

**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO
PAULO ESTEVÃO ARAÚJO VILAÇA JUNIOR**

**EFEITO DA ADMINISTRAÇÃO PRÉ-NATAL DA DEXAMETASONA SOBRE
PARÂMETROS SANGUÍNEOS E DESENVOLVIMENTO HEPÁTICO NA PROLE
DE RATOS**

**Recife
2011**

**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO
PAULO ESTEVÃO ARAÚJO VILAÇA JUNIOR**

**EFEITO DA ADMINISTRAÇÃO PRÉ-NATAL DA DEXAMETASONA SOBRE
PARÂMETROS SANGUÍNEOS E DESENVOLVIMENTO HEPÁTICO NA PROLE
DE RATOS**

**Dissertação apresentada ao Programa de
Biodiversidade Animal da Universidade Federal
Rural de Pernambuco, como pré-requisito
para obtenção do grau de Mestre em
Biodiversidade Animal. Área de Morfofisiologia.**

Orientador:

Prof. Dr. Álvaro Aguiar Coelho Teixeira

Co-orientadores:

Prof. Dr. Anísio Francisco Soares

Prof^a. Dr^a. Valéria Wanderley Teixeira

RECIFE

2011

Ficha catalográfica

V695e Vilaça Junior, Paulo Estevão Araújo
Efeito da administração pré-natal de dexametasona sobre
parâmetros sanguíneos e desenvolvimento hepático na prole
de ratos / Paulo Estevão Araújo Vilaça Junior. -- 2011.
68 f.: il.

Orientador: Álvaro Aguiar Coelho Teixeira.
Dissertação (Mestrado em Biociência Animal) –
Universidade Federal Rural de Pernambuco, Departamento
de Morfologia e Fisiologia Animal, Recife, 2011.
Inclui referências e anexo.

1. Dexametasona 2. Tratamento pré-natal 3. Carboidratos
4. Ratos I. Teixeira, Álvaro Aguiar Coelho, orientador II. Título

CDD 636.08926

PAULO ESTEVÃO ARAÚJO VILAÇA JUNIOR

EFEITO DA ADMINISTRAÇÃO PRÉ-NATAL DA DEXAMETASONA SOBRE PARÂMETROS SANGUÍNEOS E DESENVOLVIMENTO HEPÁTICO NA PROLE DE RATOS

Dissertação apresentada ao Programa de
Biotecnologia Animal da Universidade Federal
Rural de Pernambuco, como pré-requisito para
obtenção do grau de Mestre em Biotecnologia
Animal. Área de Morfofisiologia.

Aprovado em 24 de fevereiro de 2011

BANCA EXAMINADORA:

Prof. Dr. Álvaro Aguiar Coelho Teixeira (Orientador) – UFRPE

Prof. Dr. Anísio Francisco Soares - UFRPE

Prof^a. Dr^a. Valéria Wanderley Teixeira - UFRPE

Prof. Dr. Marcos José Correia - UFRPE

AGRADECIMENTOS

Antes de iniciar os agradecimentos, gostaria de dizer que, para mim, de todo o solitário e árduo processo de escrita dessa dissertação, esta é sem dúvida a parte mais difícil. Difícil, pois tratamos nela daquilo que permeia todas as entrelinhas de todos os trabalhos realizados ao longo de nossas vidas. Tratamos nesse trecho daquele que é o mais importante e indispensável aspecto da vida humana, a amizade.

Início os agradecimentos por agradecer aos meus pais. Eles são os grandes responsáveis por minha formação ética e moral, e aproveito também, para agradecê-los por sempre me incentivarem na construção de meus valores. Agradeço ao meu pai pelo apoio. Não pudemos estar juntos em todos os momentos, mas estivemos naqueles mais difíceis. Agradeço a minha mãe pelo constante cuidado e carinho de todos os momentos. Agradeço ao meu irmão por seu carinho e amizade.

