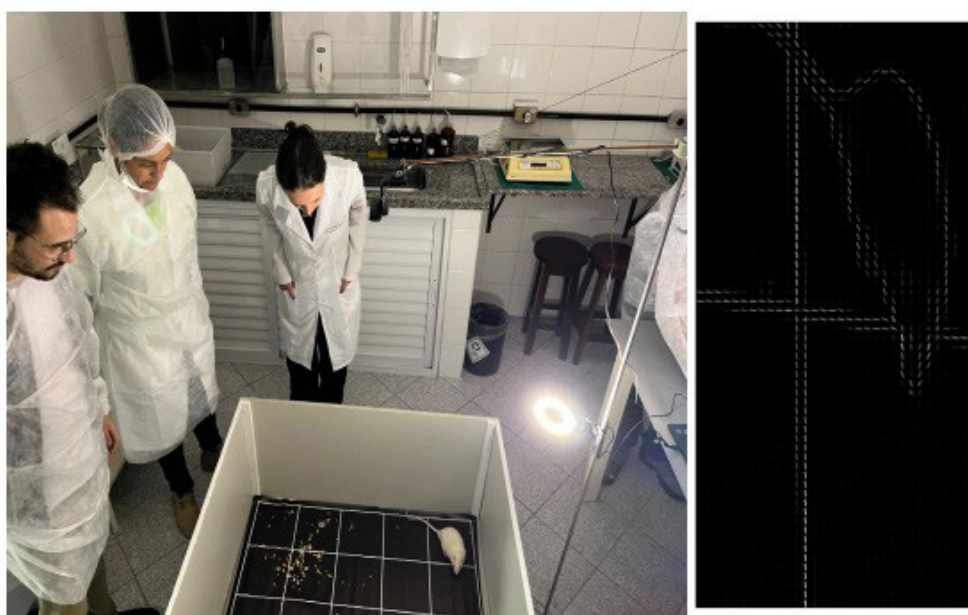
Após realização de outros testes, foi proposta a alteração do fundo da arena do Biotério para preto com as delimitações em branco, conforme pode ser observado na Figura 5.

Figura 5: Arena do Teste de Campo Aberto do Unifeso com fundo preto


FONTE: Próprio Autor

Foi projetado um aparato com câmera e iluminação ajustáveis, permitindo uma melhor aquisição das imagens e dos vídeos de ratos realizando o Teste de Campo Aberto na arena adaptada com fundo preto. Foram realizados novos testes no script para extração de características com imagens extraídas da nova arena, conforme ilustrado na Figura 6.

Figura 6: Resultados da extração de Característica pelo HOG na Arena do Teste de Campo Aberto do Unifeso com fundo preto



FONTE: Próprio Autor

A imagem à direita da Figura 6 ilustra o resultado do HOG obtido de um crop da imagem da esquerda, conforme ilustrado pela caixa delimitadora em verde. Pelo resultado obtido é possível observar uma melhoria na extração das características HOG, indicando uma melhor detecção do rato na nova arena. Na Figura 6 também é possível visualizar parte da equipe durante a execução dos testes no Biotério do Unifeso. Na figura se destacam, a responsável pelo Biotério, um aluno de Computação e uma aluna de Veterinária.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

No presente artigo foram apresentados os trabalhos preliminares realizados para o desenvolvimento da ferramenta de visão computacional para apoio ao teste de campo aberto.

A equipe de alunos dos cursos de Ciência da Computação, Biomedicina e Veterinária reuniu-se para planejamento dos primeiros passos. A equipe do curso de Ciência da Computação desenvolveu um script em Python para implementação da técnica HOG, a fim de realizar os primeiros testes de detecção dos ratos com a técnica. Foi contatado que o realce de ratos brancos em fundo branco gera uma extração de características com pouca definição, podendo dificultar o processo de detecção. A equipe do Biotério adaptou a arena existente colocando um fundo preto. Foi criado um aparato com câmera e iluminação ajustáveis para a aquisição de imagens com melhor qualidade.

Após esses ajustes, novos testes foram realizados com o script gerado. Os resultados apresentaram uma melhor definição das características HOG indicando uma melhor detecção. Para as próximas fases a equipe continuará com os testes com a técnica HOG e serão adicionadas no script, funcionalidades de rastreamento para detecção dos ratos em tempo real.

REFERÊNCIAS

1. ANY-MAZE. Full License Pricing, 2024. Disponível em <https://www.any-maze.com/pricing/>. Acessado em : 09/02/2024
2. DALAL, Navneet; TRIGGS, Bill. Histograms of oriented gradients for human detection. In: 2005 IEEE computer society conference on computer vision and pattern recognition (CVPR'05). Ieee, 2005. p. 886-893.
3. DA ROSA, Johnathan Fercher. Construção de um time de futebol de robôs para a categoria IEEE Very Small Size Soccer. 2015.
4. DIWAN, Tausif; ANIRUDH, G.; TEMBHURNE, Jitendra V. Object detection using YOLO: Challenges, architectural successors, datasets and applications. Multimedia Tools and Applications, v. 82, n. 6, p. 9243-9275, 2023.
5. DU, Juan. Understanding of object detection based on CNN family and YOLO. In: Journal of Physics: Conference Series. IOP Publishing, 2018. p. 012029.
6. HALL, Calvin; BALLACHEY, Egerton L. A study of the rat's behavior in a field. A contribution to method in comparative psychology. University of California Publications in Psychology, 1932.
7. LOBATO, R Geórgia; ARAÚJO, M. B. Suzana; PINHEIRO, M. Bruna; CÂMARA, R. Ana Beatriz; SILVA, P.M. Aline; MARQUES, C.L. Valéria; VASCONCELLOS, Marcel. Análise Comportamental de Filhotes de Ratos Wistar Submetidos à Separação Materna: Um Estudo Transgeracional. VIII Congresso Acadêmico Científico do UNIFESO – CONFESO: Comunicação Oral - Centro Universitário Serra dos Órgãos, Teresópolis, 2023.
8. STANFORD, S. Clare. The open field test: reinventing the wheel. Journal of psychopharmacology, v. 21, n. 2, p. 134-135, 2007.
9. TOMASI, Carlo. Histograms of oriented gradients. Computer Vision Sampler, p. 1-6, 2012. WECHSLER, Harry. Computational vision. Elsevier, 2014.

ENTRE O REAL E O VIRTUAL: UMA ANÁLISE COMPARATIVA COM ROEDORES UTILIZANDO A CAIXA DE SKINNER E O TESTE DO CAMPO ABERTO

Drielly Abreu de Souza, Valéria Cristina Lopes Marques, Marcel Vasconcellos

RESUMO

O trabalho propõe uma análise comparativa entre dois modelos clássicos de estudo do comportamento animal: a Caixa de Skinner e o Teste do Campo Aberto (Open Field Test), com ênfase no uso de fármacos psicoativos e de simuladores computacionais como o Sniffy Pro 2.0[®]. A proposta integra áreas como Psicologia Experimental, Medicina Veterinária, Farmacologia e Neurociência, abordando os impactos neurocomportamentais e psicossociais dos fármacos em modelos animais. Objetiva-se comparar os padrões de comportamento observados em experimentos reais com ratos Wistar (*Rattus norvegicus*), tratados ou não com um agonista do receptor do peptídeo semelhante ao glucagon-1 (GLP-1), como a semaglutida, com aqueles obtidos virtualmente em simulações de condicionamento operante. O estudo será realizado em três etapas: (1) simulação no software Sniffy Pro 2.0[®], reproduzindo os estágios do condicionamento operante (reforço contínuo, intermitente, extinção, discriminação e generalização); (2) análise de estudos publicados com testes comportamentais reais, como o Campo Aberto; e (3) integração dos dados em gráficos comparativos e possíveis modelagens via Redes de Petri. Dados preliminares mostram que roedores tratados com a semaglutida oral apresentam menor exploração da área central da arena, quando comparados aos seus controles ($p < 0,05$), o que sugere um possível efeito ansiogênico do fármaco. Tais achados serão confrontados com os padrões simulados no ambiente virtual para avaliar a validade dos modelos digitais como ferramentas éticas e eficazes de pesquisa. Almeja-se que a combinação entre métodos clássicos e recursos tecnológicos permita uma abordagem mais ética, moderna e interdisciplinar na investigação do comportamento animal.

Palavras-chave: Comportamento animal; ansiedade; condicionamento operante.

INTRODUÇÃO

A análise do comportamento animal é uma ferramenta fundamental para compreender os mecanismos psicobiológicos que regem a resposta a estímulos e fármacos. A Caixa de Skinner, tradicionalmente utilizada na Psicologia Experimental, permite o estudo do condicionamento operante por meio da associação entre estímulo, comportamento e reforço. Já o Teste do Campo Aberto (Open Field Test) é um método clássico da neurociência comportamental, utilizado para avaliar atividade locomotora, ansiedade e comportamento exploratório em roedores. Este projeto propõe uma abordagem comparativa entre essas duas metodologias, a simulação virtual com o software Sniffy Pro 2.0[®] e a análise de experimentos reais, para discutir os impactos de antidepressivos no comportamento animal, com ênfase em estratégias modernas, éticas e aplicáveis à Medicina Veterinária.

JUSTIFICATIVA

A necessidade de aliar rigor científico e bem-estar animal impulsiona a busca por alternativas que reduzam o uso de animais em experimentos. O Sniffy Pro 2.0[®], simulador de comportamento operante, surge como ferramenta ética e eficiente para ensino e pesquisa. Além disso, o aumento do uso de psicofármacos, tanto em humanos quanto em animais, exige estudos que considerem não apenas os efeitos fisiológicos, mas também os comportamentais. Este trabalho justifica-se por integrar Psicologia, Veterinária, Farmacologia e Inteligência Artificial, contribuindo para uma ciência mais ética, interdisciplinar e atualizada.

OBJETIVOS

Objetivo geral:

Comparar os efeitos do condicionamento operante em modelos simulados e reais, avaliando os impactos comportamentais e neuroquímicos do uso de antidepressivos e outros fármacos psicoativos em roedores.

Objetivos específicos:

- Simular o condicionamento operante completo no Sniffy Pro 2.0[®];
- Revisar estudos com roedores submetidos ao uso de antidepressivos; • Analisar os padrões comportamentais no Teste do Campo Aberto;
- Integrar os dados simulados e reais por meio de gráficos e redes comportamentais;
- Discutir os aspectos éticos da experimentação animal.

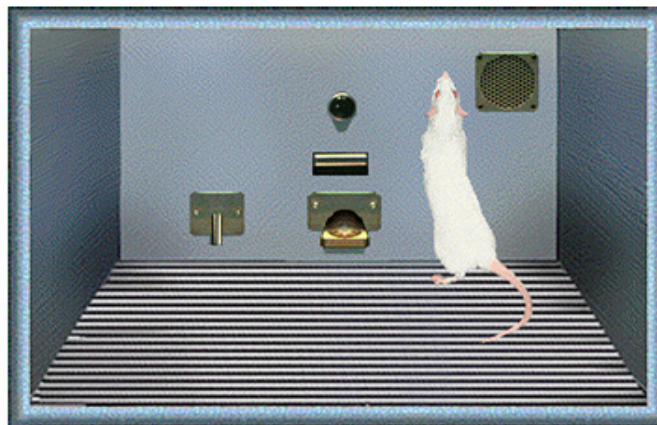
REVISÃO DE LITERATURA

Considerado um dos principais nomes da psicologia comportamental, B.F. Skinner, tornou-se referência no estudo do condicionamento operante. Com objetivo de estudar o condicionamento operante, Skinner desenvolveu a chamada “Caixa de Skinner”, e para medir a taxa deste, inventou o registrador cumulativo.¹

A “caixa de Skinner”, consistia num aparato com um distribuidor de comida, uma grade elétrica no chão e uma alavanca de resposta na caixa. “Com o passar do tempo e a fome, o animal percebia que sempre que a alavanca era pressionada, a ração aparecia no distribuidor, e assim, todas as vezes que o rato estava com fome

o mesmo pressionava a alavanca.”¹ No ambiente virtual, o Sniffy Pro 2.0® permite simular processos como reforço positivo, extinção, discriminação e generalização, com resultados muito próximos dos dados obtidos em laboratório ^{2,3} (Figura 1).

Figura 1. Sniff Pro 2.0®



Fonte: Wilson G, et al.³

O teste do campo aberto (*Open Field Test*) é um dos paradigmas comportamentais mais utilizados em estudos com roedores (ratos e camundongos), especialmente nas áreas de neurociência, psicofarmacologia e comportamento animal.

Originalmente desenvolvido por Calvin S. Hall em 1934 para avaliar a atividade locomotora e emocional de roedores em um ambiente novo, o teste consiste em colocar o animal em um campo aberto — geralmente uma arena quadrada ou circular, com laterais altas para evitar fuga — e observar seu comportamento por um período de tempo determinado (geralmente de 5 a 10 minutos).

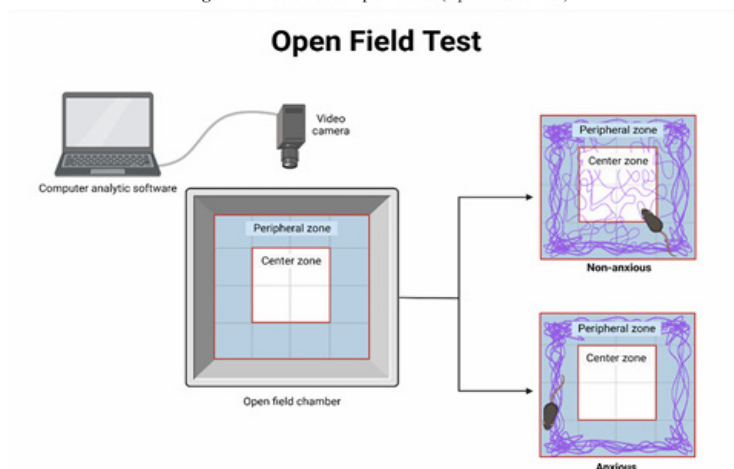
Entre as principais variáveis observadas destacam-se a : atividade locomotora total: número de cruzamentos entre quadrantes ou distância percorrida; tempo em zonas centrais versus periféricas: tendência de animais ansiosos a permanecerem nas bordas (comportamento de esquiva); Rearing (ficar em pé sobre as patas traseiras): comportamento exploratório; Autolimpeza (grooming): pode estar relacionado a estresse ou tranquilidade; Defecação e micção: indicadores indiretos de ansiedade

O teste também pode ser usado para investigar a ansiedade (evitamento da área central); atividade locomotora espontânea (hipo- ou hiperatividade); Efeitos de drogas psicoativas (ansiolíticos, antidepressivos, estimulantes); Modelos de doenças neurológicas e psiquiátricas (autismo, Parkinson, depressão, etc.); Envelhecimento ou lesões cerebrais.

O teste é frequentemente usado em conjunto com outros testes (como o labirinto em cruz elevado, o teste de campo claro-escuro, entre outros).

Alguns exemplos de estudos incluem: Estudos com benzodiazepínicos (ex: diazepam): Aumento do tempo na zona central e redução de grooming, sugerindo efeito ansiolítico. Modelos de estresse crônico ou agudo: Animais submetidos a estresse apresentam redução na locomoção e aumento da defecação. Estudos com GLP-1 ou outros agentes neuroativos: Utilizados para avaliar alterações comportamentais após administração de substâncias que agem sobre o sistema nervoso central. Modelos genéticos: Camundongos *knockout* para certos genes são avaliados para traços de ansiedade ou hipoatividade. Entre as limitações do teste cita-se a confusão entre ansiedade e hipoatividade (por exemplo, sedação pode parecer efeito ansiolítico); Interpretação do comportamento central/periférico depende do contexto; É sensível à iluminação, ruído, e manipulação prévia do animal.^{4,5} (Figura 2)

Figura 2. Teste do Campo Aberto (*Open Field Test*)



A figura representa um resultado analítico computacional típico do movimento de um roedor na câmara de campo aberto, seja ele não ansioso (canto superior direito, explora toda a área) ou ansioso (canto inferior direito, move-se apenas em torno do perímetro da câmara). Fonte: BioRender, WEB. 2025.

Estudos com antidepressivos como fluoxetina, duloxetina e amitriptilina mostram melhora na atividade exploratória e na motivação dos roedores. Além disso, ferramentas como as Redes de Petri têm sido utilizadas para modelar o fluxo de estímulo e resposta, auxiliando na compreensão de comportamentos complexos. Todas essas abordagens apontam para a importância de métodos integrados e éticos no estudo do comportamento animal⁶⁻⁸

MÉTODOS

O projeto será composto por três etapas:

I) Simulação com Sniffy Pro 2.0®

Serão realizadas sessões simuladas do condicionamento operante com o Sniffy virtual, passando por:

- Nível operante;
- Treino ao comedouro;
- Modelagem por aproximação;
- Esquemas de reforço (CRF, FR, VR, FI, VI)
- Extinção e recuperação espontânea;
- Discriminação e generalização.

Os dados serão registrados por minuto, com produção de gráficos de frequência de resposta (RPB).

II) Análise de estudos experimentais com utilização de animais

Será realizada uma revisão descritiva de artigos científicos encontrados nas bases de dados do MEDLINE/PubMed® (National Library of Medicine) e SciELO (Scientific Electronic Library Online), nos quais foram utilizados testes com roedores tratados com antidepressivos, especialmente nos testes do Campo Aberto e Nado Forçado, avaliando padrões de comportamento e comparação com os dados da simulação.

III) Integração e discussão dos dados

A análise dos dados será feita comparando os padrões comportamentais simulados com os dados encontrados na literatura. Ferramentas gráficas e de modelagem (como redes de Petri) poderão ser utilizadas para representação dos resultados.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

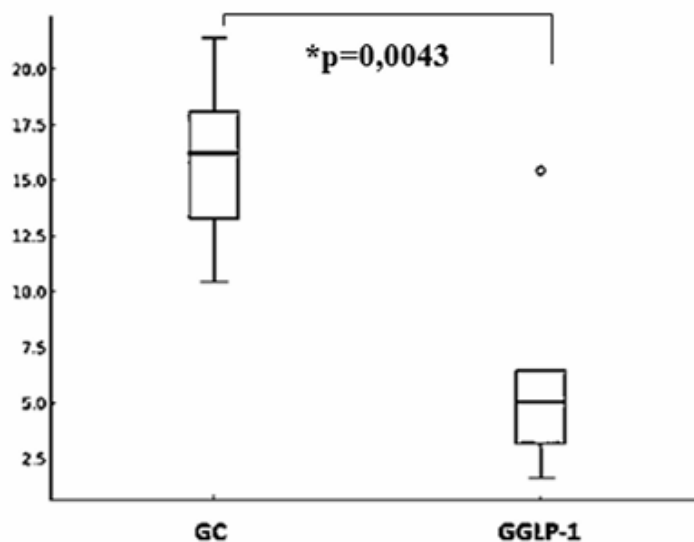
Com base nos resultados obtidos em um estudo sobre o impacto da semaglutida na modulação dos neurotransmissores em *Rattus norvegicus* (CEUA n.º 592/2024), foi observado efeito ansiogênico do fármaco nos animais do grupo tratado com semaglutida quando comparados aos animais controle ($p = 0,0043$) (Tabela 1, Figura 1).

Tabela 1. Resultados do Teste do Campo Aberto

Grupo Controle	Total percorrido (m)	Total percorrido na área central (m)	% percorrido na área central
1	22,40	4,80	21,42
2	17,20	1,80	10,46
3	14,60	2,40	16,43
4	17,20	3,00	16,00
5	22,46	4,20	18,69
6	14,50	1,80	12,41
Grupo GLP-1	Total percorrido (m)	Total percorrido na área central (m)	% percorrido na área central
1	22,00	1,40	6,36
2	18,40	1,20	6,52
3	24,60	3,80	15,44
4	20,00	0,60	3,00
5	24,00	0,40	1,66
6	21,20	0,80	3,77

Fonte: Autores, 2025.