Seguindo de forma seletiva agradeço aos co-responsáveis pela elaboração dessa dissertação. Agradeço ao Dr. Álvaro Aguiar Coelho Teixeira por aceitar a orientação da minha dissertação, pelo empenho em ajudar e pelas horas despendidas na leitura dela. Agradeço a Dra. Valéria Wanderley Teixeira pelas sugestões e conselhos que estão incorporados nela. Agradeço ao Dr. Anísio Francisco Soares pela participação, conselhos e sugestões que constituem parte significativa dela. Agradeço ao Dr. Marcos José Correia pelos seus conselhos e dicas informais, sempre úteis e bem-vindas.

Aos colegas de laboratórios que se interessaram e quiseram saber sobre ela agradeço a todos. Agradeço em destaque a alguns amigos cuja ajuda foi de especial valia. Agradeço a Ana Cláudia pela imensa ajuda na realização desse trabalho, e pelo ensinamento do verdadeiro significado da expressão “amiga de todas as horas”. Agradeço a Franklin pela ajuda, atenção e companheirismo ao longo do árduo processo de aprendizado. Agradeço a Solange pela amizade paciente, tempo e empenho na ajuda prestada. Agradeço a Hilda por sua ajuda urgente e sua amizade e a Tiago por sua amizade e espirtuosidade. Agradeço a

Janaina e Fernanda pela amizade, apoio e incentivo. Agradeço a Ismaela, Welma e Ana Paula pela amizade e companheirismo. Agradeço a Alicely, Andresa e Lilian Ribeiro pelos ensinamentos e ajuda preciosa. Agradeço a Gyl, Carina, Rose e Lilian, meus amigos mais recentes,

Porém muito queridos.

Agradeço a meus amigos de longa data Nara, Natan, Rafael e Saulo por me ajudarem a não levar a vida tão a sério.

Agradeço a Fundação de Amparo à Ciência e Tecnologia de Pernambuco pelo apoio financeiro a realização desse trabalho.

Agradeço a coordenadora do Curso de Pós-Graduação em Biociência Animal do Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal, Ana Lúcia Figueiredo Porto pela recepção agradável e toda a atenção despendida.

Por fim, agradeço a Universidade Federal Rural de Pernambuco, instituição que proporcionou tantos bons momentos da minha vida.

RESUMO

Glicocorticóides são utilizados em tratamentos pré-natais para acelerar o desenvolvimento pulmonar em casos de risco de prematuridade. A administração de glicocorticóides é comumente associada com alterações na produção e distribuição de células sanguíneas, elevação na glicemia e alterações na metabolização de carboidratos em tecidos-alvo como o fígado. A presente pesquisa teve o objetivo de avaliar o efeito da aplicação de dexametasona no início da gestação de ratas, sobre parâmetros hematológicos, bioquímicos e histoquímicos da prole. Foram utilizadas 12 ratas albinas divididas em: grupo I com ratas tratadas com dexametasona do 1º ao 7º dia de gestação e com placebo a partir do 8º dia até o 14º dia de gestação; grupo II com ratas tratadas com placebo 1º ao 7º dia de gestação e com dexametasona do 8º ao 14º dia de gestação; grupo III com ratas tratadas com dexametasona do 1º ao 14º dia de gestação com progressiva redução de 15% da concentração de dexametasona a cada 2 dias e grupo IV com ratas tratadas com placebo do 1º até o 14º dia de gestação. Foi utilizada a formulação comercial Decadron® administrada por via intraperitoneal, em uma aplicação diária na dose de 0.8mg/kg/animal. Para a análise dos parâmetros hematológicos e níveis de carboidratos totais foram coletadas amostras de sangue nas ratas no 7º, 14º e 21º dia de gestação e na prole no 5º, 10º e 15º dia pós-natal. Para a verificação das reservas de glicogênio hepático da prole, cortes histológicos foram corados pelo Ácido Periódico de Schiff. Os resultados da presente pesquisa apontam para um efeito tempo-dependente da administração de dexametasona durante a prenhez, levando a alterações temporais distintas na hematologia como linfopenia, eosinopenia e neutrofilia nos momentos da administração, sendo reversíveis até o fim da gestação quando realizadas no terço inicial da gestação e alteração no nível plasmático de carboidratos totais nas matrizes e na prole mais evidente no tratamento mais duradouro.

PALAVRAS-CHAVE: fígado, dexametasona, tratamento pré-natal, carboidratos, ratos.

ABSTRACT

Glucocorticoids are used in prenatal treatments to speed up the pulmonary development in cases of prematurity risk. The administration of glucocorticoids is commonly associated with change in the production and distribution of blood cells, hyperglycemia and change in carbohydrates metabolization in target-tissue, as liver. The present research has subjected to evaluate the effect of dexamethasone application in early and mid- pregnancy of rats over hematologic, biochemist and histochemistry parameters of the offspring. A Number of 12 albinic rats was divided in: group I rats treated with dexametasona 1 to 7 pregnancy day and with placebo 8 to 14 pregnancy day; group II rats treated with placebo 1 to 7 pregnancy day and with dexametasona 8 to 14 pregnancy day; group III rats treated with dexametasona to 1 to 14 pregnancy day with dexamethasone concentration reduction of 15% to each 2 days and group IV rats treated with placebo 1 to 14 pregnancy day. Decadron® commercial formularization was managed for intraperitoneal injection daily in the dose of 0.8mg/kg/animal. For analysis of the hematologic parameters and level of full blood carbohydrates, blood samples was taken for rats in 7, 14 and 21 pregnancy day and for the offspring in 5, 10 and 15 post-birth day. For assessment of offspring glycogen liver storage, histological sections were stained by Schiff's Periodic Acid. The results of the present research point in respect to a time-dependent effect of dexamethasone administration during the pregnancy, leading to a distinct secular alterations in the hematology as lymphopenia, eosinopenia and neutrophilia at the moments of the administration, being reversible until the end of the pregnancy when performed in early third of pregnancy and changes in plasma levels of full blood carbohydrates in the matrices and offspring are more evident in the longest treatment.

KEYWORDS: liver, dexamethasone, prenatal treatment, carbohydrates, rats.

SUMÁRIO

Capítulos	Pág.
AGRADECIMENTOS.....	iv
RESUMO.....	vi
ABSTRACT.....	vii
I 1. INTRODUÇÃO.....	10
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	12
2.1. Adrenal: esteroidogênese e produção de glicocorticóides.....	12
2.2. Vias de biossíntese esteroidogênica.....	13
2.3. Regulação da esteroidogênese da adrenal.....	15
2.4. Ritmo circadiano de liberação de glicocorticóides.....	16
2.5. Receptores glicocorticóides.....	16
2.6. Papel das enzimas 11 β – HSD na atividade dos glicocorticóides.....	20
2.7. Regulação das enzimas 11 β – HSD da placenta.....	20
2.8. Efeitos do estresse sobre a interação feto-placenta.....	22
2.9. Efeito dos glicocorticóides sobre carboidratos, proteínas e lipídeos.....	23
2.10. Efeitos dos glicocorticóides sobre parâmetros sanguíneos...	23
2.11. Uso de glicocorticóides para tratamento pré-natal.....	26

	REFERÊNCIAS.....	27
II	Efeito da administração pré-natal da dexametasona em ratas no início e meio da gestação sobre o nível glicídico, perfil hematológico e funcionalidade hepática na prole.....	41
	RESUMO.....	41
	ABSTRACT.....	42
	1. Introdução.....	42
	2. Material e Métodos.....	43
	3. Resultados.....	46
	4. Discussão.....	48
	5. Conclusão.....	51
	6. Agradecimentos.....	51
	7. Referências.....	51
	8. Anexos.....	55

CAPÍTULO I

1. INTRODUÇÃO

Os glicocorticóides sintéticos são indicados para tratamentos em que uma ação antiinflamatória e imunossupressora seja necessária, especialmente para tratamento intensivo durante períodos mais curtos. Dentre esses glicocorticóides, a dexametasona se destaca por apresentar atividade farmacológica de dez a vinte vezes maiores que o cortisol e a corticosterona. A dexametasona é largamente utilizada, devido a características como: grande afinidade por receptores, extensa meia-vida da droga, elevado potencial antiinflamatório e a reduzida retenção de sódio (DAMIANI; SETIAN; DICHTCHEKENIAN 1984; BAVARESCO; BERNARDI; BATTASTINI 2005).