Figura 1. Box plot demonstrando o percentual (%) de locomoção na área central no Teste do Campo Aberto



No teste foi demonstrado por meio do cálculo da distância percorrida, que os animais do GGLP-1 (semaglutida) se expuseram menos nas áreas centrais de risco, quando comparados aos seus controles ($GC > GS$, $*p = 0,0043$), indicando um maior grau de ansiedade e efeito ansiogênico do fármaco. Fonte: Autores, 2025.

Esses dados sugeriram que a semaglutida aumentou comportamento ansioso, visto que os animais evitaram a área central da arena, reforçando a hipótese de que fármacos como os antagonistas dos receptores de GLP-1 como a semaglutida, podem modular a resposta emocional e exploratória dos roedores.

Na atividade com Sniffy Pro 2.0®, espera-se que comportamentos análogos possam ser reproduzidos: menor frequência de respostas em fases iniciais, resistência à modelagem ou dificuldade de extinção. Isso validaria parcialmente o uso da simulação como preditora de comportamento.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

O projeto destaca a importância de unir métodos clássicos (como a Caixa de Skinner e o Teste do Campo Aberto) com simulações digitais e modelagens computacionais. A proposta é mostrar que, com o uso ético de tecnologias, é possível realizar pesquisas comportamentais robustas, com menor uso de animais. Essa integração representa um avanço na ciência comportamental, permitindo mais precisão, ética e interdisciplinaridade entre áreas como Psicologia, Farmacologia e Medicina Veterinária. Além disso, fomenta uma visão crítica e moderna sobre a pesquisa com modelos animais.

REFERÊNCIAS

1. Ferster CB, Skinner BF. Schedules of Reinforcement. New York: Appleton-Century-Crofts. (1957). ISBN 0-13-792309-0
2. Tomanari GY, Eckerman DA. O rato Sniffy vai à escola: condicionamento operante no ensino de Psicologia. *Psicologia: Teoria e Pesquisa*. 2003;19(2):199–204. doi: 10.1590/S0102-37722003000200008
3. Wilson G, Alloway T, Graham J. Sniffy the Virtual Rat: Pro Version 2.0. Belmont: Thomson Learning, 2006. ISBN 0534633609, 9780534633608
4. Silva RH, Frussa-Filho R. The plus-maze discriminative avoidance task: A new model for studying memory--anxiety interactions. Effects of chlordiazepoxide and caffeine. *J Neurosci*. 2000; 102(2):117-25. doi: 10.1016/ s0165-0270(00)00289-2.
5. Carola V, D'Olimpio F, Brunamonti E, Mangia F, Renzi P. Evaluation of the elevated plus-maze and open-field tests for the assessment of anxiety-related behaviour in inbred mice. *Behav Brain Res*. 2002;134(1-2):49-57. doi: 10.1016/s0166-4328(01)00452-1.
6. Almeida RM. M. et al. Modelos comportamentais de depressão em roedores e seus correlatos neuroquímicos. *Revista Brasileira de Psiquiatria*. 2028;(40)3:290–8. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/rbp/a/Km5yyZNSNHBxSzPTwNj6Bfn/>.
7. Porsolt RD, et al. Behavioral despair in rats: a new model sensitive to antidepressant treatments. *European Journal of Pharmacology*, 1978;(47)4:379–91. doi: 10.1016/0014-2999(78)90118-8.
8. Souza RA, Oliveira TM, Ferreira LJ. Redes de Petri aplicadas à modelagem do comportamento animal em ambientes simulados. *Revista Brasileira de Computação Aplicada*, 2021;(13)1:55–66. Disponível em: <https://seer.upf.br/index.php/rbca/article/view/10988>.

UTILIZAÇÃO DA PELE DE TILÁPIA DO NILO (*OREOCHROMIS NILOTICUS*) PROCESSADA EM GLUTARALDEÍDO 0,5% OU CLOREXIDINA 2% EM HERNIOPLASTIA ABDOMINAL DE *RATTUS* *NORVEGICUS* VARIEDADE WISTAR

Síria da Fonseca Jorge, Luiza Lobo Caitano, Júlia de Oliveira Araujo Almeida, Letícia Arthou Aatahides, Maria Júlia Ribeiro de Oliveira, Juliana de Jesus Monteiro Alves, Carolina Seabra da Costa, Marcelo Abidu Figueiredo

RESUMO

Lesões teciduais representam uma ocorrência comum na prática veterinária, resultantes de anomalias congênitas, traumas, hérnias ou intervenções cirúrgicas, especialmente em casos oncológicos e traumatismos. Diante desse cenário, torna-se essencial o aprimoramento de técnicas reconstrutivas eficazes. As hérnias, por sua vez, são caracterizadas pela fraqueza ou falha na integridade das camadas corporais, permitindo a protrusão parcial ou total de órgãos, o que compromete a função e o bem-estar do animal. Embora as hernioplastias sejam amplamente aplicadas, ainda enfrentam desafios relacionados a complicações pós-operatórias, impulsionando a busca por novos materiais que aliem biocompatibilidade, eficácia e menor risco. Nesse contexto, a pele da tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) surge como um promissor biomaterial alternativo. Estudos indicam que suas propriedades estruturais e biológicas podem favorecer a regeneração tecidual, sendo uma opção viável para aplicações cirúrgicas. O presente estudo propõe avaliar a eficácia da pele de tilápia conservada em glicerina a 98% na correção de hérnias em ratos da variedade Wistar (*Rattus norvegicus*). Foram utilizados 20 animais, distribuídos aleatoriamente em dois grupos. Esses grupos experimentais receberão próteses esterilizadas com glutaraldeído 0,5% (grupo G) e clorexidina 2% (grupo C), ambas armazenadas em glicerina. Todos os animais serão acompanhados por meio de avaliações clínicas, termográficas e análises macroscópicas após o óbito. O objetivo é verificar a integração do biomaterial e possíveis reações teciduais adversas ao longo de 30 dias.

Palavras-chave: Pele de tilápia; biomaterial; hérnias.

INTRODUÇÃO

As hérnias abdominais estão entre as principais enfermidades na rotina veterinária, sendo comum o uso de materiais sintéticos para a correção do defeito da parede abdominal. Contudo, a procura por alternativas biológicas vem crescendo significativamente, devido a necessidade de reduzir complicações e custos relacionados às próteses tradicionais. Dessa forma, a pele da Tilápia do Nilo se apresenta como uma opção promissora, principalmente por ser rica em colágeno e apresentar uma boa capacidade de absorção pelo organismo, o que favorece a cicatrização.

Habitualmente, o reparo de hérnias abdominais envolve o uso de telas sintéticas de polipropileno, devido à sua resistência e capacidade de prevenir recidivas. Entretanto, esse material pode provocar efeitos adversos, como por exemplo aderências, sepse, fístulas enterocutâneas, volvo, obstrução intestinal gerada pelas aderências. Além disso, o custo dessas telas é um desafio na rotina veterinária, onde os recursos muitas vezes são limitados.

Dessa maneira, a busca por soluções mais seguras, sustentáveis e acessíveis tem impulsionado pesquisas com biomateriais de origem animal. A pele da Tilápia do Nilo é um subproduto que usualmente é descartado na indústria do pescado, e tem se destacado como uma alternativa para aplicações medicinais, por suas características favoráveis.

A confecção de malhas cirúrgicas ideais tem como propósito cumprir exigências específicas, como por exemplo resistência mecânica, compatibilidade com hospedeiro, baixa resposta inflamatória, redução na formação de aderências. Além disso, espera-se que esses materiais proporcionem a mobilidade fisiológica funcional.

Para garantir que as malhas de origem animal mantenham suas propriedades estruturais e funcionais, é indispensável o uso de processos adequados de conservação e esterilização.

Dentre os métodos utilizados, a clorexidina possui forte ação antimicrobiana e baixa toxicidade em concentrações de até 2%, e a glicerina a 98%, amplamente empregada na preservação de tecidos biológicos, destacando-se a eficácia na conservação de membranas de diversas espécies. O glutaraldeído, é um desinfetante reconhecido por sua capacidade de estabilização celular e por seu custo acessível.

A tilápia é cultivada em diversos lugares no mundo, o que torna sua pele uma matéria prima de fácil obtenção, o que contribui para reduzir os custos de produção de biomateriais. Embora ainda seja considerada um resíduo na indústria de pesca, sua valorização como insumo para objetivos medicinais representa uma oportunidade estratégica do ponto de vista econômico e ambiental.

Diante disso, o uso de conservantes deve ser estudado de forma ampla, levando em consideração a aplicabilidade na produção de um biomaterial de qualidade.

JUSTIFICATIVA

A pele da tilápia do Nilo, frequentemente descartada como resíduo na cadeia produtiva da piscicultura, representa uma alternativa viável e abundante para o desenvolvimento de implantes biológicos. Tendo em vista sua ampla criação no Brasil e o fácil acesso à matéria-prima, esse subproduto se torna atrativo para estudos científicos com foco em biomateriais de baixo custo. No contexto acadêmico do Curso de Medicina Veterinária do UNIFESO, o aproveitamento desse material, anteriormente inutilizado, tem possibilitado avanços em linhas de pesquisa voltadas à biotecnologia do pescado.

Além da ampla disponibilidade da pele de tilápia, os insumos utilizados para seu processamento, como agentes conservantes e esterilizantes, são financeiramente acessíveis, o que viabiliza a produção de implantes com custo reduzido. Na medicina veterinária, especialmente em regiões com recursos limitados, a escassez de materiais cirúrgicos modernos e os desafios relacionados à rejeição de próteses sintéticas tornam necessária a busca por alternativas biológicas. Nesse cenário, os implantes derivados de tecidos animais ganham destaque,

oferecendo maior compatibilidade tecidual, menor incidência de reações adversas e melhor integração com o organismo, principalmente em casos cirúrgicos que exigem reconstruções como a hernioplastia.

OBJETIVOS

Objetivo geral:

A presente pesquisa tem como objetivo avaliar a pele de Tilápia do Nilo *Oreochromis niloticus* como biomaterial com finalidade inovadora, sustentável e de baixo custo para a criação de uma malha biológica para uso em correção de defeitos da parede abdominal.

Objetivos específicos:

- Aperfeiçoar um bioimplante cirúrgico inovador, de baixo custo e fácil aquisição;
- Avaliar a melhor técnica de desinfecção e confecção dos implantes de pele de Tilápia, através da análise microbiológica;
- Avaliar clinicamente os animais quanto a movimentação corporal e abdominal, locomoção, assim como reações de tipo corpo estranho e infecções, nos períodos 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 15 e 30 dias pós-operatório.
- Avaliar o processo inflamatório e tamanho dos implantes por de termografia infravermelha nos períodos pós-operatórios 0, 3, 7, 15 e 30 dias;
- Avaliar morfológicamente fragmentos de parede abdominal, contendo interface implante-hospedeiro nos períodos pós-operatórios de eutanásia pré-estabelecidos 7 e 30 dias
- Descrever as considerações obtidas no decorrer de todo o projeto;
- Aprimorar os resultados obtidos por Jorge (2016), Sousa-Filho *et al.* (2019) e Costa *et al.* (2021) com o desenvolvimento tecnológico no tratamento de hérnias. Disponibilizando subsídios para produção de novos e mais completos artigos científicos, dando continuidade à linha de pesquisa sobre a utilização de novos biomateriais.

REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

As hérnias abdominais representam uma afecção cirúrgica relevante tanto na medicina humana quanto na veterinária, exigindo estratégias eficazes de reconstrução da parede abdominal, principalmente em situações com perda de tecido ou necessidade de reforço estrutural (RICCIARDI *et al.*, 2012; SMEAK, 2018). O uso de materiais sintéticos, como o polipropileno, é comum, mas pode resultar em efeitos colaterais importantes, como aderências, fistulas, infecções e resposta inflamatória exacerbada (KIST *et al.*, 2012; UTRABO *et al.*, 2021).

Diante dessas limitações, as malhas biológicas vêm sendo cada vez mais estudadas, por apresentarem maior compatibilidade com o tecido hospedeiro, menor risco de rejeição e melhores propriedades de integração tecidual (MONTGOMERY, 2013). Entre os biomateriais emergentes, destaca-se a pele da tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*), já amplamente utilizada como curativo biológico no tratamento de queimaduras humanas (LIMA-JÚNIOR *et al.*, 2017) e também estudada como matriz implantável em hernioplastias experimentais (JORGE *et al.*, 2021).

A pele de diversos peixes possui características estruturais vantajosas, como alta concentração de colágeno, resistência mecânica, textura compatível com tecidos moles e baixa antigenicidade (ELANGO *et al.*,

2017). Essas propriedades favorecem a proliferação celular e o processo de cicatrização, fazendo desse material uma alternativa promissora às próteses sintéticas convencionais (NEVES, 2023).

Para aplicação clínica ou experimental, a pele de tilápia deve ser submetida a métodos de descontaminação e conservação que garantam sua integridade e esterilidade. O glutaraldeído, utilizado na concentração de 0,5%, é um fixador químico eficaz, capaz de estabilizar o colágeno e aumentar a resistência do tecido, sendo empregado na conservação do pericárdio e outras membranas biológicas desde a década de 1960 (BAUCIA et al., 2006; GOISSIS et al., 1999; COSTA, 2024).

A clorexidina, por sua vez, é um antisséptico com ampla ação bactericida, geralmente utilizado em concentrações de até 2%. Seu uso na conservação de tecidos é baseado na alta afinidade pela pele, baixa toxicidade sistêmica e atividade eficaz contra bactérias gram-positivas e gram-negativas (ALMEIDA; DUQUE; MARION, 2014).

Outro agente amplamente utilizado na conservação e esterilização de tecidos biológicos é a glicerina 98%, que evita a degradação celular, mantendo a integridade das estruturas implantáveis, sendo assim, aplicável para a conservação de membranas biológicas (ALVARENGA, 1992; NOVAES, 2015).

Estudos recentes têm mostrado que a pele de tilápia apresenta bons índices de integração tecidual, baixa resposta inflamatória e reduzida formação de aderências nesse modelo experimental (COSTA, 2021; JORGE et al., 2021).

MÉTODOS

Considerações Éticas

Este experimento foi submetido à Comissão de Ética do Uso de Animais de Experimentação (CEUA/UNIFESO) do Centro Universitário Serra dos Órgãos, e aprovado sob registro nº564/23.

Com isso, esta pesquisa encontra-se de acordo com a Lei nº11.794 de 8 de outubro de 2008 (DIÁRIO OFICIAL, 2008). Também, este estudo segue às Diretrizes ARRIVE (*Animal Research: Reporting of In Vivo Experiments*) para utilização de animais de experimentação em pesquisas (KILKENNY et al., 2010).

Divisão dos Grupos e Local de Experimentação

Neste trabalho foram utilizados 20 *Rattus norvegicus*, variedade Wistar, machos, jovens, com peso (400 ± 50) e tamanho semelhante. No primeiro ano (2024) foi avaliado o primeiro ciclo com 21 animais nos dias 7 e 30 pós-operatórios, onde foram analisados os processos inflamatórios agudo e crônico, como prescrito no CEUA aprovado em anexo. No segundo ano (2025) de pesquisa aconteceu o estudo de mais 10 animais, com avaliação nos períodos de 15 e 90 dias de pós-operatórios dos processos inflamatórios intermediário, agudo/crônico e a incorporação total do implante.

Preparo das Peles, das Soluções Conservantes e Confeção dos Implantes de Tilápia do Nilo

O preparo dos materiais e das soluções para confecção dos implantes de pele de Truta foi a primeira etapa para realização do experimento, é válido ressaltar que todos os procedimentos foram realizados preconizando reduzir ao máximo a contaminação, através da autoclavagem dos recipientes e materiais, além da utilização de luvas estéreis desde a limpeza dos peixes, até o manuseio final dos implantes.

As peles de Tilápia do Nilo foram oriundas do tanque escavado do campus Quinta do Paraíso, da Faculdade de Medicina Veterinária do Centro Universitário Serra dos Órgãos – UNIFESO. Os peixes foram transportados ao Laboratório da POA (Produtos de Origem Animal), do mesmo curso, no mesmo campus, imersos em gelo, imediatamente após a pesca, em trajeto de cinco minutos.

Após dessensibilizados, os peixes foram abatidos para consumo de carne, sendo este processo realizado conforme as normativas legais vigentes, e realizada através da disciplina de Produção Animal 2 no curso de Medicina veterinária do UNIFESO, onde as peles seriam descartadas após processamento para consumo dos peixes, e foram então obtidas por doação para realização desta pesquisa.

A partir, os fragmentos de pele foram divididos em dois grupos e seguiram para processamento. O primeiro grupo de peles de Tilápia foram imersas em solução comercializada de Clorexidina degermante 2% [Rioquímica®] 1 Litro- Antisséptico, por 60 minutos, seguidas de lavagem abundante com NaCl 0,9% estéril (JORGE, 2016; JORGE et al., 2021).

O segundo grupo de peles de Tilápia seguiu para imersão em Glutaraldeído 0,5% [Glutacin 28, CI-NORD®]. O agente em questão foi adquirido na concentração de 2%, e diluído com água destilada proporcionalmente até a concentração desejada, também tamponada com PBS (pH 7.4) (NOVAES, 2015; COSTA et al., 2024). Então, os fragmentos de pele de tilápia foram imersos na solução de Glutaraldeído 0,5% por 18 dias, seguindo posteriormente para lavagem com NaCl 0.9% estéril e processo de conservação (GOISSIS, 1999; NOVAES, 2015; COSTA, ANDRADE, SILVA 2016; NEVES, 2023; COSTA et al., 2024).

Após o processo de desinfecção, as peles foram processadas de forma idêntica, sendo encaminhadas para conservação em recipiente de vidro vedável e autoclavado contendo solução comercial de Glicerina 98%, em quantidade suficiente a imergir os implantes, permanecendo sob conservação por um período mínimo de 30 dias (PIGOSSI et al., 1971; JORGE et al, 2021).

No momento de sua utilização foi necessário a reidratação destes implantes por imersão em NaCl 0,9%, por período mínimo de 20 minutos (JORGE, 2016; JORGE et al, 2021).

Procedimento Cirúrgico

Técnica Anestésica

A técnica anestésica foi realizada evitando o estresse dos animais. Com contenção química individual em câmara anestésica, com Isoflurano [Isoforine®] e Oxigênio 100%, em seguida, administração de Cetamina (75mg/Kg) [Cetamin® 10%] e Xilazina (8mg/Kg) [Xilazin® 2%], via intraperitoneal (FLECKNELL; THOMAS, 2017).

A manutenção anestésica foi realizada através de máscara facial, em circuito Baraka neonatal, com mesmos gases em vaporizador universal, conforme necessário de acordo com os parâmetros trans anestésicos. Durante o transnestsico os animais e o ambiente foram submetidos a controle térmico, a fim de reduzir a hipotermia ocasionada pelo procedimento anestésico e cirúrgico (SARTORI; MELLO, 2018). A analgesia foi realizada com a administração de Cloridrato de Tramadol (12,5 mg/Kg) [Cloridrato de Tramadol® 50mg/ml], via subcutânea, em pós-operatório imediato e durante os cinco dias seguintes, a cada 24 horas. A dor foi avaliada em escala Grimace, para resgate analgésico se necessário. Foi realizada contenção química para as capturas termográficas, com câmara anestésica, seguida de máscara facial, com Isoflurano e O₂ (FLECKNELL; THOMAS, 2017).

Técnica Cirúrgica

A técnica cirúrgica se descreve conforme Jorge (2016), Jorge e colaboradores (2021) e Costa e colaboradores (2024) por incisão xifo-pubiana de pele na linha média com conseguinte dissecação de tecido subcutâneo, posicionamento de dois reparos em pele na região abdominal direita, seguindo da criação de uma falha em toda a espessura da parede abdominal direita, incluindo aponeuroses musculares, músculos e peritônio de 1,5 cm no eixo transversal por 3,0 cm no eixo longitudinal. A partir, o respectivo implante foi posicionado sobre a ferida, de acordo com o grupo em questão, e fixado em suas bordas conjunto a musculatura através de sutura contínua simples, interrompida em cada bordo da ferida, com fio de Nylon 4.0 [PROCARE®], a partir daí, a síntese de pele ocorreu com pontos em padrão “Wolf”, em fio Nylon 4.0 [PROCARE®].