A aplicação pré-natal de dexametasona tem sido utilizada em casos de gestação com risco de prematuridade em função dos efeitos benéficos atribuídos ao tratamento. Estes consistem na aceleração do desenvolvimento de tecidos-alvos no feto, possibilitando um aumento na probabilidade de sobrevivência do prematuro, assim como, a redução de tempo de permanência na incubadora e a redução significativa das complicações decorrentes da prematuridade (AL-DAHAN et al., 1987; OUE et al., 2000; OKAJIMA et al., 2001). Além disso, a presença de dexametasona associada ao estrogênio induz a expressão de receptores para esse esteróide no fígado, regulando processos fisiológicos ou patológicos tais como: coagulação, arterosclerose e hipertensão (FREYSCHUSS et al., 1993).

Estudos sobre o transporte transplacentário de glicocorticóides mostram que ele é regulado pela enzima 11 β -hidroxisteróide desidrogenase tipo 2 (11 β -HSD2). Em humanos, a bioatividade dessa enzima na placenta aumenta com decorrer da gestação, gerando uma barreira progressivamente eficaz (SCHOOF et al., 2001). Contudo, estudos sobre o transporte de glicocorticóides através da placenta, usando ratos como modelos experimentais divergem no que diz respeito à bioatividade dessa enzima. Nesses roedores, a enzima 11 β -HSD2 placentária possui maior bioatividade no início da gestação, tendendo a reduzir sua bioatividade com o decorrer da gestação, enquanto a enzima 11 β -HSD 1 apresenta uma dinâmica

inversa, possuindo uma menor bioatividade no início da gestação que aumentaria com a aproximação do parto (WADDELL et al., 1998).

A utilização desse glicocorticóide no período pré-natal causa, frequentemente, alterações no metabolismo da glicose na vida adulta devido, principalmente, ao desenvolvimento de resistência a insulina, comumente associada à redução da síntese dos receptores de insulina, desencadeando hiperglicemia e hiperinsulinemia (NYRIENDA et al., 1998). Pode ocorrer também a redução da síntese de insulina induzida pela redução da absorção da glicose circulante pelas células β do pâncreas. O pâncreas sofre uma redução dos receptores para insulina mediada por glicocorticóides e com a redução da sensibilidade dessas células à insulina ocorre uma menor absorção da glicose circulante resultando no comprometimento da síntese da insulina. Acompanhando essas alterações ocorrem mudanças no perfil lipídico plasmático, em decorrência de uma hiperestimulação da maturação do tecido adiposo que libera seu conteúdo na corrente sanguínea, principalmente o colesterol (HOLNESS; SUGDEN 2001; DIEDERICH et al., 2002).

As alterações causadas por glicocorticóides no sangue não se restringem apenas a composição química. Também se verificam alterações no número e proporção de leucócitos em casos de infecções. Na circulação periférica ocorre uma marcada redução de linfócitos e uma acentuada elevação dos neutrófilos (DHABHAR et al., 1996). Dessa forma, os glicocorticóides são utilizados no combate de algumas infecções que ocorrem durante a gestação (BUHIMSCHI et al., 2008). Estudos *in vitro* mostram ainda que a presença de dexametasona no meio de cultura está associada com o sucesso do estabelecimento das colônias de células tronco do estroma da medula óssea, sendo este o sítio de localização das células tronco progenitoras da maioria das linhagens de células sanguíneas (KREBSBACHL et al., 1999).

Grande parte dos estudos, com a aplicação pré-natal de dexametasona em ratos, são realizados nos dois terços finais da gestação, ou seja, a partir do 8º dia de prenhez. Os resultados destes estudos mostram uma associação entre a aplicação da dexametasona nesse período gestacional e o surgimento de uma série de efeitos deletérios (NEVAGI; KALIWAL 2001; SECKL 2004). Já estudos realizados com a aplicação de dexametasona no início da gestação mostram alguns efeitos benéficos

como supressão das células Nk e promoção do desenvolvimento e infiltração do trofoblasto (CROCKER et al., 2001; MA et al., 2002; CROCKER et al., 2003).

Os estudos voltados para a análise da aplicação pré-natal em períodos iniciais da gestação ainda são incipientes, contudo apresentam respostas consideravelmente menos danosas. Recentemente, levantou-se a importância clínica da realização de mais estudos com o tratamento pré-natal de glicocorticóides no início da gestação (MICHAEL; PAPAGEORGHIU 2008). Assim, a presente pesquisa teve o objetivo de caracterizar o efeito da administração pré-natal de dexametasona sobre parâmetros sanguíneos e histogênese hepática na prole de ratos

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. Adrenal: esteroidogênese e produção de glicocorticóides

A glândula adrenal é o sítio de produção de inúmeros hormônios sintetizados com base em moléculas de colesterol. Na região cortical da glândula adrenal são sintetizadas três classes de hormônios: glicocorticóides, hormônios produzidos na zona fasciculada do córtex da adrenal que atuam como os principais mediadores da resposta ao estresse; mineralocorticóides, hormônios produzidos na zona glomerulosa do córtex da adrenal que são responsáveis pelo equilíbrio iônico dos fluidos corporais e os esteróides sexuais, hormônios produzidos na zona reticular e responsáveis pelo desenvolvimento e funcionalidade do sistema reprodutor. A biosíntese de moléculas que toma como matéria prima a molécula de colesterol é chamada de esteroidogênese (KRAEMER 2007). A principal fonte de colesterol para a esteroidogênese são lipoproteínas de baixa densidade (LDL) obtidas da corrente sanguínea e endocitadas por receptores para LDL situados em uma superfície específica da membrana citoplasmática (GWYNNE; STRAUSS 1982). A obtenção de colesterol da corrente sanguínea também pode ser realizada através de receptores

específicos para lipoproteínas de alta densidade (HDL), SR-B1 (GWYNNE, J. T.; HESS 1980; ACTON et al., 1996). As células envolvidas na produção de hormônios esteróides são chamadas de células esteroidogênicas, essas células também podem sintetizar colesterol *de novo* com base na molécula de acetil coenzima A (BORKOWSKI et al., 1967).

2.2. Vias de biossíntese esteroidogênica

O passo inicial a incorporação de colesterol a estrutura das membranas celulares é o transporte do colesterol para os sítios de esteroidogênese. Na mitocôndria ocorre o transporte de moléculas de colesterol da membrana mitocondrial interna para a externa, sítio de conversão de colesterol em pregnenolona realizada pelo citocromo P450_{scc}. Estudos mostram que o mediador desse passo é a proteína de 30-kd chamada de proteína regulatória aguda da esteroidogênese (StAR). A produção de StAR é induzida pela elevação do nível de AMP cíclico na célula, seguida da ligação da corticotrofina, ACTH, ao seu receptor cognato, provendo o primeiro passo para a esteroidogênese da adrenal. Outros transportadores que podem estar envolvidos incluem o receptor semelhante ao benzodiazepina periférico (PAPADOPOULOS et al., 1997).