Pós-operatório

Os animais receberam antibioticoterapia com enrofloxacin durante 7 dias na dose de 100 mg para cada litro de água ingerido (VIANA, 2007, JORGE, 2016; JORGE et al, 2021; JORGE et al, 2023).

Coleta de dados pós-operatório

Análise Clínica

Os animais foram pesados no dia do procedimento cirúrgico e nos dias 3, 7, 15 e 30 pós-operatórios, com comparação individual e entre grupos. Foram avaliados visualmente e com relação ao seu comportamento nos dias 5, 7, 15 e 30 com foco na mobilidade locomotora e presença de edema, seromas, hematomas, abscessos, fístulas, necrose e deiscência de sutura, utilizando um escore de ausente (-) a muito grave (++++).

Análise termográfica

Imagens termográficas foram capturadas através de um termógrafo Flir® T420, com resolução de 320 x 240 e sensibilidade de 0.045 °C. A captura foi realizada no dia da cirurgia e nos dias 3, 7, 15 e 30 de pós-operatório, com os ratos sedados e em decúbito dorsal. As imagens foram tratadas no aplicativo Flir Tools®, para mensurar e comparar as temperaturas cutâneas do lado abdominal direito (com o implante) e esquerdo (“controle”). Foram criados 10 pontos aleatórios, formando uma linha imaginária craniocaudal, paralelos, em cada região abdominal (LD e LE), cada qual com sua temperatura, fornecida através do software, proporcionando o cálculo da temperatura média em cada lado do abdômen, em cada rato e período pós-operatório. A diferença entre as médias dos dois lados foi comparada observacionalmente no mesmo animal, em cada período, e a média da temperatura média dos lados abdominais foi calculada por grupo, nos diferentes períodos pós-operatórios, permitindo a comparação das médias de temperatura de cada lado, em cada período pós-operatório, e a observação da maior ou menor diferença de temperatura dos lados abdominais, com o passar dos períodos.

RESULTADOS

Grupo TCI7d (pele de tilápia do Nilo com clorexidina 7 dias)

Em análise clínica o grupo TCI7d não foram observadas presença de seroma, hematoma, abscessos, infecções, fístulas ou necroses, sendo observado edema em grau leve em dois roedores ao dia 1 (rato 4 e 5), per-

manecendo ao dia 2 e tendo melhora com ausência aos demais períodos pós-operatórios. Os demais roedores não apresentaram alteração clínica em pós-operatório, sendo o edema presente em 40% dos animais, ou dois dos cinco ratos, neste grupo.

A análise ponderal demonstrou peso médio de 0.406g ao dia do procedimento cirúrgico (Dia 0), ao dia 3 de 0,376 g, e ao dia 7, dia da eutanásia de 0,382 g. Houve perda média de 0,024 g, ou 6,2%, do peso corpóreo durante o período pós-operatório de análise. (figura 1)

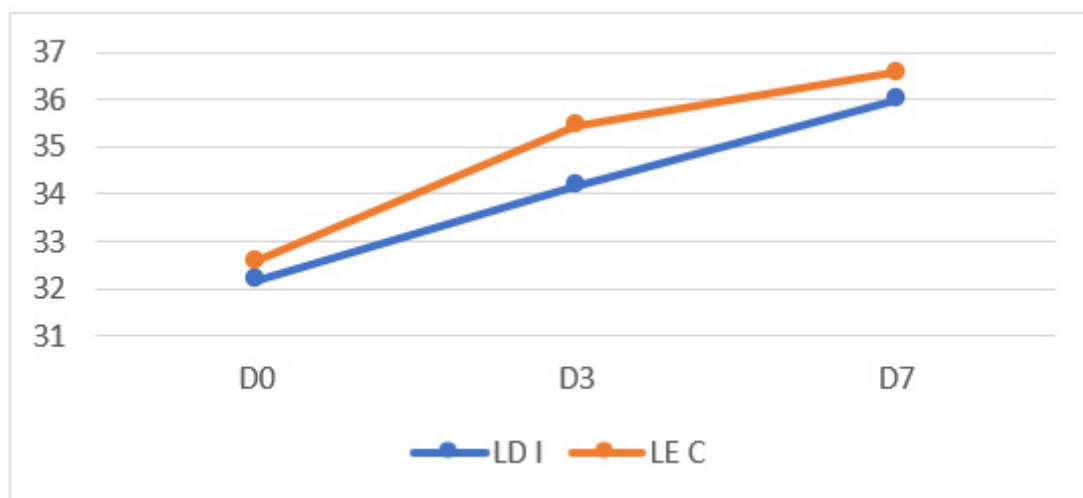
Figura 1: Gráfico análise ponderal do grupo TCL7d, arquivo pessoal 2025.



A análise termográfica do Grupo TC17d, ao dia do procedimento cirúrgico, os animais apresentaram temperaturas baixas e próximas entre os lados abdominais direito e esquerdo; ao 3º dia LE (lado esquerdo) com temperatura superior, temperaturas não tão próximas (decorrente da ausência de vascularização do implante conjunto ao intenso infiltrado inflamatório ao sítio cirúrgico); ao 7º dia as temperaturas estavam próximas com o LE (lado esquerdo) ainda levemente superior (reação inflamatória imediata e intensa, com aderência e início de infiltrado celular ao implante) (Figura 2). Não foram observadas significância estatística entre as temperaturas dos lados abdominais por subgrupo, com $p > 0.05$ em todas as análises realizadas.

Figura: Gráfico da análise termográfica do Grupo TC17d, demonstrando menor temperatura em D0, maior diferença entre as temperaturas em D3 e reaproximação em D7, com região superior esquerda em todos os períodos.

Figura 2: Gráfico de análise termográfica do grupo TC17d, arquivo pessoal, 2025.

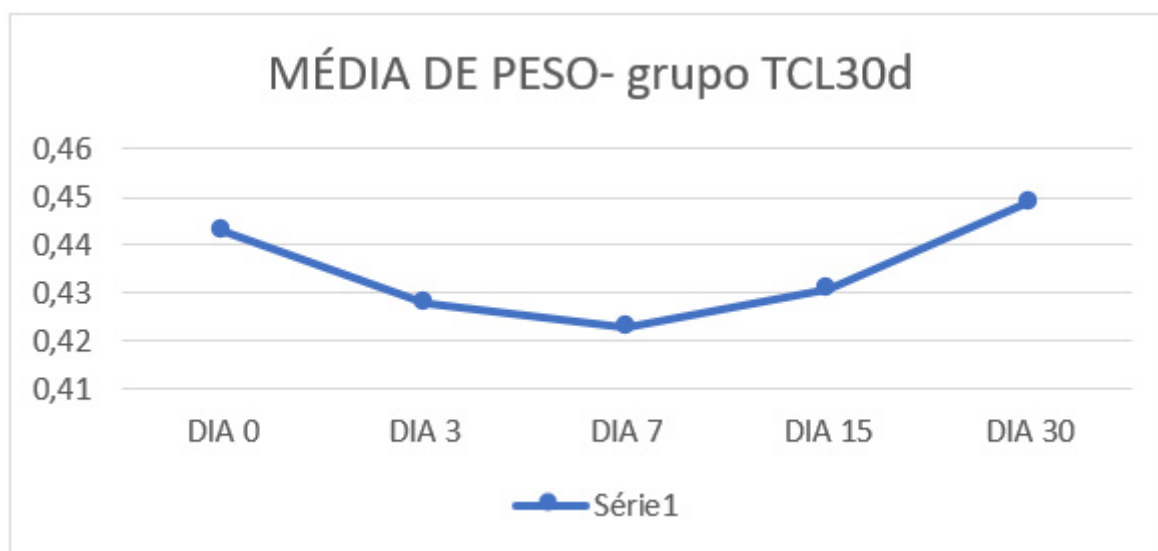


Grupo TC130d (pele de tilápia do Nilo com clorexidina 30 dias)

Em análise clínica o grupo TC30d não foram observadas presença de edema, hematoma, abscessos, infecções, sendo observado seroma em grau leve em um roedor ao dia 7 (rato 5), permanecendo até dia 9 e tendo melhora com ausência aos demais períodos pré-operatórios. Os demais roedores não apresentaram alterações clínicas no pós-operatório.

A análise ponderal demonstrou peso médio de 0,443 g ao dia do procedimento cirúrgico (Dia 0), ao dia 3 de 0,428 g, ao dia 7 de 0,423 g, ao dia 15 de 0,431g e ao dia 30, dia da eutanásia 0,431g. Houve ganho médio de 0,006 gramas ou 1,35% do peso corpóreo durante o período pós-operatório de análise (Figura 3).

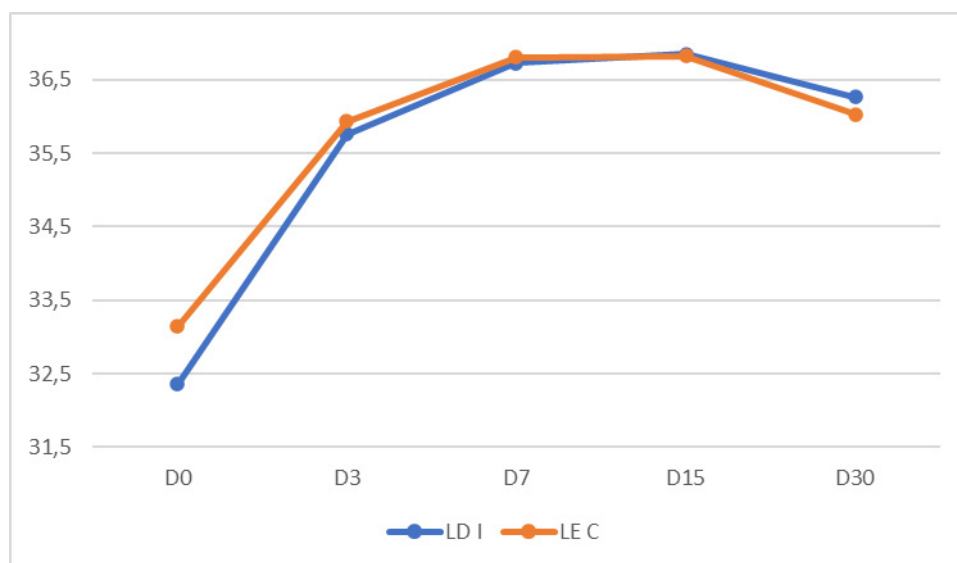
Figura 3: Gráfico da análise ponderal do grupo TCL30d, arquivo pessoal 2025.



Em análise termográfica o grupo apresentou, no dia do procedimento cirúrgico temperaturas baixas em ambos os lados abdominais (em decorrência ao procedimento cirúrgico e técnica anestésica). Ao 3º dia foram observadas temperaturas aproximadas (0,17 °C de diferença entre si), entretanto, com maior diferença do que nos períodos seguintes de pós-operatório, com o LE superior (correlaciona-se a reação inflamatória imediata e ausência de vascularização do implante). Ao 7º dia as temperaturas dos lados abdominais apareceram ainda mais próximas (0,08 °C de diferença entre os lados), porém, com LE superior (estima-se ser consequente a reação inflamatória imediata com intenso infiltrado celular e início das formações de aderência, o que leva as temperaturas irem se aproximando entre os lados abdominais). Ao 15º dia as temperaturas entre os lados abdominais aparecem praticamente iguais (0,03°C de diferença entre si), com o LD (lado direito) aparecendo com temperatura superior, apesar disto, entre os animais foi observado a maior diferença entre os lados de 0,16 °C e a menor 0,14 °C, estando dois deles com o LE mais quente e três com o LD mais quente (a proximidade das temperaturas entre os lados abdominais pode estar associada ao encapsulamento do implante, consequente angiogênese do processo de incorporação e a intensa vascularização dos tecidos musculares adjacentes, os quais conjunto as aderências já formadas neste período pós-operatório estariam levando essa neovascularização até o implante). Ao 30º dia a região direita, LD, ainda apresentava temperaturas superiores, um pouco mais afastadas em relação ao décimo quinto dia de análise (0,23 °C), porém ainda aproximadas na maioria dos animais, onde todos os cinco animais apresentava LD, ou seja, com o implante, com temperatura superior a região esquerda do abdômen (neste período estima-se o completo encapsulamento do implante, com formação de neovascularização e início da fragmentação deste, onde está temperatura superior pode ser associada ao infiltrado celular desta absorção/neoformação tecidual), Não foram observadas significância estatística entre as temperaturas dos lados abdominais por subgrupo, com $p > 0.05$ em todas as análises realizadas.

Gráfico da análise termográfica do Grupo TCL30d, demonstrando menor temperatura em D0, proximidade das temperaturas em D3, D7 e D15. Com temperatura superior em LE em D3 e D7 e em LD em D15 e D30. (Figura 4)

Figura 4: Gráfico de análise termográfica do grupo TCL30d, arquivo pessoal 2025.



Grupo TGt7d (Pele de tilápia do Nilo tratada com glutaraldeído 7 dias)

A análise clínica do grupo TGt7d não foram observadas presença de seroma, hematoma, abscessos, infecções fístulas ou necrose.

A análise ponderal demonstrou peso médio de 0,424 g no dia do procedimento cirúrgico; 0,386 g no dia 3; e ao dia 7, dia da eutanásia de 0,380 g. Houve perda média de 0,44 g ou 10,12% do peso corporal durante o período pós-operatório de análise. (Figura 5)

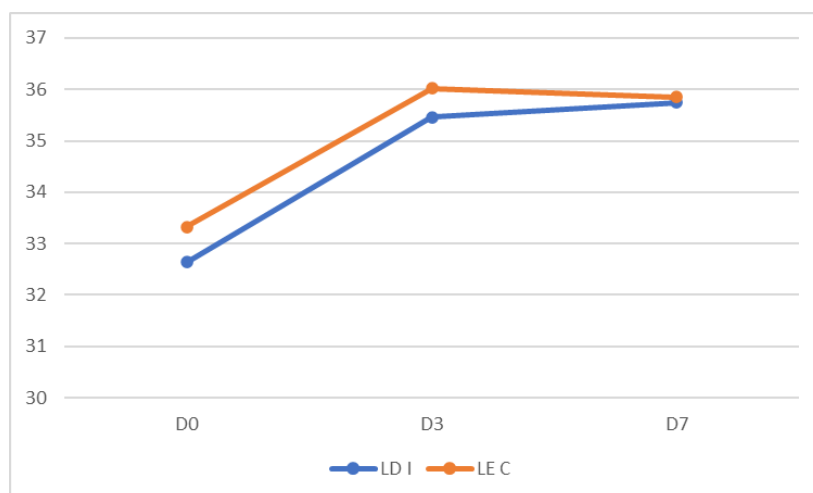
Figura 5: Gráfico da análise ponderal do grupo TGt7d, arquivo pessoal 2025.



A análise termográfica do Grupo TGt7d, demonstrou temperaturas baixas ao dia do procedimento cirúrgico, estando o LE (lado esquerdo) superior; ao 3º dia o LE (lado esquerdo) ainda apresentava temperatura superior, estando não tão próximas entre si (estima-se que em consequência a ausência de vascularização do implante conjunto ao intenso infiltrado inflamatório celular em região muscular adjacente ao sítio do implante cirúrgico); ao 7º dia as temperaturas foram observadas bem próximas (0,1 °C de diferença entre si), com o LE (lado esquerdo) ainda levemente superior (reação inflamatória imediata e intensa, com início das formações de aderências e infiltrado celular ao implante, formando a cápsula fibrosa que o envolveria ao decorrer dos períodos pós-operatórios). Não foram observadas significância estatística entre as temperaturas dos lados abdominais por subgrupo, com $p > 0.05$ em todas as análises realizadas.

Gráfico da análise termográfica do Grupo TGt7d, demonstrando menor temperatura em D0 em ambos os lados, LE superior em todos os períodos pós-operatórios, com temperaturas em maior distância entre si em D3 e próximas em D7. (figura 6)

Figura 6: Gráfico da análise termográfica do grupo TGt7d, arquivo pessoal 2025.

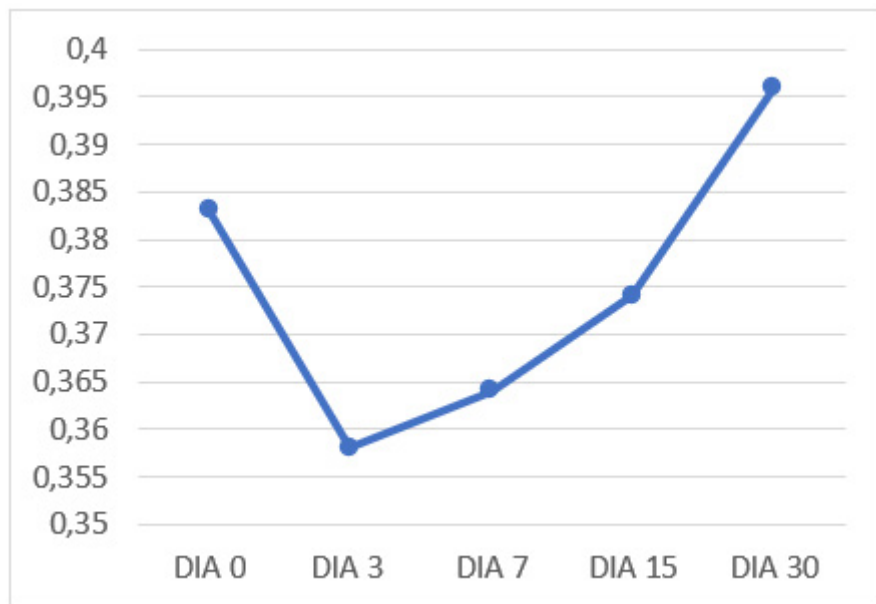


Grupo TGt30d (Pele de tilápia do Nilo com glutaraldeído 30 dias)

Em análise clínica o grupo TGt30d não foram observadas presença de seroma, hematoma, abscessos, infecções, fístulas ou necroses. Foi observado edema em grau leve em dois roedores ao dia 1 (ratos 4 e 5), permanecendo até o dia 2 e tendo melhora com ausência aos demais períodos pós-operatórios. Os demais roedores não apresentaram alteração clínica em pós-operatório, sendo o edema presente em 40% dos animais, ou dois dos cinco ratos.

A análise ponderal demonstrou peso médio de 0,383 g ao dia do procedimento cirúrgico (Dia 0), ao dia 3 de 0,358 g, ao dia 7 0,364 g, ao dia 15 0,374 g e ao dia 30, dia da eutanásia 0,396 g. Houve perda de peso até o terceiro dia, a partir daí os animais ganharam peso sucessivamente nos períodos pós-operatório, estando aos 30 dias com peso superior ao inicial em média de 0,06 g, ou 3,68%. (figura 7)

Figura 7: Gráfico da análise ponderal do grupo TGt30d, arquivo pessoal 2025.