A partir dessa migração uma série de enzimas atua sobre a estrutura da molécula de colesterol. As enzimas CYP11B, que residem na mitocôndria, requerem um sistema de transporte de elétrons em associação com as enzimas adrenodoxina e adrenodoxina redutase que agem respectivamente, oxidando e hidrolisando esteróides (PAYNE; HALES 2004). O colesterol também sofre uma clivagem por ação da enzima de clivagem da cadeia lateral de colesterol para formar pregnenolona (JOHN et al., 1984). Segundo Frenking et al., 1990, no citoplasma a pregnenolona é convertida em progesterona pela enzima 3 β –hidroxisteróide desidrogenase do tipo 2 (3 β -HSD 2). As enzimas microssômicas P450_{c17} e P450_{c21} são sintetizadas no retículo endoplasmático (RE). Ambas exercem papéis importantes nas modificações sofridas pela progesterona nas etapas seguintes. A

primeira possui atividades de 17 α –hidroxilase e 17,20 liase, enquanto a segunda apresenta atividade de 21 –hidroxilase. Para seu funcionamento, todas as enzimas microsossomais precisam de elétrons removidos de moléculas de nicotinamida adenosina dinucleotídeo fosfato (NADH) através da enzima P450 oxidoreductase. Além disso, a enzima P450c17 depende de uma associação com a flavoproteína citocromo b5 para exercer sua função 17,20 liase. O citocromo b5 atua como um facilitador alostérico para a interação entre P450c17 e a P450 oxidoreductase (AKHTAR et al., 2005).

A progesterona é hidrolisada para formar 17-OH-progesterona através da atividade de P450c17, codificada pelo gene CYP17A1. A 17-hidroxilação é essencial para a síntese de glicocorticóides, e a zona glomerulosa não expressa a enzima P450c17. A enzima P450c17 também possui atividade de 17,20 liase que produz os precursores de andrógenos da adrenal, desidroepiandrosterona e androstenediona. Em humanos, existe alguma conversão de 17-OH-progesterona em androstenediona. Dessa forma, para a regulação desse processo, a produção de androstenediona em humanos é realizada pela enzima 3 β -HSD 2 que converte desidroepiandrostenediona em androstenediona, realizando também a conversão de 17-OH-progesterona sendo maior a afinidade por pregnenolona (CHUNG et al., 1987; YAMAGUCHI et al., 1997).

A 21-hidroxilação sofrida pela molécula da progesterona, na zona glomerulosa, assim como a sofrida pela molécula de 17-OH-progesterona, na zona fasciculada, é realizada pelo produto do gene CYP21A2, P450c21, que exerce a atividade de 21-hidroxilase para produzir desoxicorticosterona ou 11-desoxicortisol, respectivamente (WHITE et al., 1984). O passo final na biossíntese de cortisol tem lugar na mitocôndria e envolve a conversão de 11-desoxicortisol em cortisol por ação da enzima 11 β -hidroxilase, codificada pelo gene CYP11B1 (CHUA et al., 1987). Na zona glomerulosa, 11 β -hidroxilase também pode converter desoxicorticosterona em corticosterona. No entanto, as enzimas aldosterona sintase, codificadas pelo gene CYP11B2 também podem conduzir esta reação. Além disso, é requerida a conversão de corticosterona para aldosterona por meio do intermediário 18-OH-corticosterona (MORNET et al., 1989; KAWAMOTO et al., 1992).

2.3. Regulação da esteroidogênese da adrenal

Glicocorticóides são secretados em quantidades relativamente altas, cortisol 10 – 20mg/d, pela zona fasciculada sob o controle do hormônio adrenocorticotrófico (ACTH) enquanto os mineralocorticóides são secretados em baixas quantidades, aldosterona 100 - 150µg/d, pela zona glomerulosa sob controle, principalmente, da angiotensina II. Como classe, os andrógenos da adrenal desidroepiandrosterona (DHEA); sulfato de desidroepiandrosterona, (DHEAS) e androstenediona são os esteróides mais abundantes secretados pela glândula adrenal adulta, >20mg/d. Em cada caso, a expressão é facilitada pela presença de enzimas esteroidogênicas, com especificidade zonal. A zona glomerulosa não pode sintetizar cortisol porque não expressa CYP17. Em contraste, a secreção é confinada a porção mais externa da zona glomerulosa através da expressão restrita de CYP11B2. Embora CYP11B1 e CYP11B2 compartilhem 95% de homologia, as suas sequências promotoras 5' diferem de forma a possibilitar a regulação da etapa final na biossíntese de glicocorticóides e mineralocorticóides por ACTH e angiotensina II, respectivamente. Na zona reticular da adrenal a molécula de DHEA é produzida pela atividade 17,20 liase da enzima P450c17, devido à ampla expressão de citocromo b5, fator requerido para a atividade 17,20 liase nessa zona do córtex da adrenal (SUZUKI et al., 2000). O maior produto de secreção esteroidogênica da adrenal é a DHEAS, produto da ação da enzima DHEA sulfotransferase, SULT2A1, sobre a molécula de DHEA. (STROTT, 2002).