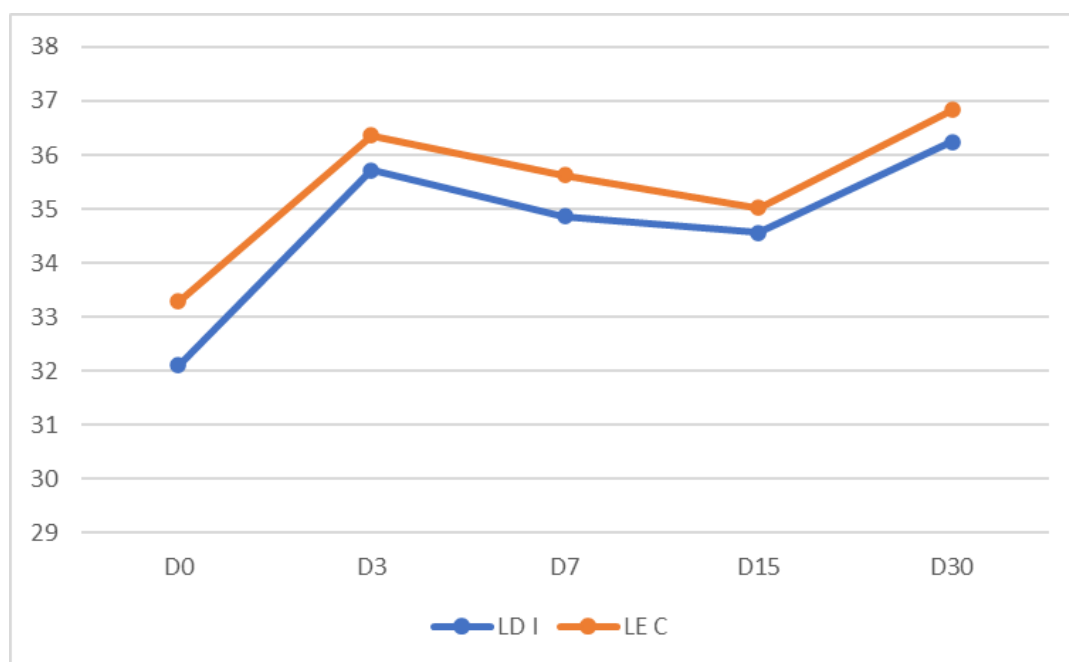


Em análise termográfica o grupo apresentou, no dia do procedimento cirúrgico temperaturas baixas em ambos os lados abdominais (consequente ao procedimento cirúrgico e técnica anestésica). Ao 3º dia foram observadas temperaturas afastadas entre si, entretanto, com menos diferença do que observada em grupo tratado com clorexidina, ainda superiores em LE superior (associadas a reação inflamatória imediata e ausência de vascularização do implante, estando aproximadas neste período por provável reação inflamatória tardia). Ao 7º dia as temperaturas dos lados abdominais apareceram ainda próximas, com LE superior (consequente a reação inflamatória imediata, sendo apresentada tardia em comparação ao outro grupo, com preparo do implante diferente, aparecendo acentuada em sítio cirúrgico adjacente ao implante, com intenso infiltrado celular. Ao 15º dia temperaturas ainda mais próximas do que nos demais períodos anteriores, com LE superior (estima-se que neste grupo a reação inflamatória tardia é acentuada e estendida, considera-se a maior citotoxicidade do meio de tratamento do implante. Também, a região esquerda não aparece com temperatura superior em todos os animais, estando aproximada e superior em região direita nos animais com reações clínica mais brandas, considerando então possível encapsulamento do implante, reação inflamatória crônica com infiltrado colagenoso e fibrótico. É de importância considerar as reações clínicas observadas no grupo, com a deiscência de sutura e exposição do implante, influenciado diretamente nas medidas de temperatura da termografia infravermelha,

apontando desta forma a região esquerda com temperatura superior). Ao 30º dia a região esquerda, LE, ainda apresentava temperaturas superiores, estando afastadas em relação ao último período, porém ainda aproximadas na maioria dos animais (estima-se que em decorrência dos processos de deiscência de sutura e exposição do implante as temperaturas em região contrária apareçam superiores no grupo).

Gráfico da análise termográfica do Grupo TGt30d, demonstrando menor temperatura em D0, proximidade das temperaturas em regiões abdominais nos demais períodos, com região esquerda superior em todos os períodos. (figura 8)

Figura 8: Gráfico da análise termográfica do grupo TGt30d, arquivo pessoal 2025.



DISCUSSÃO

No grupo de animais que recebeu pele tratada com glutaraldeído apresentaram deiscência de sutura, divergindo dos resultados de Jorge (2016), que relatou taxas elevadas de deiscência com outros tipos de implantes. Essa menor taxa de deiscência pode ser atribuída ao método de confecção do implante e/ou ao tipo de sutura cutânea empregada, seguindo a técnica de “Wolf” ou “u-horizontal,” em consonância com Burger (2014), que destaca sua eficácia em roedores.

A deiscência de sutura foi exclusiva nos roedores que receberam implantes confeccionados com glutaraldeído, alinhando-se com as observações de Vivas e colaboradores (2021), que associam o glutaraldeído à alta toxicidade no local do implante em consequência ao meio de tratamento, onde os autores também observaram deiscência de sutura em experimento com implantes em subcutâneo de ratos. Costa e colaboradores (2023) observaram em seu estudo com implantes de pele de truta tratado em glutaraldeído também deiscência de sutura em consequência a alta citotoxicidade do implante, apesar disto, as feridas seguiram cicatrizando por segunda intenção, estando em estado satisfatório aos 90 dias de pós-operatório, sem mais exposição do implante.

A perda de peso é observada em demais estudos com procedimento cirúrgico similar, como em Jorge e colaboradores (2021), Jorge e colaboradores (2023) e Costa e colaboradores (2024), com maior perda de peso

até o terceiro dia de pós-operatório e a partir do início de sua recuperação, em hernioplastias em ratos com implantes biológicos e/ou sintéticos, correlaciona-se a perda ápole de peso as alterações metabólicas acarretadas pelo procedimento anestésico e a hipotermia decorrente deste e do procedimento cirúrgico, como Sartori e Mello (2018) descrevem em grande ocorrência em ratos de mesma espécie.

As baixas temperaturas médias dos animais no dia do procedimento cirúrgico estão correlacionadas à hipotermia trans e pós-operatória, decorrentes da técnica anestésica e do procedimento cirúrgico, como descrevem Sartori e Mello (2018) e Flecknell e Thomas (2017) com alterações metabólicas decorrentes da hipotermia transanestésica em ratos.

A temperatura elevada na região abdominal esquerda no dia do procedimento cirúrgico e no terceiro dia pós-operatório, em todos os grupos, podem ser correlacionadas ao trauma cirúrgico na região adjacente, com intenso infiltrado inflamatório, e à ausência de vascularização e infiltrado celular no implante. É observado um infiltrado celular inflamatório agudo no sítio cirúrgico imediatamente após o pós-cirúrgico, a partir do primeiro dia pós-cirúrgico, com infiltrado de neutrófilos Jorge e colaboradores (2021).

A partir, do terceiro dia, a termografia infravermelha capta a radiação emitida pela movimentação celular no tecido cutâneo, o trauma cirúrgico pós-operatório imediato, e o reconhecimento do corpo estranho pelo organismo em resposta ao biomaterial leva a uma maior atividade celular, sendo diretamente relacionada ao que é observado por histologia, como descrevem Jorge (2016) e Jorge e colaboradores (2021). A captura de temperaturas aproximadas entre os lados abdominais a partir do sétimo dia é consequência do infiltrado celular no implante e do início da angiogênese, como os autores Jorge (2016) e Jorge e colaboradores (2021) também observam em seus estudos com termografia e malhas biológicas.

Assim como nos períodos finais, onde o implante inicia o processo de incorporação, conforme observado na histologia. A reação inflamatória tardia é descrita em estudos com malhas biológicas de glutaraldeído. Entretanto, a reação de deiscência de sutura interfere diretamente na captura das imagens termográficas, sendo um ponto importante na comparação da temperatura de uma região cutânea íntegra e da exposição do implante, como foi também observado por Jorge e colaboradores (2023) e Costa e colaboradores (2023), em análise termográfica com presença de deiscência de sutura em ratos com implantes de pele de Truta tratados com glutaraldeído.

Por fim, os implantes de pele de tilápia foram observados íntegros em todos os animais, sem presença de absorção precoce ou fistula, que levaria a recidiva herniária, em contraponto ao que foi observado em Costa e colaboradores (2024), onde com implantes de pele de truta com mesmo processamento foi observado absorção precoce e recidiva herniária a partir do terceiro dia de pós-operatório.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Até o presente momento, as peles de tilápia do Nilo processadas em clorexidina 2% e glutaraldeído 0,5% conservados em glicerina 100% demonstraram resultado promissor para a aplicação cirúrgica, demonstrando-se positiva em até 30 dias, com brandas alterações pós-operatórias e poucas formações de aderências. Contudo, as peles preparadas com clorexidina 2% após implantadas demonstraram melhor evolução clínica pós operatória, tanto aos 7 quanto aos 30 dias de pós operatório. O processamento dos dados das análises macroscópicas será realizado ao final da execução do projeto.

REFERÊNCIAS

- ALMEIDA, A.P.; DUQUE, T.M.; MARION, J.J.C. O uso da clorexidina na endodontia. *Uningá Review Journal*, v. 20, n. 2, 2014.
- ALVARENGA, J. Possibilidades e limitações da utilização de membranas biológicas preservadas em cirurgia. In: DALECK, C. R.; BAPTISTA, L. C.; MUKAI, L. S. *Tópicos em cirurgia de cães e gatos*. 3. ed. Jaboticabal, SP: FUNEP-UNESP, 1992. p. 33-42.
- BAUCIA, J.Á.; LEAL NETO, R.M.; ROGERO, J.R.; NASCIMENTO, N. Tratamentos anticalcificantes do pericárdio bovino fixado com glutaraldeído: comparação e avaliação de possíveis efeitos sinérgicos. *Braz. J. Cardiovasc. Surg.*, v. 21, n. 2, p. 180-187, 2006.
- COSTA, C.B.; ANDRADE, G.B.; SILVA, M.F.A. Aspectos patológicos do implante de pericárdio bovino tratado pelo glutaraldeído e pela glicerina em parede abdominal de camundongos. *Acta Scientiae Veterinariae*, v. 44, p. 1-7, 2016.
- COSTA, C.S. Utilização da pele de rã-touro (*Lithobates catesbeianus*) na hernioplastia abdominal de *Rattus norvegicus*, variedade Wistar: estudo experimental. Teresópolis, 2021. 72 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Medicina Veterinária) – Centro Universitário Serra dos Órgãos – UNIFESO.
- COSTA, C.S.D. et al. Use of rainbow trout skin treated with glutaraldehyde as a mesh for abdominal hernioplasty in rats. *Acta Cirúrgica Brasileira*, v. 39, e393024, 2024.
- ELANGO, J.; BU, Y.; BIN, B.; GEEVARETNAM, J.; ROBINSON, J.S.; WU, W. Effect of chemical and biological cross-linkers on mechanical and functional properties of shark catfish skin collagen films. *Food Bioscience*, v. 17, p. 42-51, 2017.
- FLECKNELL, P.A.; THOMAS, A.A. Anestesia e analgesia comparada em animais de laboratório. In: LUMB & JONES. *Anestesia e analgesia em veterinária*. 5. ed. Rio de Janeiro: Editora Roca, 2017. p. 2199-2202.
- GOISSIS, G.; BRAILE, D.M.; GIGLIOTI, A.F. Desenvolvimento de processo automático para a reticulação progressiva de matrizes de colágeno com glutaraldeído. *Polímeros: Ciência e Tecnologia*, p. 92-97, 1999.
- JORGE, S.F. Avaliação clínica, termográfica e morfológica da utilização da pele de rã-touro (*Lithobates catesbeianus*) e do polietileno de baixa densidade laminar bolhoso (plástico bolha) na hernioplastia da parede abdominal de *Rattus norvegicus*, variedade Wistar. Rio de Janeiro, 2016. 94 f. Tese (Doutorado em Ciência) – Instituto de Veterinária, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro.
- JORGE, S.F. et al. Utilização de pele de tilápia do Nilo e rã-touro em hernioplastia de parede abdominal de *Rattus norvegicus*, variedade Wistar. *Revista Jopic*, v. 6, n. 10, 2021.
- JORGE, S.F.; COSTA, C.S.; GITIRANA, L.B.; FIGUEIREDO, M.A. Bubble plastic use in rats hernioplasty: uso do plástico bolha em hernioplastias de ratos. *Heliyon*, v. 28, n. 9, e19483, 2023.
- KIST, C.; MANNA, B.B.; MONTES, J.H.M.; BIGOLIN, A.V.; GROSSI, J.V.M.; CAVAZZOLA, L.T. Estudo comparativo de aderências intraperitoneais associadas ao uso das telas de polipropileno e de malha leve de polipropileno revestida com ácido graxo ômega-3. *Revista do Colégio Brasileiro de Cirurgiões*, v. 39, n. 3, 2012.
- LIMA-JUNIOR, E.M. et al. Uso da pele de tilápia (*Oreochromis niloticus*), como curativo biológico oclusivo, no tratamento de queimaduras. *Rev. Bras. Queimaduras*, v. 16, p. 1-8, 2017.
- MONTGOMERY, A. The battle between biological and synthetic meshes in ventral hernia repair. *Hernia*, v. 17, p. 3-11, 2013.
- NEVES, D.R. Utilização de pele de truta arco-íris (*Oncorhynchus mykiss*) sob dois métodos de esterilização, na hernioplastia abdominal de *Rattus norvegicus*, variedade Wistar: estudo experimental. Teresópolis, 2023. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Medicina Veterinária) – Centro Universitário Serra dos Órgãos – UNIFESO.

NOVAES, A.S.M. Efeitos sistêmicos da implantação de pericárdio ovino tratado pelo glutaraldeído 1% e conservado em glicerina 98% na vesícula urinária de coelhos (*Oryctolagus cuniculus*). Rio de Janeiro, 2015. 37 f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) – Instituto de Veterinária, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro.

PIGOSSI, N. et al. Estudo experimental e clínico sobre o emprego como implante da dura-máter homogênea conservada em glicerina à temperatura ambiente. *Revista da Associação Médica Brasileira*, v. 17, n. 8, p. 263-278, 1971.

RICCIARDI, B.F. et al. Correção de hérnia abdominal com tela envolta por tecido fibroso - estudo em ratos Wistar. *Revista do Colégio Brasileiro de Cirurgiões*, v. 39, n. 3, p. 195-200, 2012.

SARTORI, A.S.; MELLO, J.R.B. Anestesia em animais de laboratório: revisão bibliográfica. *Veterinária em Foco*, v. 15, n. 2, p. 19-28, 2018.

SMEAK, D.D. Abdominal Wall Reconstruction and Hernias. In: JOHNSTON, S. A.; TOBIAS, K. M. *Veterinary surgery small animal*. 2.ed. St. Louis: Elsevier, 2018. p. 1564-1591.

SOUSA FILHO, J.C.D. Utilização da pele de tilápia do Nilo (*Oreochromis Niloticus*) na hernioplastia da parede abdominal de *Rattus norvegicus*, variedade Wistar. Teresópolis, 2019. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Medicina Veterinária) – Centro Universitário Serra dos Órgãos – UNIFESO.

TEIXEIRA, J.G.C. et al. Behavior of free omental grafts without vascular anastomosis implanted in cat's experimental wounds. *Ciência Rural*, v. 50, n. 9, e20190284, 2020.

UTRABO, C.A.L. et al. Dentre as telas Prolene®, Ultrapro® e Ebard soft® qual apresenta melhor desempenho no reparo da parede abdominal?. *ABCD Arquivos Brasileiros de Cirurgia Digestiva*, v. 34, n. 1, 2021.

VIANA, F.A.B. Guia terapêutico veterinário. 2. ed. Lagoa Santa: Gráfica e Editora CEM Ltda, 2007.

VIVAS, D.G. et al. Avaliação morfológica e tensiométrica de pericárdio bovinos pré-tratados em glutaraldeído e conservados em glicerina. *Medicina Veterinária (UFRPE)*, v. 15, n. 2, p. 130-137, 2021.

EFEITOS TRANSGERACIONAIS DA SEPARAÇÃO MATERNA EM FILHOTES DE RATOS WISTAR: ANÁLISE COMPORTAMENTAL POR MEIO DOS TESTES DE CAMPO ABERTO E LABIRINTO EM CRUZ ELEVADA

Geórgia Rosa Lobato, Suzana Maria Bernadino Araújo, Maria Eduarda Cordeiro da Cunha, Camila Matos Assunção Ana Carolina Klein dos Santos, Aline Pacheco Moura da Silva, Valéria Cristina Lopes Marques, Marcel Vasconcellos

RESUMO

Introdução: O estresse precoce é reconhecido como fator de risco para o desenvolvimento de transtornos psiquiátricos, sendo a separação materna (SM) em roedores um modelo validado para investigar a modulação do eixo hipotálamo-hipófise-adrenal e suas repercussões comportamentais. Alterações decorrentes da SM podem ser transmitidas de forma transgeracional, mesmo sem exposição direta ao estressor, reforçando a importância de estudos que avaliem esse fenômeno. **Objetivos:** Analisar se a SM prolongada induz um fenótipo predisposto a alterações emocionais e se tais efeitos são transmitidos às gerações subsequentes. **Métodos:** Estudo aprovado pela CEUA/UNIFESO nº 553/23. Foram utilizados 48 ratos Wistar, distribuídos em quatro grupos: Controle, Estresse Adulto, Separação Materna e Separação Materna + Estresse Adulto. O protocolo de SM consistiu no afastamento da prole do 2º ao 14º dia pós-natal por 3h/dia. Aos 90 dias, os animais foram submetidos a estresse adicional (isolamento social e ciclo claro de 24h). A avaliação comportamental incluiu os testes de Campo Aberto e Labirinto em Cruz Elevada aos 22 e 94 dias, além da dosagem plasmática de corticosterona. **Resultados:** Resultados preliminares do grupo controle indicaram perfil comportamental compatível com animais saudáveis: maior exploração de braços abertos na primeira exposição ao labirinto em cruz elevada, locomoção preservada, grooming fisiológico e atividade exploratória adequada. Não houve diferença significativa entre machos e fêmeas no tempo de permanência em braços abertos, embora as fêmeas tenham exibido comportamento exploratório mais intenso no Campo Aberto, em consonância com a literatura. **Conclusão:** Os achados iniciais validam o modelo experimental e permitem futuras comparações com os grupos submetidos à SM. A análise estatística (ANOVA de duas vias e pós-teste de Tukey, $p \leq 0,05$) confirmou as diferenças entre grupos. O estudo contribuirá para a compreensão dos mecanismos epigenéticos de herança de vulnerabilidade ao estresse e para o desenvolvimento de estratégias preventivas e terapêuticas em saúde mental.

Palavras-chave: Psicologia experimental; Transtornos psiquiátricos; Transgeracional; Epigenética; Ratos Wistar.

INTRODUÇÃO

O estresse precoce representa um fator de risco relevante para o desenvolvimento de transtornos psiquiátricos, sendo a separação materna (SM) em roedores um modelo amplamente utilizado para investigar os efeitos dessa experiência adversa sobre o eixo hipotálamo-hipófise-adrenal (HPA), a função neuronal e o comportamento emocional¹. Apesar de sua validade de construto, os achados da literatura mostram-se inconsistentes, com relatos de efeitos ansiogênicos e ansiolíticos associados à SM, com variações em relação a duração do afastamento, a espécie utilizada e o momento da avaliação⁶⁻¹⁰. Estudos recentes também destacam a importância de mecanismos epigenéticos na mediação da resposta ao estresse. As alterações decorrentes da SM podem ser transmitidas de maneira transgeracional, mesmo na ausência de exposição direta ao estímulo estressor^{12,13}. Nesse cenário, a utilização de ratos Wistar submetidos à SM prolongada e a fatores estressores adicionais na fase adulta configura um modelo experimental relevante para compreender tanto os efeitos imediatos quanto os potenciais desdobramentos em gerações subsequentes, oferecendo subsídios para o aprimoramento das estratégias de prevenção e tratamento em saúde mental.

JUSTIFICATIVA

Nemeroff (2016)³ aponta que filhos submetidos a algum tipo de estresse apresentam maiores riscos de desenvolver transtornos psiquiátricos, como depressão e ansiedade. Outro estudo inclui alterações neuroendócrinas, além da expressão de citocinas pró-inflamatórias e alterações em áreas cerebrais relacionadas com a regulação do humor, somado à possibilidade de mecanismos epigenéticos com potencial vulnerabilidade ao desenvolvimento de doenças psíquicas.^{1,3} Contudo, percebe-se que na sociedade nem todos os indivíduos submetidos à SM na infância desenvolvem alterações psíquicas. Nesse sentido, a questão norteadora é se um evento estressor na fase adulta poderia ser um fator desencadeante para a manifestação das alterações psíquicas. O estudo adotará a metodologia da separação materna prolongada na primeira infância somado a um estímulo estressor na fase adulta em ratos Wistar. Será possível buscar a compreensão da susceptibilidade ao desenvolvimento de transtornos psiquiátricos, associado aos possíveis déficits nos comportamentos sociais e se essas alterações poderiam ser transmitidas a outras gerações. Entendendo que a transgeracionalidade é representada pela experiência e conhecimentos trazidos a partir dos modelos familiares e sociais e que na maioria das vezes acontece de maneira inconsciente, perpassando entre as gerações e dimensões psíquicas¹⁻⁶. Nesse sentido, o grupo se propõe a estudar a hipótese de que os transtornos psiquiátricos, associado aos possíveis déficits nos comportamentos sociais possam ser transmitidos a futuras gerações. Limitações no estudo da transgeracionalidade e da herança epigenética aplicada aos transtornos psiquiátricos em humanos, corroboram com a necessidade da caracterização de um modelo animal como ferramenta que permita uma melhor compreensão sobre o tema, além da possibilidade de contribuir com a possibilidade de identificar fatores que predispõem ao desenvolvimento de psicopatologias, assim como contribuir para um diagnóstico mais preciso e de repensar as formas de tratamento e intervenção a serem trabalhadas com os sujeitos acometidos por psicopatologias nesse contexto.

Nota-se a integração de diferentes áreas do conhecimento e a relevância e a complexidade do tema proposto, somado a diversidade de competências necessárias para execução do projeto. Foi possível incluir estudantes de diferentes áreas como discentes em medicina, psicologia e biomedicina, técnicas de laboratório de ciência animal da instituição UNIFESO, todos sob a orientação de docentes do curso de medicina, sendo estes profissionais das áreas de medicina veterinária e psicologia. Acredita-se que a inserção de diferentes campos do conhecimento possa contribuir de forma significativa na obtenção e análise dos dados garantindo resultados robustos e consolidados, incentivar a atuação interprofissional sendo essa para a efetivação de mudanças das práticas profissionais, na intenção de qualificar para o trabalho colaborativo.

OBJETIVOS

Geral:

Analisar os impactos comportamentais da separação materna prolongada em ratos Wistar submetidos a um estímulo estressor na vida adulta.

Específicos:

- Analisar o comportamento de ratos (3ª geração), descendentes do cruzamento de animais consanguíneos (irmãos), portadores de transtornos psiquiátricos.
- Desenvolver em parceria com professores e discentes e do Curso de Graduação em Ciências da Computação, software similar ao Any-Maze Video Tracking System™ (Stoelting Co., IL. US).

REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

As teorias psicanalistas, desde o seu surgimento com Freud, apresentam como seu principal objeto de estudo o aparelho psíquico individual, sua estrutura e seus processos intrapsíquicos de funcionamento. Para a psicanálise, “a relação com o cuidador permite à criança aprender sobre o mundo, e isso inclui a capacidade de experimentar o mundo por meio dos sinais de segurança e ameaça que o cuidador transmite”¹, nesse sentido, a relação mãe-bebê se estabelece como meio significativo na construção do psiquismo, necessário seu estabelecimento como sujeito. Em seu livro “Instintos e suas Vicissitudes”, Freud (1915)², sinaliza o apego do bebê à mãe em seus primeiros anos de vida, assim atribui o vínculo que se estabelece nesta relação na associação da figura materna à redução de suas tensões fisiológicas, ao passo que a mãe supre suas necessidades de sede, fome, conforto e dor. Para alguns psicanalistas, este vínculo se estabelece para além das necessidades fisiológicas, visto o investimento emocional da mãe e a relevância no desenvolvimento e na estruturação do psiquismo. Diversos estudos demonstraram que filhos que passaram por algum tipo de estresse têm maiores riscos de desenvolver transtornos psiquiátricos, como depressão e ansiedade.³ Ademais, já relacionaram o neurodesenvolvimento da criança aos cuidados maternos. Ensaio realizado com crianças de um ano colocadas em ambientes novos, onde a mãe se ausentou durante um breve período, observou que as crianças oscilavam entre exploração do ambiente e a busca pela mãe, mostrando sinais de desconforto. O padrão foi descrito como apego seguro.⁴

Em pesquisas conduzidas em ratos (*Rattus norvegicus*), a manipulação neonatal induziu a déficits nos comportamentos sociais iniciais revelando ter um efeito determinante sobre o desenvolvimento do desempenho social.⁴ O estresse no início da vida na espécie tem efeitos adversos evidentes em diversos sistemas fisiológicos, contudo, o mais enfatizado é o aumento da vulnerabilidade ao desenvolvimento de transtornos psiquiátricos.⁵

Vários modelos animais foram desenvolvidos para estudar essa relação, cada um com diferentes tipos de estressores e tempos de desenvolvimento. A separação materna é uma categoria de modelos que manipula o ambiente pós-natal precoce da prole. A SM prolongada, em que a prole é removida de seu cuidador por entre 3 e 6 horas diárias, é considerada uma condição de estresse no início da vida. No entanto, os efeitos relatados da SM prolongada variam consideravelmente entre os estudos consultados.

Alguns estudos sugerem que a separação materna gera aumento da ansiedade^{6,7} e prejuízo na aprendizagem de respostas de esquiva⁸. Outros indicam que ela pode ter efeito ansiolítico⁹ e melhora no desempenho em uma aprendizagem de esquiva¹⁰. A inconsistência decorre das diferenças na metodologia da separação materna, da espécie escolhida, e do momento da avaliação do desfecho e escolha do grupo controle¹⁰. Após 30 anos de estudos

sobre os efeitos do manejo precoce e separação materna em ratos, foi proposto que o modelo de separação materna por 180 minutos diários (SM180), pode ser considerado um modelo evolutivo para a depressão humana¹¹, cumprindo os critérios para um modelo de depressão de alto valor de construto e validade mecanicista.

Diversas pesquisas têm demonstrado que, do ponto de vista biológico, variações na relação materna e no ambiente inicial do desenvolvimento alteram desde a expressão gênica,^{12,13} até a estrutura e o funcionamento cerebral¹⁴. Gehm¹⁵ aduziu que, embora a atual concepção de maternidade permita supor que a separação materna possa gerar prejuízos nas relações sociais dos animais a ela submetidos, os resultados decorrentes do modelo SM180 não permitem estabelecer uma conclusão definitiva. Em conjunto, os dados indicam que os efeitos da separação materna são mais complexos do que meramente “melhorar ou piorar” o desempenho dos animais em contextos sociais.

Diante da atual divergência na literatura sobre o tema, o presente estudo objetiva investigar se a separação materna prolongada, origina um fenótipo predisposto a transtornos psiquiátricos, mas que não necessariamente se exterioriza na vida adulta, a menos que haja continuidade de estímulos estressores (gatilhos). Ainda, testa a hipótese da transgeracionalidade das psicopatologias com base no conhecimento epigenético atual.

MÉTODOS

O estudo foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA-UNIFESO) sob o n.º 553/2023. Serão utilizados 48 ratos da linhagem Wistar (*Rattus norvegicus albinus*), com idade entre 1 e 90 dias e peso entre 6 e 300 g, sendo 24 machos e 24 fêmeas. Os animais serão randomizados e distribuídos nos seguintes grupos: 1. Grupo Controle (n = 12); ratos desmamados no 21º dia, sem estresse na vida adulta (90 dias); 2. Grupo Estresse Adulto (n = 12); neonatos mantidos com a presença materna até o desmame (21 dias), e submetidos a estresse na fase adulta (90 dias), por meio de isolamento social e ciclo claro de 24h por três dias consecutivos; 3. Grupo Separação Materna (n = 12); neonatos separados da mãe do 2º ao 14º dia por 3 horas diárias; 4. Grupo Separação Materna/Estresse Adulto (n = 12); neonatos separados da mãe do 2º ao 14º dia por 3 horas diárias e expostos a estímulo estressor (isolamento social e ciclo claro de 24h por três dias consecutivos) aos 90 dias. Os animais dos quatro grupos realizarão testes cognitivos e de ansiedade aos 22 e 94 dias de vida.

Modelo de Separação Materna prolongada por 3 horas diárias (Modelo SM180)

Do 2º ao 14º dia de vida, os neonatos serão submetidos ao procedimento de separação materna por 3 horas diárias. A separação materna consiste na privação diária do contato entre a prole e sua mãe por 3 horas diárias no horário das 9 às 12 h.

No início de cada período de separação, a mãe será retirada da gaiola e colocada em outra gaiola com características iguais, na mesma sala de manutenção. Em seguida, a caixa contendo os filhotes será conduzida até outra sala, com características semelhantes à anterior. Os filhotes serão, então, retirados da caixa e colocados sobre uma mesa forrada com manta térmica aquecida a 32 °C, para manter sua temperatura corporal, permanecendo nessa condição por 3 horas. Ao final do período, a prole será recolocada na gaiola e levada de volta à sala de manutenção, sendo a mãe reintroduzida nessa caixa em seguida.

Estímulo estressor na fase adulta

Os animais serão submetidos a um ciclo de luz (325 lux a 1 m do piso) ininterrupto por 36 horas e colocados em isolamento social (gaiolas individuais). Testes etológicos e laboratoriais. Aos 22 e 94 dias todos os

animais serão submetidos ao Teste do Campo Aberto (*Open-Field test*) e ao Teste do Labirinto em Cruz Elevada (*Elevated Plus Maze test*). Aos 95 dias, será realizada a colheita de sangue e determinação da concentração plasmática de corticosterona (expressa em $\mu\text{g/dL}$). Teste do Campo aberto (*Open-field Test*) O teste do campo aberto é amplamente utilizado para avaliar alterações na atividade locomotora, hiperatividade, ansiedade e comportamentos exploratórios de roedores¹⁷. O teste é realizado em um ambiente isolado e com iluminação reduzida, sendo o animal colocado no centro de uma arena circundada por paredes medindo 60x60x450 cm (largura, comprimento, altura) (Figura 1) e o seu comportamento exploratório filmado durante cinco minutos. Ao final, será analisado o comportamento do animal durante o teste, e os 5 seguintes parâmetros serão obtidos: distância total percorrida e tempo passado na periferia e no centro da arena, sendo os dois últimos parâmetros para avaliação de comportamento do tipo ansioso. Os parâmetros serão analisados pelo software Any-Maze Video Tracking System™ (Stoelting Co., Il. US). Interpretação: Ratos exibem uma aversão natural a áreas abertas bem iluminadas. Por outro lado, eles também têm um impulso para explorar um estímulo percebido como ameaçador. A diminuição dos níveis de ansiedade leva ao aumento do comportamento exploratório. O aumento da ansiedade, em contrapartida, resultará em menos locomoção e preferência por ficar perto das paredes do campo.

Figura 1. Teste Campo Aberto



Fonte: Autores, 2025.

Teste do Labirinto em Cruz Elevada (*Elevated Plus Maze Test*)

O teste do labirinto em cruz elevada é um dos testes de ansiedade mais utilizados por diversos grupos de pesquisa em todo o mundo, e baseia-se no comportamento natural dos animais, não oferecendo nenhum tipo de punição aos mesmos. O aparato utilizado neste teste, construído em madeira, é constituído por dois braços abertos unidos perpendicularmente a dois braços circundados por paredes (braços fechados) e foi a princípio utilizado para avaliar o comportamento de ratos. Os autores do teste observaram que os animais, ao serem colocados no centro do aparato, demonstravam clara tendência a explorar os braços fechados, em detrimento dos abertos. A exposição dos ratos a situações naturalmente ameaçadoras, representadas no modelo pela altura e pelo espaço aberto, explicaria a maior aversão para explorar os braços abertos. O labirinto em cruz elevada (LCE) é um teste de ansiedade amplamente utilizado tanto para a descoberta de novos agentes ansiolíticos, quanto para investigar as bases psicológicas e neuroquímicas da ansiedade (Figura 2).

Figura 2. Teste do Labirinto em Cruz Elevada

O aparato foi colocado acima da caixa do teste de campo aberto, no caso de uma eventual queda do animal. Fonte. Autores, 2024.

Determinação da concentração plasmática de corticosterona

Aos 94 dias, serão colhidas, em todos os animais, amostras de sangue total (0,5 ml) pela veia femoral. As amostras serão enviadas a laboratório de análises clínicas, particular para determinação da corticosterona plasmática. Os resultados serão expressos em $\mu\text{g/dL}$. Em seguida, os animais serão eutanasiados, segundo as Diretrizes para a Prática de Eutanásia do Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (RN n.º 37/2018).

Coleta e análise dos dados

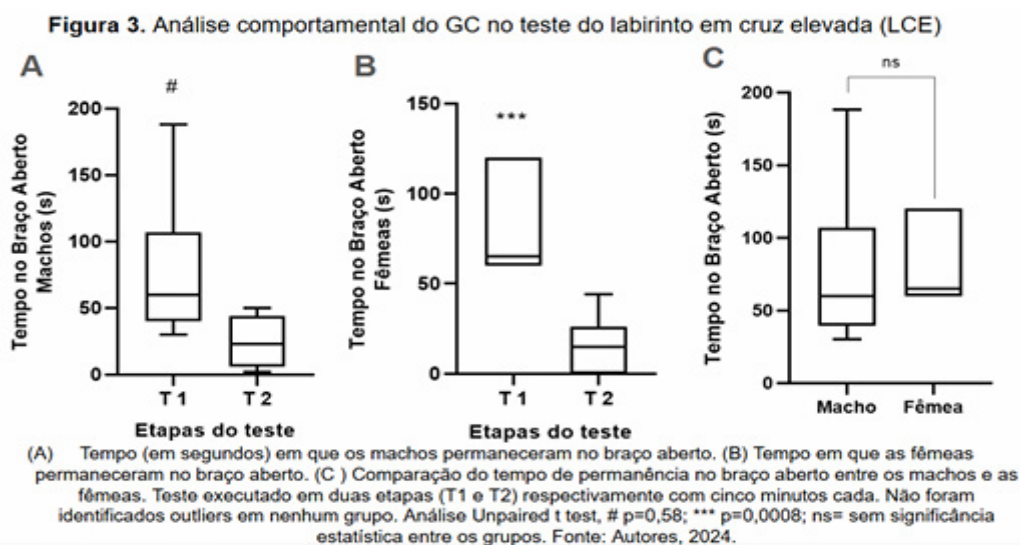
Todos os dados coletados em ambas as etapas serão analisados com auxílio do GraphPad Prism v.8. pela análise de variância de duas vias (ANOVA de duas vias), tendo como fatores animais que mantiveram o vínculo com a mãe e animais sem vínculo com a mãe. Os gráficos serão expressos na forma de Média \pm Erro Padrão da Média e será adotada significância estatística quando o valor de p obtido for igual ou inferior a 0,05.

Análise da transgeracionalidade do transtorno psiquiátrico

Após a coleta e análise dos dados obtidos na primeira etapa da pesquisa, os animais identificados como portadores dos graus mais elevados de ansiedade (machos e fêmeas) serão selecionados e acasalados. Após o nascimento da prole, esses animais serão submetidos ao modelo de origem paterna. Tal procedimento será reproduzido por três gerações consecutivas (F1, F2 e F3). Ao término dessa etapa, todos os animais nascidos serão criados com a presença materna e submetidos aos testes descritos aos 90 dias. A etapa busca analisar a transgeracionalidade do transtorno psiquiátrico. Em todas as proles (F1, F2 e F3), o número de nascidos será limitado a seis animais, a fim de se obter homogeneidade dos dados.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

O Teste do Labirinto em Cruz Elevado (Elevated Plus Maze) é um teste utilizado em diferentes estudos com roedores com objetivo de analisar o comportamento do tipo ansioso.¹⁶⁻¹⁸ Foi realizada uma análise comparativa do tempo de permanência do animal no braço aberto e no braço fechado. O teste foi realizado em duas etapas (T1 e T2) com 300 segundos cada etapa com intervalo de 300 segundos entre elas (Figura 3A, 1B). Em T1, os machos do Grupo Controle (GC) apresentaram uma média de 76,83, mediana de 60,00, percentil de 25% e 75% foi 39,75 e 107 respectivamente, já em T2, os animais obtiveram a média de 24,50, mediana de 23,00, o percentil de 25% e 75% = 5,75 e 44,0 respectivamente, sendo o valor de $p\# = 0,058$ e a diferença entre médias \pm SEM: $52,33 \pm 24,54$. Já as fêmeas do GC, em T1, obtiveram a média de 81,67, mediana 65,00, o percentil de 25% e 75% = 60,00 e 120,00 respectivamente. Em T2, as fêmeas apresentaram a média de 15,67, mediana de 15,00, o percentil de 25% e 75% = 0,00 e 26,0 respectivamente, sendo o valor de $p^{***} = 0,0008$ e a diferença entre médias \pm SEM: $66,00 \pm 13,96$. Os resultados configuraram um perfil explorador característico de ratos adultos Wistar saudáveis. Os resultados demonstram que em T1 tanto os machos quanto as fêmeas permaneceram por maior tempo no braço aberto em relação à segunda exposição em T2 (Figura 3A, 1B). Neste estudo, também buscou-se avaliar a diferença comportamental entre os gêneros (Figura 3 C) no tempo de permanência no braço aberto. Os machos do GC apresentaram uma média de 76,83, mediana de 60,00, o percentil de 25% e 75% = 39,75 e 107,00 respectivamente. As fêmeas do GC obtiveram a média de 81,67, a mediana de 65,00, o percentil de 25% e 75% = 60,00 e 120,00 respectivamente, valor de $p = 0,857$ e a diferença entre médias \pm SEM: $4,833 \pm 26,30$, sendo possível observar que não houve diferença comportamental em relação ao gênero, onde machos e fêmeas permaneceram por tempo semelhante no braço aberto em T1.

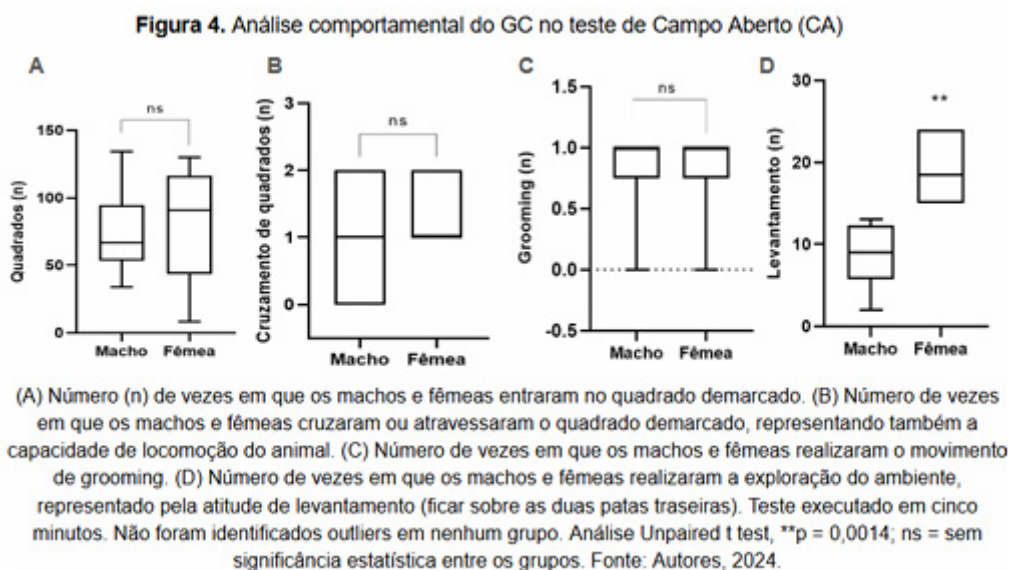


O Teste de Campo Aberto (*Open Field Test*) é uma ferramenta versátil e comumente utilizado para avaliar o comportamento semelhante à ansiedade e depressão, além de possibilitar a análise de outros parâmetros como locomoção e atividade exploratória.¹⁹⁻²¹ Nesse estudo foram analisados diferentes parâmetros como locomoção, atitude de autocuidado/limpeza, e exploratória. A locomoção foi representada pela análise do número de vezes que os animais entraram no quadrado demarcado na arena e o número de cruzamento dos mesmos (Figura 4 A, 2B) respectivamente, nesse sentido observamos que os machos do GC apresentaram uma média de 73,67, mediana de 66,50, percentil de 25% e 75% = 53,50 e 94,25 respectivamente e média do grupo de fêmea foi de 81,17, mediana de 91,00, o percentil de 25% e 75% = 43,25 e 116,5 respectivamente em relação ao número de entradas no quadrado demarcado, sendo o valor de $p = 0,57$ e a diferença entre médias \pm SEM: $7,500 \pm 22,51$.