Na adrenal fetal, a esteroidogênese ocorre primariamente dentro da zona mais interna do córtex. Devido a relativa ausência de 3β-HSD 2 e elevada atividade de DHEA sulfotransferase, os principais produtos esteroidogênicos são DHEA e DHEAS que são aromatizados no trofoblasto e convertidos em estrógenos. Dessa forma, a maioria dos estrógenos maternos, ao longo da gestação, são indiretamente produzidos pelo feto. Um modelo clássico de feedback endócrino controla a secreção de glicocorticóides, onde o cortisol age sobre o hipotálamo e a pituitária inibindo a secreção de fator de liberação de corticotropina e ACTH, respectivamente (MACDONALD; SIITERI 1965).

2.4. Ritmo circadiano de liberação de glicocorticóides

O controle da secreção de glicocorticóides na adrenal é composto por oscilações geradas por genes relógios que compõem o sistema de manutenção temporal interagindo com curvas de feedback positivos e negativos. O núcleo supraquiasmático hipotalâmico é considerado o portador do relógio mestre que mantém a sincronia com as áreas periféricas (KO; TAKAHASHI, 2006; STRATMAN; SCHIBBLE, 2006). Segundo Buijs e Kalsbeek 2001, o núcleo supraquiasmático (SCN) age modulando o eixo neuroendócrino hipotálamo-pituitária-adrenal (HPA). Contudo, existe uma desvinculação entre a função de liberação de glicocorticóides pela adrenal e a liberação de seus principais hormônios reguladores: hormônio liberador de corticotropina e hormônio adrenocorticotrófico, ACTH, porque o ritmo de liberação de glicocorticóides ainda está presente quando ocorre administração contínua de ACTH em ratos hipofisectomizados (MEIER, 1976). Dessa forma, a fonte do ritmo circadiano inerente a síntese de glicocorticóides na adrenal ainda é uma questão em aberto. Alguns autores apontam para uma integração com nervos esplênicos (ISHIDA et al., 2005; ULRICH-LAI, et al., 2006), ao invés da estimulação mediada pela responsividade diferencial ao ACTH ou elevação da atividade do eixo HPA por resposta a estresse moderado (DIJKSTRA et al., 1996). Existem também fortes indícios de que exista um mecanismo intrínseco a adrenal ainda não descoberto, controlando o ritmo de liberação de glicocorticóides (SON et al., 2008).

2.5. Receptores glicocorticóides

Os receptores glicocorticóides (GR) são proteínas citoplasmáticas da superfamília dos receptores nucleares (WRIGHT et al., 1993; MANGELSDORF et al., 1995). Essas proteínas apresentam três níveis de funcionamento: recrutamento de fatores da maquinaria celular em geral; modulação de fatores de transcrição

independente da ligação com o DNA e modulação da estrutura da cromatina, permitindo a ligação de outras proteínas reguladoras da transcrição de DNA. Assim, os receptores dessa superfamília atuam alterando a expressão dos genes em resposta a um sinal hormonal específico (ARLT; STEWART 2005).