Quanto ao cruzamento dos quadrados os machos obtiveram a média de 1,0, mediana de 1,0, percentil de 25% e 75% = 0,00 e 2,0 respectivamente. As fêmeas do GC obtiveram a média de 1,3, mediana de 1,0, o percentil de 25% e 75% = 1,0 e 2,0 respectivamente, o valor de $p = 0,25$ e a diferença entre médias \pm SEM: $0,333 \pm 0,421$. Portanto, ambos os grupos apresentaram características de locomoção semelhantes e compatíveis com a normalidade, sugerindo nenhum déficit locomotor presente em ambos os grupos. A atitude de autocuidado/limpeza representada pelo “grooming” explicita uma atividade natural do animal, contudo a intensidade ou diminuição desse comportamento pode denotar alterações caracterizadas por comportamento do tipo ansioso e/ou depressivo respectivamente. Observa-se na figura 2 C que durante o teste, os machos do GC apresentaram uma média de 0,83, mediana 1,0, o percentil de 25% e 75% = 0,75 e 1,0 respectivamente. As fêmeas do GC obtiveram a média de 0,83, mediana de 1,0, o percentil de 25% e 75% = 0,75 e 1,0 respectivamente e a diferença entre médias \pm SEM: $0,0 \pm 0,235$. Sendo assim, os dois grupos apresentaram “grooming”, não sendo identificada diferença entre os grupos, contudo ressaltamos um número de apenas uma atividade de “grooming” realizada em ambos os grupos de animais controle.

Quanto à atividade exploratória, foram analisadas duas atitudes comportamentais: o levantamento (“rearing”), onde o animal fica apoiado sobre as patas traseiras e realiza o deslocamento das patas dianteiras para posição superior à originalmente ocupada (Figura 4 D), e a atitude de roer (Figura 4 E), característica intrínseca presentes nos roedores. Na figura 4 D observa-se que machos do GC apresentaram uma média de 8,667, mediana de 9,00, o percentil de 25% e 75% = 5,75 e 12,25 respectivamente. As fêmeas do GC obtiveram a média de 19,17, mediana de 18,50, o percentil de 25% e 75% = 15 e 24,0 respectivamente e a diferença entre médias \pm SEM: $10,50 \pm 2,396$. Ambos os grupos apresentaram características exploratórias satisfatórias, no entanto, as fêmeas apresentaram atitudes exploratórias superiores aos machos com valor estatístico de $p^{**} = 0,0014$.

Como esperado, no comportamento de roer (Figura 4 E), ambos os grupos demonstraram tal atitude, contudo não se observou diferença significativa entre os grupos. Os machos do GC apresentaram uma média de 2,16, mediana de 1,0, o percentil de 25% e 75% = 0,00 e 5,25 respectivamente. As fêmeas do GC obtiveram a média de 4,33, mediana de 4,0, o percentil de 25% e 75% = 3 e 5,5 respectivamente, valor de $p = 0,12$ e a diferença entre médias \pm SEM: $2,167 \pm 1,293$. Juntos esses resultados sugeriram que os animais do GC, tanto macho como fêmeas não apresentaram alterações nos parâmetros de locomoção, autocuidado e exploração do ambiente, podendo ser considerados animais com características comportamentais no padrão de normalidade, entretanto, as fêmeas parecem apresentar um fenótipo mais explorador que os machos. Esses achados iniciais confirmam que os parâmetros comportamentais do Grupo Controle estão dentro da faixa de normalidade descrita na literatura, validando a adequação do modelo experimental adotado. Essa constatação é fundamental para garantir que quaisquer alterações observadas nos demais grupos possam ser atribuídas, de forma robusta, aos protocolos de separação materna e/ou exposição ao estressor na fase adulta, alinhando-se diretamente aos objetivos propostos.



Estudos com modelos animais, sugerem que o estresse na primeira infância pode contribuir com vulnerabilidades no desenvolvimento em diferentes sistemas fisiológicos, destacando-se as alterações no desenvolvimento comportamental. O modelo de separação materna tem sido utilizado como uma ferramenta estressora na primeira infância capaz de induzir, no modelo animal, um fenótipo do tipo ansioso.^{6,7} Nesse contexto, os testes de labirinto em cruz elevada e campo aberto tornam-se uma ferramenta útil, por serem frequentemente utilizados nos estudos em doenças neuropsiquiátricas, permitindo avaliar o perfil do comportamento do tipo ansioso e depressivo, além da possibilidade de análise de outros parâmetros como locomoção e atividade exploratória.¹⁶⁻²²

Como etapa inicial deste estudo, foi analisado o comportamento dos ratos Wistar adultos, tanto machos quanto fêmeas, que não foram submetidos a nenhum tipo de estresse, no teste de labirinto em cruz elevada. Observou-se que os animais não apresentaram alterações comportamentais do tipo ansioso, explorando um tempo maior na primeira etapa do teste (T1) o braço aberto em detrimento ao braço fechado.

Inferido uma característica exploratória esperada nos animais controle, corroborando com o encontrado na literatura, onde animais saudáveis tendem a explorar mais tempo o braço aberto em T1, uma vez que em T2 os animais já haviam tido contato prévio com os perigos inerentes a exposição e altura representada pelo braço aberto. Na primeira exposição (T1) é normal que os animais explorem o ambiente na identificação espacial em relação às oportunidades e aos perigos. No segundo momento (T2), após a exposição prévia em T1, os animais já conheciam as situações ameaçadoras representadas pela altura e pelo espaço aberto do aparato, demonstrando maior aversão em explorar os braços abertos. Portanto, os resultados apresentados aventam que os animais do Grupo Controle, tanto machos quanto fêmeas não apresentaram comportamento do tipo ansioso à medida que ambos os grupos exploraram o braço aberto do aparato do teste de labirinto em cruz elevada na primeira etapa do teste.

Curiosamente não foi observada diferença entre os grupos de machos e fêmeas. Alguns autores discutem alguns fatores intrínsecos capazes de modular a resposta dos animais submetidos ao teste de labirinto em cruz elevada, dentre esses fatores destaca-se a diferença entre os gêneros, onde animais fêmeas podem apresentar um número de entradas e permanência no braço aberto superior em relação aos machos.²³ Contudo, a igualdade entre os gêneros podem ser observada sem caracterizar nenhum distúrbio comportamental, uma vez que fatores extrínsecos como ambiente, climatização da sala, iluminação e até mesmo o período estral das fêmeas podem influenciar no comportamento dos animais. Nesse sentido, as análises futuras seguirão as mesmas técnicas

adotadas nesta fase do estudo, para minimizar o viés garantindo a reprodutibilidade do estudo. Neste primeiro momento, sugere-se que os animais controles machos e fêmeas apresentam características comportamentais sem alterações, ratificando a utilização desses animais como um controle adequado ao estudo proposto.

Outros parâmetros que permitam avaliar o comportamento dos animais que mimetizam alterações psíquicas em humanos são atividades como locomoção, autocuidado e exploração do ambiente através do teste de campo aberto^{20,21}. No presente estudo observa-se que os animais do GC, tanto machos quanto fêmeas apresentaram características de locomoção e autocuidado semelhantes. Diferentes autores que utilizaram o teste de campo aberto tanto para análise em modelos que induzem comportamentos do tipo depressivo, como em processos infecciosos e neurodegenerativos, demonstraram que os animais controle tendem a se locomover mais em relação ao grupo afetado. Quanto ao parâmetro de autocuidado, explicitado como grooming, a menos que os animais tenham sido submetidos a algum estímulo agressor, o grooming não é observado com tanta intensidade, contudo é uma característica intrínseca do animal.²⁴

Na atividade exploratória, as fêmeas apresentaram uma característica superior aos machos, corroborando com visto no teste de labirinto em cruz elevada onde as fêmeas apresentaram uma diferença significativamente maior ($p = 0,0008$), que os machos ($p = 0,58$) no tempo de permanência no braço aberto. Knight e colaboradores (2021)²⁵ exploraram as diferenças sexuais em parâmetros de ansiedade e atividade no teste de labirinto em cruz elevada e no teste de campo aberto, identificando que as fêmeas ficaram por um tempo maior no braço aberto, assim como passaram mais tempo na zona central do aparato do campo aberto, além de percorrer uma distância maior em relação aos machos. Os autores observaram também uma correlação positiva entre as entradas no braço aberto no labirinto em cruz elevada e entradas na zona central do campo aberto, inferindo que as fêmeas parecem exibir um menor comportamento semelhante à ansiedade e depressão nos testes de labirinto em cruz elevada e campo aberto, corroborando com os dados apresentados neste estudo.

Diante do exposto, observa-se que dentre os parâmetros comportamentais analisados, machos e fêmeas apresentaram características fenotípicas dentro da normalidade reproduzindo o que já se tem descrito na literatura onde as fêmeas saudáveis tendem a apresentar um fenótipo mais explorador que os machos, o qual se acredita estar relacionado a características intrínsecas do animal como ciclo estral, instinto materno como a necessidade de construção do ninho, de maneira a assegurar a segurança da prole futura.

Um aspecto central do presente estudo é a possibilidade de diferenciar alterações comportamentais e fisiológicas decorrentes de efeitos herdados de natureza epigenética, daqueles adquiridos por exposição direta a eventos estressores. Ao adotar um modelo que inclui múltiplas gerações (F1, F2 e F3) e mantém a prole subsequente sob condições controladas após o nascimento, busca-se isolar os efeitos transgeracionais genuínos. Essa abordagem permitirá avançar na compreensão dos mecanismos de herança não genética relacionados a transtornos psiquiátricos, contribuindo para o refinamento de estratégias preventivas e terapêuticas.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Caracterizou-se o comportamento de machos e fêmeas do Grupo Controle da Instalação de Ciência Animal do UNIFESO, quando submetidos aos testes do labirinto em cruz elevada e do campo aberto. Ressalta-se que o experimento envolvendo o protocolo de separação materna já se encontra em andamento. Atualmente, os animais alcançaram a fase adulta e serão em breve submetidos aos testes comportamentais previamente estabelecidos, com o objetivo de avaliar eventuais alterações decorrentes da separação materna. Os dados obtidos nesta etapa complementarão a análise global do estudo, o que permite ampliar a compreensão sobre os impactos desse modelo experimental nos parâmetros comportamentais investigados.

REFERÊNCIAS

1. Finkler A. Efeitos comportamentais da adoção sobre a relação mãe-filhote no início do desenvolvimento pós-natal em ratos. 2019. Tese [Doutorado em Neurociências] - Instituto de Ciências Básicas da Saúde da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, [S. l.], 2019. Disponível em: <https://lume.ufrgs.br/handle/10183/203864>.
2. Freud S. Os instintos e suas vicissitudes. In: Freud S. A história do movimento psicanalítico, Artigos sobre a metapsicologia e outros trabalhos (1914–1916). Edição Standard Brasileira das Obras Psicológicas Completas de Sigmund Freud. Volume XIV. Rio de Janeiro: Imago, 2006.
3. Nemeroff CB. Paradise Lost: The Neurobiological and Clinical Consequences of Child Abuse and Neglect”. *Neuron*, 2016;89(5):892–909. doi: 10.1016/j.neuron.2016.01.019.
4. Karkow ARM. Efeitos da manipulação neonatal sobre comportamentos sociais e a expressão de receptores de ocitocina em ratos neonatos e juvenis. Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Instituto de Ciências Básicas da Saúde. Programa de Pós-Graduação em Neurociências. Porto Alegre, 2013. 96p. Disponível em: <http://hdl.handle.net/10183/83818>.
5. Bick J, Nelson CA. Early adverse experiences and the developing brain. *Neuropsychopharmacology*, 2016;41:177–96. doi: 10.1038/npp.2015.252.
6. Bailoo JD, Jordan RL, Garza XJ, Tyler AN. Brief and long periods of maternal separation affect maternal behavior and offspring behavioral development in C57BL/6 mice. *Dev Psychobiol*, 2014;56(4):674-85. doi: 10.1002/dev.21135.
7. Sousa VC, Vital J, Costenla AR, Batalha VL, Sebastião AM, Ribeiro JA, Lopes LV. Maternal separation impairs long term-potential in CA1-CA3 synapses and hippocampal-dependent memory in old rats. *Neurobiol Aging*, 2014;35(7):1680-5. doi: 10.1016/j.neurobiolaging.2014.01.024.
8. Lehmann J, Pryce CR, Bettschen D, Feldon J. The maternal separation paradigm and adult emotionality and cognition in male and female Wistar rats. *Pharmacol Biochem* 10.1016/s0091-3057(99)00150-1. *Behav*, 1999;64(4):705-15. doi:
9. Rodrigues DAL, Dueñas Z. Maternal separation during breastfeeding induces gender-dependent changes in anxiety and the GABA-A receptor alpha-subunit in adult Wistar rats. *PLoS ONE*, 2013;8(6):e68010. doi: 10.1371/journal.pone.0068010.
10. Lehmann J, Feldon J. Long-term biobehavioral effects of maternal separation in the rat: Consistent or confusing? *Rev Neurosci*, 2000;11:383–408. doi: 10.1515/REVENURO.2000.11.4.383.
11. Thierry B, Steru L, Chermat R, Simon P. Searching Waiting strategy: a candidate for an evolutionary model of depression? *Behav Neural Biol*, 1984;41:180–9. doi: 10.1016/s0163-1047(84)90555-7.
12. Fish EW, Shahrokh D, Bagot R, Caldji C, Bredy T, Szyf M, Meaney MJ. Epigenetic Programming of Stress Responses through Variations in Maternal Care. *Ann N Y Acad Sci*, 2004;1036:167–80. doi: 10.1196/annals.1330.011.
13. Oberlander TF, Weinberg J, Papsdorf M, Grunau R, Misri S, Devlin AM. Prenatal exposure to maternal depression, neonatal methylation of human glucocorticoid receptor gene (NR3C1) and infant cortisol stress responses. *Journal Epigenetics*, 2008;3:97-106. doi: 10.4161/epi.3.2.6034.
14. Korraa AA, Nagger AAI, Mohamed RAE, Helmy MN. Impact of kangaroo mother care on cerebral blood flow of preterm infants. *Ital J Pediatr*, 2014;40(83):1-6. doi: 10.1186/s13052-014-0083-5.
15. Gehm TP. Efeitos da separação materna sobre o desenvolvimento de respostas sociais em ratos / São Paulo. 114 f. Tese [Doutorado - Programa de Pós-Graduação em Psicologia Experimental]. Instituto de Psicologia, Universidade de São Paulo, 2017. 13 doi:10.11606/T.47.2018.tde-05022018-150751.
16. Briley M, Chopin P, Veigner M. The “anxiety maze test”: validation in different rat strains and effect of a wide range of antidepressants. *Br. J. Pharmacology*. 87:217p. (1986).

17. Silva RH, Frussa-Filho R. The plus-maze discriminative avoidance task: A new model for studying memory-anxiety interactions. Effects of chlordiazepoxide and caffeine. *J Neurosci Métodos*. 30 de outubro de 2000; 102(2):117-25. doi: 10.1016/s0165-0270(00)00289-2.
18. Pinto WBVR, Ko GM, Valero-Lapchick VB, Ariza CB, Porcionatto M. Teste de labirinto em cruz elevado: Aplicações e contribuições no estudo de doenças neuropsiquiátricas 2012;1(1):102-20. em modelos animais. RESBCAL.
19. Tremml P, Lipp H-P, Müller U, Ricceri L, Wolfer DP. Neurobehavioral development, adult openfield exploration and swimming navigation learning in mice with a modified β -amyloid precursor protein gene. *Behav Brain Res*. 1998;9(1):65-76. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0166432897002118>
20. Burek DJ, Massaly N, Doering M, Zec A, Gaelen J, Morón JA. Long-term inflammatory pain does not affect exploratory behavior and stress coping strategies in mice. *Pain*. 10.1097/j.pain.0000000000002179. 2021; 162(6):1705-1721.
21. Rosso M, Wirz R, Loretan AV, Sutter NA, Pereira da Cunha CT, Jaric I, Würbel H, Voelkl B. Reliability of common mouse behavioural tests of anxiety: A systematic review and meta-analysis on the effects of anxiolytics. *Neurosci Biobehav Rev*. 10.1016/j.neubiorev.2022.104928. 2022; 143:104928.
22. Kraeuter AK, PC, Sarnyai Z. The open field test to measure locomotor activity and anxious behavior. *Mol Biol Methods*. 2019;1916:99-103. doi: 10.1007/978-1-4939-8994-2_9.
23. Júnior AG, Morato, S. Influências do ciclo estral sobre o desempenho de ratos no labirinto em cruz elevado. *Inter Psicol (Brazil)*. 2002; 6(2):141-8. doi:10.5380/psi.v6i2.3301.
24. Lopez DC, White ZJ, Hall SE. Anxiety in Alzheimer's disease rats is independent of memory and impacted by genotype, age, sex, and exercise. *Alzheimers Dement*. 2024;20(5):3543-3550. doi: 10.1002/alz.13813.
25. Knight P, Chellian R, Wilson R, Behnood-Rod A, Panunzio S, Bruijnzeel AW. Sex differences in the elevated plus-maze test and large open field test in adult Wistar rats. *Pharmacol Biochem Behav*. 2021; 204:173168. doi: 10.1016/j.pbb.2021.173168.

AVALIAÇÃO DA NANOEMULSÃO DE *BRUGMANSIA SUAVEOLENS* NA CICATRIZAÇÃO DE FERIDAS CUTÂNEAS EM RATOS

Ana Carolina Borba de Frias, Marcel Vasconcellos, Sandro Pinheiro da Costa

RESUMO

Introdução: A prevalência de feridas crônicas cutâneas aumenta, sobretudo em idosos e portadores de doenças crônicas, causando impacto econômico significativo ao sistema de saúde. A eficácia terapêutica dos procedimentos convencionais é restringida pela multirresistência bacteriana. Nanoformulações fitoterápicas despontam como alternativa, viabilizando liberação controlada, elevada biodisponibilidade e baixa toxicidade. **Objetivos:** Avaliar o uso de nanoemulsões contendo extratos de flores e folhas de *B. suaveolens* na cicatrização de feridas em ratos (*Rattus norvegicus*). **Materiais e Métodos:** O estudo foi aprovado pela CEUA/UNIFESO sob o n.º 569/2024. Foram utilizadas 12 ratas Wistar com 3 meses e peso médio de 250 g. Após a randomização, os animais foram distribuídos em 3 grupos: Grupo Controle (GC, n = 4), sem intervenção; Grupo Nanoemulsão folhas (GNf, n = 4) e Grupo Nanoemulsão base (GNb, n = 4). Foi induzida uma ferida cirúrgica na região cervical posterior e após 15 dias, avaliada a cicatrização por morfometria fotográfica. **Resultados:** A nanoemulsão com extrato de *Brugmansia suaveolens*, óleo de copaíba e Pluronic F-127® acelerou significativamente a cicatrização em ratos, reduzindo diâmetros de feridas desde o 4º dia e favorecendo a transição inflamatória. Propriedades anti-inflamatórias, antimicrobianas e pró-angiogênicas promoveram melhor vascularização, epitelização e organização tecidual, evidenciando seu potencial clínico. **Conclusões:** A nanoemulsão de *Brugmansia suaveolens*/óleo de copaíba/Pluronic F-127® acelerou a cicatrização, reduzindo o diâmetro da lesão já no 4º dia, obtendo ~40 % maior taxa de fechamento entre os dias 8–15 e epitelização completa até o 15º dia. Esses resultados confirmam sua superioridade sobre os controles e sustentam o uso translacional da formulação como adjuvante no tratamento de feridas crônicas.

Palavras-chave: Nanoemulsão; Cicatrização; Antimicrobiano; Feridas.

INTRODUÇÃO

A cicatrização eficiente é vital para preservar a integridade da pele e evitar infecções, mas as feridas crônicas vêm crescendo, especialmente entre idosos e pessoas com comorbidades¹. No Brasil, cerca de 25,9% dos hospitalizados — majoritariamente idosos — apresentam lesões por pressão, e úlceras de perna representam aproximadamente 52,27% dessas feridas em certos grupos^{2,3}.

Essas feridas crônicas impactam negativamente a qualidade de vida e geram custos elevados para os sistemas de saúde. Em 2022, os gastos globais com seu tratamento ultrapassaram US\$ 15 bilhões⁴. No cenário brasileiro, coberturas avançadas na Atenção Primária se mostraram custo-efetivas, reduzindo tempo de cicatrização e despesas⁵.

Infecções por patógenos bacterianos e fúngicos retardam a cicatrização e podem evoluir para infecções sistêmicas. Altos níveis de resistência (> 50%) foram observados em bactérias como *Klebsiella pneumoniae* e *Acinetobacter spp.*⁶. Mais de 60% das cepas de *Neisseria gonorrhoeae* resistem à ciprofloxacina⁶. No Brasil, a resistência microbiana causa cerca de 33 mil mortes por ano e custa ≈€ 1,5 bilhão⁷. Nos EUA, são registrados mais de 2,8 milhões de infecções resistentes e > 35 mil mortes anuais⁷.

O uso indiscriminado de antimicrobianos acelera a resistência, reduzindo as opções terapêuticas eficazes para infecções de feridas. A necessidade de estratégias eficazes para prevenir e controlar infecções, bem como o desenvolvimento de novas terapias contra a resistência microbiana, é evidente no cenário atual. O uso de plantas medicinais com propriedades antimicrobianas e cicatrizantes, aliado à nanotecnologia para otimizar a entrega e efetividade desses agentes, representa uma abordagem promissora no tratamento de feridas crônicas infectadas.

A pele, maior órgão do corpo (8–20% do peso corporal), é composta por epiderme, derme e hipoderme, e funciona como uma barreira protetora⁸. O processo de cicatrização envolve quatro fases principais: hemostasia, com coagulação e liberação de fatores de crescimento⁹; inflamação, com infiltração de neutrófilos e macrófagos, que pode se prolongar em presença de biofilmes ou patógenos resistentes¹⁰; proliferação, caracterizada pela migração de fibroblastos e queratinócitos, angiogênese e deposição de matriz, que pode ser interrompida por défices como isquemia; e remodelação, fase na qual a reorganização do colágeno confere resistência ao tecido, falhando ocasionalmente e resultando em cicatrizes hipertróficas ou feridas crônicas¹⁰.

Diversos fatores prejudicam esse processo, entre eles infecções persistentes e biofilmes que dificultam a penetração de antimicrobianos¹¹, hipóxia tecidual comum em diabéticos e pacientes com insuficiência vascular que prejudica a proliferação celular e angiogênese¹², condições de inflamação crônica, idade avançada, uso de corticosteroides e imunossupressores, além da má nutrição com carência de proteínas, zinco e vitamina C que impactam negativamente a síntese de colágeno e a atividade celular¹³.

Tratamentos tópicos convencionais, como antissépticos, antibióticos e curativos tradicionais, enfrentam limitações significativas: a resistência microbiana compromete a eficácia dos antibióticos, alguns antissépticos são citotóxicos aos fibroblastos e queratinócitos, e curativos tradicionais nem sempre mantêm a umidade adequada^{8,14}.

A resistência emergente de patógenos como *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Candida spp.* reduz a eficácia das abordagens tradicionais, e agentes como o cloreto de benzalcônio, apesar de eficazes, podem ser tóxicos para células essenciais na cicatrização¹⁴. A presença de biofilmes em uma parcela significativa das feridas crônicas reforça ainda mais a necessidade de desenvolver estratégias inovadoras que superem a resistência microbiana e minimizem a toxicidade celular, como as nanoformulações contendo compostos bioativos de origem natural¹⁵.

A prevalência crescente de feridas crônicas no Brasil, afetando cerca de 2 milhões de pessoas, destaca a necessidade de terapias inovadoras, especialmente diante das limitações dos tratamentos convencionais¹⁶. A resistência antimicrobiana, exacerbada pelo uso indiscriminado de antibióticos, compromete a eficácia dos tratamentos tradicionais e prolonga o tempo de cicatrização¹⁴.

Nesse cenário, a nanotecnologia aplicada à medicina regenerativa emerge como uma estratégia promissora, permitindo a liberação controlada e direcionada de compostos bioativos, potencializando a eficácia terapêutica e minimizando efeitos adversos¹⁷. Particularmente, a incorporação de extratos de plantas medicinais em nanopartículas tem mostrado resultados positivos, com nanoemulsões contendo extratos vegetais exibindo atividade antimicrobiana significativa e acelerando o processo de cicatrização, posicionando-se como alternativas viáveis aos tratamentos convencionais¹⁸.

A nanomedicina é definida como a aplicação de nanomateriais para diagnóstico, monitoramento, triagem, prevenção e cura de doenças começando no nível molecular utilizando engenharia nanocarreadora, com objetivo de obter benefícios médicos na terapia que se concentra na entrega de medicamentos alternativos e na melhoria da eficácia do tratamento, reduzindo os perfis toxicológicos e de segurança prejudiciais aos tecidos normais com fins terapêuticos e diagnósticos. Devido ao seu tamanho submicrômetro e alta área de superfície em relação ao volume, esses materiais mostram diferenças importantes em comparação com materiais a granel, incluindo mudanças nas propriedades bioquímicas, magnéticas, ópticas e eletrônicas.¹⁹

Os nanocarreadores podem proteger a carga útil da degradação e permitir a liberação sustentada e controlada do medicamento. Além disso, os nanossistemas têm o potencial de diminuir a depuração e melhorar o acúmulo de fármacos no tecido alvo, aumentando assim a eficácia terapêutica e reduzindo os efeitos colaterais^{19, 20}. A nanomedicina propiciou avanços tecnológicos em diversas ciências, incluindo extensas aplicações em entrega de drogas e terapêutica in vivo, dispositivos de diagnóstico, biomarcadores, imagens moleculares, medicina regenerativa, teranóstica (combinação de diagnóstico e tratamento), dispositivos implantados e biosensores. A nanotecnologia, como um campo de pesquisa abrangente, é caracterizada pelo uso de materiais ou produtos na faixa de tamanho entre 1 e 1000 nm²¹.

Outro fator em destaque é a vegetação brasileira como uma fonte abundante de compostos químicos com atividade biológica, que oferece um potencial para a produção de novos fitoprodutos. O Brasil abriga alguns dos maiores biomas do mundo, tanto em biodiversidade quanto em área total. Em particular, a Mata Atlântica possui uma flora extremamente rica e variada, com uma grande diversidade morfológica que atrai inúmeras substâncias ainda não completamente estudadas, sendo um dos principais mantenedores da biodiversidade global, destacando-se pela sua diversidade, como a vegetação predominante no município de Teresópolis, RJ²².

Nos últimos tempos, a busca por novas moléculas ativas na biodiversidade tem se intensificado, com diversos compostos sendo utilizados para o desenvolvimento de tecnologias mais eficazes e seguras. No entanto, muitas dessas substâncias, apesar de biologicamente ativas, apresentam alta toxicidade. Uma alternativa para reduzir essa toxicidade é o desenvolvimento de nanofármacos por meio da nanomedicina, que pode diminuir os efeitos adversos sistêmicos e melhorar a adesão ao tratamento. Metabólitos secundários, como os alcaloides, são frequentemente associados a efeitos adversos na prática clínica devido à sua atividade biológica. A nanotecnologia surge como uma solução para minimizar esses efeitos indesejados, otimizando a administração e aplicação desses compostos e reduzindo sua toxicidade.²³ Visto isso, a nanomedicina aplica nanomateriais para o diagnóstico, prevenção e tratamento de doenças ao nível molecular, visando aumentar a eficácia terapêutica e reduzir a toxicidade em tecidos saudáveis.

Os nanocarreadores são essenciais ao proteger medicamentos da degradação e permitir uma liberação controlada, melhorando a concentração nos tecidos-alvo e minimizando os efeitos colaterais. Nesse contexto, a nanotecnologia trouxe avanços em áreas como a entrega de medicamentos, dispositivos de diagnóstico e medicina regenerativa. No Brasil, a biodiversidade, especialmente na Mata Atlântica, oferece um grande potencial para novos produtos fitoterápicos, embora muitos compostos bioativos apresentem alta toxicidade, que pode ser atenuada pela nanomedicina por meio do desenvolvimento de nanofármacos que reduzam os efeitos adversos, como os provocados por alcaloides, otimizando sua administração e diminuindo os riscos à saúde.

Esta proposta possibilitará a adição de uma nova área do conhecimento médico com a integração de atividade de inovação na nanomedicina além de subsidiar o desenvolvimento de um ecossistema de inovação para o município de Teresópolis-RJ, destacado como potência em flora e agricultura, além de referência no ensino médico, para contribuir com a produção de novos fitoterápicos, por meio da nanotecnologia, para o uso populacional, para garantir um tratamento mais acessível e eficaz.

OBJETIVO

Avaliar o uso de nanoemulsões contendo extratos de flores e folhas de *B. suaveolens* na cicatrização de feridas em ratos (*Rattus norvegicus*).

MATERIAIS E MÉTODOS

Colheita e obtenção dos extratos

Extratos etanólicos das folhas (37 amostras, 1 kg/4 L) e flores (43 amostras, 1,17 kg/6 L) de *Brugmansia suaveolens* (coletadas em abril e setembro/2024) no PARNASO, Teresópolis-RJ (895 m; 22°26'09,38" S 42°58'33,22" O; SISGEN A76B905). As amostras, higienizadas e fracionadas, foram extraídas em até duas horas pelo método de maceração a frio durante sete dias, com agitação diária em frascos âmbar, filtradas, concentradas em rotaevaporador Tecnal® a 50 °C e estocadas a 4 °C até o uso.

Desenvolvimento da nanoformulação

As nanoemulsões foram obtidas por sonicação (UP100H, Hielscher; 100 W, 30 kHz, ciclo 1) durante 5 min a 50 % de amplitude, em banho de gelo (~5 °C), e depois acondicionadas em frascos âmbar para preservar compostos fotossensíveis. A formulação mais estável — 44 % de fase oleosa e 56 % de fase aquosa — foi definida pelo menor índice de polidispersidade e pela homogeneidade macroscópica da emulsão²⁴. A nanoformulação encontra-se depositada no Instituto Nacional da Propriedade Industrial (INPI) sob o número de patente BR 102020026179-7.

Ensaio pré-clínico

Aspectos éticos

O estudo foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) do Centro Universitário Serra dos Órgãos- UNIFESO, sob o n.º de protocolo 569/2024 e encontra-se de acordo com a Lei n.º 11.794, de 8 de outubro de 2008, bem como em conformidade com os princípios adotados internacionalmente, sobre a utilização, manutenção e proteção de animais de laboratório.

Avaliação da cicatrização *in vivo*

Doze ratas Wistar (3 meses, 300 ± 50 g), criadas na Instalação de Ciência Animal do UNIFESO, foram mantidos em gaiolas (4 animais, 22 ± 2 °C, ciclo claro/escuro 12 h) com dieta e água *ad libitum*. Após jejum de

12 h, receberam anestesia intraperitoneal (cetamina 100 mg kg⁻¹ + xilazina 10 mg kg⁻¹), foram tricotomizados na região dorsal cervical e submetidas a antissepsia com clorexidina 2 %.

A ferida dermoepidérmica padronizada foi criada com punch de 8 mm, seguida de infiltração local de lidocaína 2 % (5 mg kg⁻¹). Os animais foram randomizados em três grupos, entre eles: Grupo Controle (GC, n = 4), sem intervenção; Grupo Nanoemulsão folhas + óleo de copaíba (GNf, n = 4) e Grupo Nanoemulsão base (composto por copolímero + óleo de copaíba) (GNb, n = 4).

A evolução cicatricial foi quantificada por morfometria: fotografias digitais de alta resolução, obtidas entre o 1º ao 15º dia, tiveram o diâmetro da lesão medido em milímetros; a taxa de cicatrização foi calculada pela fórmula $[(Di - Df)/Di] \times 100$, onde Di é o diâmetro inicial (dia 1) e Df os valores subsequentes, permitindo estimar o ganho percentual. As mensurações, realizadas para comparar a eficácia das nanoformulações entre os grupos.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A análise macroscópica das feridas evidenciou que os animais tratados com a nanoemulsão que associa extrato de folhas de *Brugmansia suaveolens*, óleo de copaíba e Pluronic F-127® apresentaram cicatrização significativamente mais rápida que o grupo controle, com redução do diâmetro já no 4º dia do pós-operatório. A combinação favoreceu a passagem precoce da fase inflamatória para a fase proliferativa, característica observada clinicamente pela formação de tecido de granulação vascularizado antes do 8º dia.

Do ponto de vista fisiopatológico, o extrato vegetal fornece alcaloides tropânicos e compostos fenólicos com atividade antioxidante e moduladora de citocinas, o que atenua o recrutamento excessivo de neutrófilos e diminui o estresse oxidativo local²⁵. Esse microambiente menos inflamatório reduz a liberação de metaloproteínas e preserva a matriz extracelular inicial, condição fundamental para que fibroblastos e queratinócitos migrem de maneira ordenada e iniciem a re-epitelização.

O óleo de copaíba, largamente empregado em fitoterapia, acrescenta ação antimicrobiana e anti-inflamatória reconhecidas, diminuindo a carga bacteriana potencial e o exsudato na interface da lesão²⁶. A redução do bioburden impede a cronificação da ferida e propicia ambiente propício à deposição de colágeno tipo III, etapa indispensável à consolidação do tecido cicatricial.

As avaliações macroscópicas realizadas no 15º dia confirmaram maior densidade de vasos de neoformação, fibras colágenas paralelas e presença de epiderme íntegra nos animais tratados com a formulação combinada. A observação sugere que, em concentrações adequadas, alcaloides tropânicos podem induzir expressão de VEGF e estimular atividade endotelial, acelerando a angiogênese necessária ao suprimento de oxigênio e nutrientes para o novo tecido^{27, 28}.

Os dados morfométricos evidenciam diferenças estatisticamente significativas na velocidade de reparo tecidual entre os grupos. Conforme a Tabela 1, a curva de redução do diâmetro das feridas mostra que ambas as nanoemulsões aceleraram o fechamento em relação ao controle, com desempenho superior da formulação que combina extrato de *Brugmansia suaveolens*, óleo de copaíba e Pluronic F-127®. Esse grupo já apresentou redução relevante do diâmetro no 4º dia, indicando transição precoce da fase inflamatória para a proliferativa.

Tabela 1: Evolução da cicatrização cutânea e taxas de reparo tecidual

Grupo	D1	D4	D8	D15	T 1-4	Md 1-4	T 4-8	Md 4-8	T 8-15	Md 8-15
NE-Ext	4.00	3.30	3.00	0.00	17.5	5.83	9.09	2.27	100.0	14.29
NE-Cop	4.00	3.50	3.20	0.30	12.5	4.17	8.57	2.14	90.63	12.95
Ctrl	4.00	3.68	3.39	0.97	8.0	1.97	7.80	1.97	71.43	10.20

Legenda: **NE-Ext**: nanoemulsão com extrato de *Brugmansia suaveolens* + óleo de copaíba; **NE-Cop**: nanoemulsão com óleo de copaíba; **Ctrl**: controle (sem tratamento). *D1, D4, D8, D15*: diâmetro da ferida (mm) nos dias 1, 4, 8 e 15; *T 1-4, T 4-8, T 8-15*: taxa de cicatrização (%) nos respectivos intervalos de dias; *Md 1-4, Md 4-8, Md 8-15*: média diária da taxa de cicatrização (% dia⁻¹).

Fonte: Autores, 2025.

A tabela 1 apresenta os valores absolutos de diâmetro (D1-D15) e as taxas de cicatrização médias por intervalo. Destaca-se que o grupo NE-Ext atingiu taxa média diária de 14,29 % entre os dias 8-15, superando a nanoemulsão de copaíba isolada (12,95 %) e o controle (10,20 %). Esses resultados sugerem que a nanoestruturação otimiza a biodisponibilidade dos metabólitos vegetais, mas também garante liberação sustentada dos ativos no leito da ferida, efeito atribuído ao caráter termorresponsivo do Pluronic F-127®.

Do ponto de vista farmacodinâmico, alcaloides tropânicos e compostos fenólicos do extrato atuam como moduladores anti-inflamatórios e antioxidantes, reduzindo a infiltração neutrofílica e o estresse oxidativo local. Em paralelo, o óleo de copaíba exerce atividade antimicrobiana e imunomoduladora, diminuindo a carga bacteriana e a liberação de citocinas pró-inflamatórias. A sinergia desses componentes gera microambiente propício à migração de fibroblastos e queratinócitos, etapas críticas para a re-epitelização.

A angiogênese eficiente, fundamental na fase proliferativa, também parece ter sido estimulada pela formulação combinada. Estudos pré-clínicos atribuem a alcaloides tropânicos a capacidade de induzir expressão de VEGF; de fato, observou-se vascularização mais densa na interface lesão-tecido íntegro dos animais tratados, favorecendo deposição de colágeno tipo III e maturação subsequente do tecido cicatricial.

Em contraste, o grupo controle manteve inflamação persistente, menor tecido de granulação e fechamento mais lento da ferida, confirmando que a ausência de intervenção tópica eficaz prolonga a fase inflamatória e retarda a reorganização dérmica. A nanoemulsão de copaíba isolada apresentou resposta intermediária, reforçando o efeito terapêutico adicional conferido pelo extrato vegetal.

Desse modo, a nanoemulsão contendo *B. suaveolens* e copaíba demonstrou capacidade de acelerar e organizar a cicatrização cutânea, combinando propriedades anti-inflamatória, antimicrobiana e pró-angiogênica. Esses achados sustentam sua aplicação clínica potencial como agente tópico adjuvante, especialmente em pacientes com risco de retardo cicatricial ou feridas crônicas, justificando a realização de ensaios clínicos para validação em ambiente assistencial.

CONCLUSÕES

A nanoemulsão que combina extrato foliar de *Brugmansia suaveolens*, óleo de copaíba e Pluronic F-127® acelerou significativamente todas as etapas do reparo cutâneo em modelo murino, reduzindo o diâmetro da ferida já a partir do 4º dia e promovendo fechamento completo até o 15º dia. A eficácia superior decorre da ação sinérgica anti-inflamatória, antimicrobiana, antioxidante e pró-angiogênica dos fitoquímicos encapsulados, potencializada pela liberação sustentada conferida pela matriz nanoestruturada. Embora os achados apontem para aplicação clínica promissora em lesões de difícil cicatrização, o período de acompanhamento limitado e o uso de animais saudáveis impõem a necessidade de estudos prolongados, testes biomecânicos da cicatriz e ensaios clínicos controlados em populações com comorbidades. Ainda assim, os resultados fornecem evidência pré-clínica robusta para o desenvolvimento de formulações tópicas baseadas em nanotecnologia vegetal como adjuvantes no manejo de feridas agudas e crônicas.

REFERÊNCIAS

1. Solanki DV. Design considerations, formulation approaches, and strategic advances of hydrogel dressings for chronic wound management. *ACS Omega*. 2023;8(9):8172–89. doi:10.1021/acsomega.2c06806.
2. Santos KCB, Ribeiro GSC, Feitosa AHC, Silva BRS, Cavalcante TB. Qualidade de vida de pacientes hospitalizados com feridas crônicas. *Rev Eletr Enferm*. 2018;20:e49. doi:10.5216/ree.v20.54130.
3. Rodrigues AT, Oliveira CM. Prevalência e caracterização de feridas crônicas na atenção primária à saúde de um distrito sanitário municipal da região central de Minas Gerais. In: Congresso Brasileiro de Estomatologia; 2023; São Paulo. Anais [...]. São Paulo: SOBEST; 2023. Available from: <https://anais.sobest.com.br/cbe/article/view/857> [cited 2025 Feb 16].
4. Ruiz PBO, Gomes AA, Silva ER, Gomes SMS, Rodrigues AM. Custos diretos médios da assistência ambulatorial, hospitalar e domiciliar prestada aos pacientes com feridas crônicas. *Rev Esc Enferm USP*. 2020;54:e03644. doi:10.1590/S1980-220X2018040003644.
5. Cortez DN, et al. Custos do tratamento de lesões cutâneas na Atenção Primária à Saúde. *Estima Braz J Enterostomal Ther*. 2019;17:e2419. doi:10.30886/estima.v17.824_PT.
6. Organização Pan-Americana da Saúde (OPAS). Relatório sinaliza aumento da resistência a antibióticos em infecções bacterianas [Internet]. 2022 [cited 2025 Feb 16]. Available from: <https://www.paho.org/pt/noticias/9-12-2022-relatorio-sinaliza-aumento-da-resistencia-antibioticos-em-infeccoes-bacterianas>
7. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Confira dados mundiais sobre resistência microbiana [Internet]. 2021 [cited 2025 Feb 16]. Available from: <https://www.gov.br/anvisa/pt-br/assuntos/noticias-anvisa/2021/confira-dados-mundiais-sobre-resistencia-microbiana>
8. Su L, et al. The emerging progress on wound dressings and their application in clinic wound management. *Heliyon*. 2023. doi:10.1016/j.heliyon.2023.e22520.
9. Tottoli EM, et al. Skin wound healing process and new emerging technologies for skin wound care and regeneration. *Pharmaceutics*. 2020;12(8):735. doi:10.3390/pharmaceutics12080735.
10. Arslan NP, et al. Polysaccharides and peptides with wound healing activity from bacteria and fungi. *J Basic Microbiol*. 2024;64(12). doi:10.1002/jobm.202400510.
11. Nourian Dehkordi A, Mirahmadi Babaheydari F, Chehelgerdi M, Raeisi Dehkordi S. Skin tissue engineering: wound healing based on stem-cell-based therapeutic strategies. *Stem Cell Res Ther*. 2019;10(1):111. doi:10.1186/s13287-019-1212-2.
12. Singh D, Rai V, Agrawal DK. Regulation of collagen I and collagen III in tissue injury and regeneration. *Cardiol Cardiovasc Med*. 2023;7(1):5. doi:10.26502/fccm.92920302.
13. Lin J, Li S, Ying Y, Zheng W, Wu J, Wang P, Liu X. In situ formation of hydrogel wound dressing based on carboxymethyl chitin/tannic acid for promoting skin wound healing. *ACS Omega*. 2024. doi:10.1021/acsomega.3c06683.
14. Oliveira JEN, et al. Atendimento e manejo de pacientes queimados: revisão integrativa. *Res Soc Dev*. 2021;10(7):e0210716308. doi:10.33448/rsd-v10i7.16308.
15. Fundação Nacional de Saúde (FUNASA). Manual de controle de infecções hospitalares [Internet]. Brasília: FUNASA; 2002 [cited 2025 Feb 16]. Available from: <https://www.gov.br/anvisa/pt-br/assuntos/servicos-desaudef/publicacoes-1/manualdecontroledeinfeccoeshospitalares.pdf>
16. Fatur K, Kreft S. Common anticholinergic solanaceous plants of temperate Europe – A review of intoxications from the literature (1966–2018). *Toxicon*. 2020;178:50–9. doi:10.1016/j.toxicon.2020.02.007.
17. Silva KL, et al. Custos do tratamento de feridas crônicas: uma análise na atenção primária à saúde. *Rev Esc Enferm USP*. 2020;54. doi:10.1590/S1980-220X2018040003644.

18. Mota MS, et al. Utilização de nanopartículas no tratamento de feridas: revisão sistemática. *Rev Esc Enferm USP*. 2017;51(2):e03217. doi:10.1590/S1980-220X2016024003217.
19. Chandan G, Kumar C, Chibber P, Kumar A, Singh G, Satti NK, et al. Evaluation of analgesic and anti-inflammatory activities and molecular docking analysis of steroidal lactones from *Datura stramonium* L. *Phytomedicine*. 2021;89:153621. doi:10.1016/j.phymed.2021.153621.
20. de França IS, de Souza JA, Baptista RS, Britto VR. Popular medicine: benefits and drawbacks of medicinal plants. *Rev Bras Enferm*. 2008;61(2):201–8. doi:10.1590/s0034-71672008000200009.
21. Emerich DF, Thanos CG. Nanotechnology and medicine. *Expert Opin Biol Ther*. 2003;3(4):655–63. doi:10.1517/14712598.3.4.655.
22. Fakruddin M, Hossain Z, Afroz H. Prospects and applications of nanobiotechnology: a medical perspective. *J Nanobiotechnology*. 2012;10:31. doi:10.1186/1477-3155-10-31.
23. Azevedo MMM. Nanoesferas e a liberação controlada de fármacos [Internet]. In: Workshop Tópicos Especiais em Química Inorgânica IV - Introdução à Nanotecnologia: Um Enfoque Químico; 2002; São Paulo. Available from: https://lqes.iqm.unicamp.br/images/vivencia_lqes_monografias_marcelo_nanoesferas.pdf
24. Schuenck-Rodrigues RA, et al. Development, characterization and photobiological activity of nanoemulsion containing zinc phthalocyanine for oral infections treatment. *J Photochem Photobiol B*. 2020;211:112010. doi:10.1016/j.jphotobiol.2020.112010.
25. Yang Z, et al. Alkaloids as therapeutic agents for wound healing: mechanisms and applications. *Biomed Pharmacother*. 2022;150:113021. doi:10.1016/j.biopha.2022.113021.
26. Veiga-Junior VF, et al. Chemical composition and biological activity of copaiba oils from different species of *Copaifera*. *J Ethnopharmacol*. 2007;112(2):248–54. doi:10.1016/j.jep.2007.03.005.
27. Li J, Chen J, Kirsner R. Pathophysiology of acute wound healing. *Clin Dermatol*. 2020;38(2):158–72. doi:10.1016/j.clindermatol.2019.11.001.
28. Eming SA, Martin P, Tomic-Canic M. Wound repair and regeneration: mechanisms, signaling, and translation. *Sci Transl Med*. 2014;6(265):265sr6. doi:10.1126/scitranslmed.3009337.

VALORES GLICÊMICOS DE REFERÊNCIA DA INSTALAÇÃO DE CIÊNCIA ANIMAL

Poliana Ferreira de Oliveira, Marcely Adachi Custódio, Jennyffer Ferreira Varela, Ana Vitória Araujo de Souza, Anna Julia Rodrigues Kobbi, Hemily de Siqueira Pinheiro, Julia Vieira Morais, Julia Cardoso de Oliveira, Mariana de Jesus Barboza, Gustavo Kimus Pimentel Nogueira, Giovanna Simões Macedo, Alicia Correa de Queiroz, Valéria Cristina Lopes Marques, Marcel Vasconcellos

RESUMO

O monitoramento dos valores glicêmicos em animais de laboratório é fundamental em estudos experimentais. A glicemia, como indicador metabólico, pode influenciar diretamente os resultados das pesquisas nas áreas laboratoriais da endocrinologia, imunologia, nutrição, entre outras. Variações nas concentrações de glicose sanguínea podem ser causadas por fatores como dieta, estresse, ambiente, manejo, genética e ciclo estral das fêmeas, tornando essencial o controle rigoroso desses parâmetros. A padronização dos valores glicêmicos em cada colônia é crucial para garantir a reprodutibilidade e a confiabilidade dos dados obtidos. Sem essa uniformidade, os resultados podem ser comprometidos por variáveis não controladas, dificultando a comparação entre estudos e a validação científica. Além disso, o monitoramento contribui para o bem-estar animal, evitando quadros de hipoglicemia ou hiperglicemia que interferiram no comportamento e na fisiologia dos modelos experimentais. Desse modo, estabelecer protocolos para o controle da glicemia nos animais de laboratório é uma prática indispensável para a condução ética e científica de pesquisas biomédicas.

Palavras-chave: Glicemia; Controle glicêmico; Ratos Wistar.

INTRODUÇÃO

A determinação de valores glicêmicos de referência em colônias de roedores é um item crítico na governança de qualidade de qualquer instalação de pesquisa biomédica. Em modelos experimentais, a glicemia funciona como um indicador metabólico sensível, diretamente impactado por fatores biológicos, ambientais e comportamentais. Essa variabilidade, quando não controlada, abre brechas para viés experimental, comprometendo comparabilidade entre grupos e reprodutibilidade dos estudos.^{1, 2}

Entre as variáveis de maior impacto destacam-se o estado nutricional, o sexo e o ciclo estral das fêmeas. Estudos envolvendo roedores demonstram que a glicose sanguínea pode oscilar de maneira significativa de acordo com o metabolismo basal de machos e fêmeas, bem como com as flutuações hormonais ao longo do ciclo reprodutivo. No proestro, por exemplo, é esperado que fêmeas apresentem glicemia relativamente reduzida devido à influência estrogênica sobre o metabolismo energético.^{3, 4, 5}

Diante desse cenário, a padronização interna dos valores glicêmicos da colônia torna-se parte estratégica do controle de qualidade institucional. Além de evitar vieses metodológicos, esse alinhamento contribui para o bem-estar animal, prevenindo eventuais quadros de hipoglicemia ou hiperglicemia decorrentes de manejo inadequado. Assim, estabelecer valores de referência específicos da Instalação de Ciência Animal do UNIFESO é um passo fundamental para elevar a maturidade científica da unidade e fornecer parâmetros confiáveis para futuros protocolos.⁶

OBJETIVOS

O presente estudo foi conduzido com o objetivo de definir os valores glicêmicos de referência da colônia Wistar da instalação animal, avaliando ainda o impacto do jejum e possíveis diferenças metabólicas entre machos e fêmeas, incluindo a influência do ciclo estral.

MATERIAIS E MÉTODOS

O estudo foi aprovado pela CEUA/UNIFESO sob o protocolo n.º 573/2024. Vale ressaltar, que a pesquisa se encontra de acordo com a Lei nº 11.794, de 8 de outubro de 2008, bem como em conformidade com os princípios adotados internacionalmente, sobre a utilização, manutenção e proteção de animais de laboratório.

Amostra

Para o desenvolvimento da pesquisa serão utilizados 24 ratos (*Rattus norvegicus albinus*, Rodentia mammalia – Berkenhout, 1769) da variedade albina e linhagem Wistar, de ambos os sexos, com média de idade de três meses e peso de 300 ± 50 g e procedentes da Instalação de Ciência Animal do UNIFESO.

Os animais serão mantidos em estantes com gaiolas apropriadas, com iluminação em conformidade com o ciclo circadiano (12h claro x 12h escuro), controle de temperatura (22 ± 2 °C), além de cuidados padronizados de alimentação (ração industrializada), higiene e água *ad libitum*.

Após a randomização simples os animais serão distribuídos em Grupo Alimentado (GA) e Grupo Jejum (GJ).

Descrição da coleta de sangue e dosagem de glicose

Os animais serão contidos pelo método *open-drop* por meio de uma caixa de acrílico com gaze embebida em isoflurano a 2% (2 ml). Após a sedação, punciona-se a extremidade da cauda e com auxílio de um glicosímetro da marca comercial G-Tech free® é realizada a medição (Figura 1).

Figura 1. Coleta de sangue em *Rattus norvegicus*



Instalação de Ciência Animal. Fonte: Autores, 2025.

RESULTADOS

Após jejum alimentar de 12h, o sangue dos animais em jejum foi colhido e os resultados demonstrados na tabela 1.

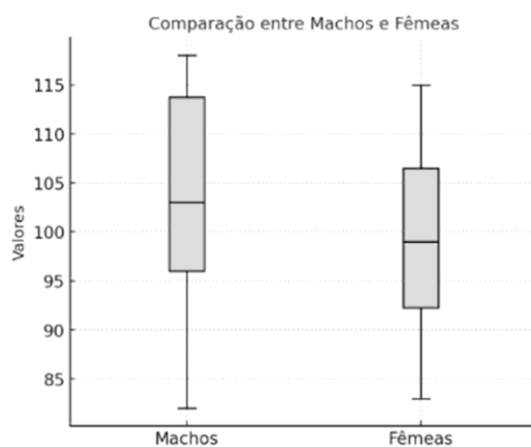
Tabela 1. Glicemia do Grupo Jejum 12h (em mg/dL)

Machos		Fêmeas	
Rato 1	117	Rata 1	84
Rato 2	102	Rata 2	93
Rato 3	104	Rata 3	92
Rato 4	82	Rata4	107
Rato 5	118	Rata 5	105
Rato 6	94	Rata 6	115
Média	102.83	Média	99.16
DP	13.74	DP	11.80

Fonte: Autores, 2025.

A seguir, elaborou-se um gráfico comparativo entre os resultados obtidos entre o grupo de machos e o grupo de fêmeas em jejum de 12h.

Figura 2. Gráfico *boxplot* comparando os grupos de machos e fêmeas em jejum 12h



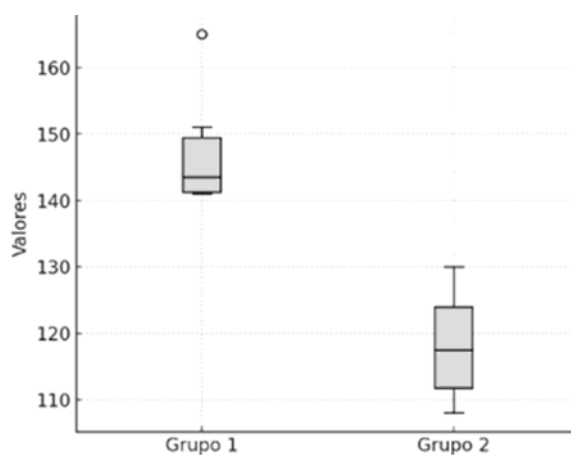
O gráfico mostra que não houve diferença estatisticamente significativa ($p = 0,631$) entre os grupos (GM = GF).
Fonte: Autores, 2025.

Tabela 2. Glicemia do Grupo Alimentado (em mg/dL)

Machos		Fêmeas	
Rato 1	165	Rata 1	110
Rato 2	151	Rata 2	118
Rato 3	145	Rata 3	126
Rato 4	142	Rata 4	130
Rato 5	141	Rata 5	108
Rato 6	141	Rata 6	117
Média	145.50	Média	118.17
DP	8.63	DP	9.38

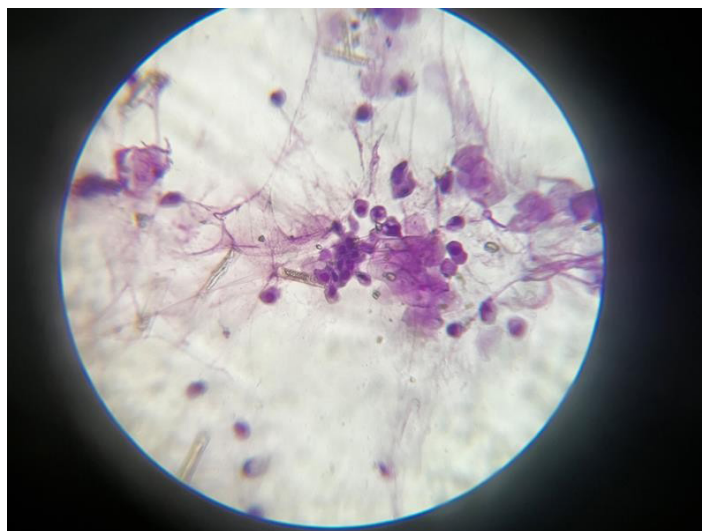
Fonte: Autores, 2025

Figura 3. Gráfico *boxplot* comparando os grupos de machos e fêmeas alimentados



Como o valor de $p = 0,00022$ e portanto menor que 0,05, a diferença entre os grupos foi estatisticamente significativa ($GM > GF$). Fonte: Autores, 2025.

Figura 4. Fase de proestro das ratas do grupo alimentados, o que responderia pela baixa glicemia encontrada nesses animais



Fonte: Autores, 2025.

DISCUSSÃO

Os resultados obtidos na Instalação de Ciência Animal mostraram de forma clara as variáveis biológicas e nutricionais sobre a glicemia dos ratos Wistar avaliados.

No grupo em jejum de 12 horas, não foi observada diferença estatisticamente significativa entre machos e fêmeas ($p = 0,631$). Esse achado indica que, sob privação alimentar, ambos os sexos tendem a convergir para um perfil metabólico semelhante, reduzindo o impacto das diferenças hormonais sobre a glicemia.

Já no grupo alimentado, o cenário mudou de forma marcante. A diferença entre machos e fêmeas foi estatisticamente significativa ($p = 0,00022$), com os machos apresentando valor glicêmico mais elevado. Esse comportamento condiz com o metabolismo mais acelerado e a maior massa corporal (muscular) dos machos, resultando em maior disponibilidade e liberação de glicose após a alimentação.^{3,4}

O fator decisivo, no entanto, foi a observação de que as fêmeas estavam na fase de proestro durante a coleta, o que explicaria a glicemia mais baixa nos animais alimentados. O aumento dos níveis de estrogênio no proestro induz maior captação periférica de glicose e modula vias metabólicas que reduzem a glicose circulante. O registro dessa informação fortalece a análise, reforçando o papel do ciclo estral como variável crítica na interpretação de dados glicêmicos em fêmeas.^{4,5}

Esses achados confirmam que o estado nutricional é um modulador central da glicemia, mas também deixam claro que a variável “sexo” precisa ser interpretada em conjunto com o contexto hormonal. Para fins de pesquisa, isso destaca a importância de registrar fase do ciclo estral em estudos que envolvam fêmeas e, quando possível, padronizar a coleta ou realizar correções estatísticas.^{3,4,5,6}

A definição dos valores de referência também contribui para a prevenção de vieses experimentais no biotério. Laboratórios que utilizam parâmetros genéricos da literatura correm risco de discordância com a realidade da própria instalação, uma vez que temperatura, manejo, tipo de ração e estresse ambiental influenciam diretamente a glicemia. Assim, os valores de referência de um biotério são essenciais para a confiabilidade e reprodutibilidade experimental.

CONCLUSÃO

O estudo consolidou um conjunto de valores glicêmicos próprios da Instalação de Ciência Animal, estabelecendo um parâmetro interno confiável para consultas futuras e padronização metodológica.

A construção desses referenciais permitirá que os experimentos desenvolvidos tenham menor variabilidade não controlada, aumentando a previsibilidade dos resultados e a qualidade dos modelos utilizados.

A diferenciação entre condições alimentares e entre os sexos reforça a necessidade de que esses fatores passem a integrar a rotina de registro dos protocolos que envolvem glicemia. A identificação da fase do ciclo estral como variável relevante fortalece ainda mais a importância de conhecer o estado biológico das fêmeas antes da coleta, garantindo maior confiança nos dados produzidos.

Com o estudo, a Instalação de Ciência Animal passa a dispor de um instrumento operacional que facilita o monitoramento contínuo. O resultado final é um ambiente experimental mais robusto, com informações mais consistentes e maior capacidade de atender padrões científicos e regulatórios.

REFERÊNCIAS

1. Castello Branco ACS da S, Santos JAA, Medeiros ACM, Oliveira KM, Silva AJS, Diniz MFFM, et al. Parâmetros bioquímicos e hematológicos de ratos Wistar e camundongos Swiss do Biotério Professor Thomas George. *Rev Bras Cienc Saude*. 2011;15(2):209–14.
2. Santos JCP. Uso de glicosímetro em animais – uma revisão da literatura [Trabalho de Conclusão de Curso]. João Pessoa: Universidade Federal da Paraíba; 2017.
3. Sartori CR, Miguel TT, Araújo N. Glicemia como parâmetro metabólico em roedores: importância e variáveis moduladoras. *Rev Bras Cienc Biomed*. 2022;9(2):55–63.
4. Ginnetti B, Fuchs D, Ellersieck M, Garner J, Johnson R. Glycemia in laboratory rats: physiological variations according to sex, age and fasting. *J Am Assoc Lab Anim Sci*. 2019;58:460–8.
5. Rodríguez E, Sánchez M, Pérez M, García A, López M. Influence of estrous cycle on glycemic profile in female rats. *Endocr Res*. 2017;42(3):207–15.
6. Felasa. Recommendations for the health monitoring of mouse, rat, hamster, guinea pig and rabbit colonies in breeding.