Os receptores para glicocorticóides são proteínas multifuncionais que traduzem o sinal determinado por seu hormônio ligante (ZHANG et al., 2004; WEBSTER et al., 2002). Apresentam estruturalmente três domínios: *domínio de ligação ao ligante terminal*, localizado na extremidade carboxi-terminal, promovendo a ligação ao hormônio, ao complexo hsp, para a translocação, para a dimerização e para transativação dos genes-alvo e silenciamento do receptor; *domínio central de ligação ao DNA* que compreende também o sítio de dimerização e atua na mediação da ligação entre o complexo hormônio-receptor-GRE, devido a suas áreas de extrema similaridade com o DNA e a presença de estruturas chamadas dedos de zinco e o *domínio de transativação*, localizado na extremidade amino-terminal e responsável pela interação com os fatores de transcrição basal e com outros fatores de transcrição (ARLT; STEWART 2005).

O gene codificador de GR está localizado no braço longo do cromossomo cinco, 5q31, apresentando cerca de 140.000 pares de base (pb) e é composto por 9 exons (HOLLENBERG et al., 1985). O exon 1, com 981 pb, não contém sequências codificadoras. O exon 2, com 1197 pb, codifica de todo o domínio Tau – 1. Os exons 3, com 167 pb, e 4, com 117pb, codificam o primeiro e segundo dedos de zinco no domínio de ligação ao DNA; enquanto os exons 5, com 280 pb, 6, com 145 pb, e 7, com 131 pb, e 8, com 158 pb, codificam o domínio de ligação esteroidal e o domínio de transativação Tau-2. O exon 9, com 4108 pb, codifica as duas extremidades alternativas alfa e beta no domínio de ligação esteroidal (OAKLEY et al., 1996). Esse gene apresenta 11 diferentes isoformas baseado em estudos da região 5' não traduzida (UTR) do exon 1. Essa variabilidade é associada à variabilidade da sensibilidade tecido-específica dos glicocorticóides (TURNER; MULLER, 2005).

Inicialmente ocorre o tráfego de hormônios lipofílicos através das membranas citoplasmáticas da célula-alvo. Em seguida ocorre a formação do complexo hormônio – receptor – elemento de resposta hormonal. O complexo formado promove a modulação da transcrição dos genes-alvo dos glicocorticóides, positiva

ou negativamente, dependendo do contexto do promotor e de proteínas co-ativadoras ou co-repressoras. A ativação da transcrição gênica que é mediada por um complexo de fatores reguladores da atividade da RNA polimerase, fatores de transcrição basal e geral (OGAWA et al., 2004).

Normalmente os receptores citoplasmáticos são encontrados no citoplasma por ausência de um sinal de localização nuclear. A existência desse sinal próximo ao domínio de ligação ao DNA, independente da ligação do receptor com o hormônio, leva esses receptores a se localizarem no núcleo (YUDT; CIDLOWSKI, 2001). Os receptores para glicocorticóides constituem uma exceção. Esses receptores são estabilizados por um complexo protéico denominado de proteínas de choque térmico (em inglês heat shock proteins – hsp) que o mantém inativo no citoplasma. O complexo possui uma molécula do receptor, duas de hsp de 90Kd, hsp 90, e outra proteína de 59 Kd, hsp 59. O hsp confere ao receptor a conformação tridimensional adequada para a ligação ao hormônio (MENDEL; ORTI 1988; ORTI, et al., 1989; BUTTGEREIT et al., 1998)

Os receptores ativados atuam como homodímeros que se ligam ao DNA dupla-fita em uma sequência específica de 6 nucleotídeos, hexâmeros, denominados de *half-sites* (CHANDRASEKHAR et al., 1999; ADAMS et al., 2003). As sequências dos hormônios esteróides, com exceção do receptor de estrogênio é AGAACA de 5' para 3'. Outra sequência comumente utilizada é a AGGTCA. Homodímeros de receptores de esteróides se ligam a duas sequências de hexâmeros em sentidos opostos (repetições invertidas) (ADAMS et al., 2003; LIU et al., 2003).

Os GRs em camundongos desempenham interessante papel na ativação pré-natal dos genes específicos do fígado que estão relacionados com glicocorticóides. Os estudos estão concentrados sobre o gene de tirosina aminotransferase (TAT), enzima envolvida na metabolização de proteínas aromatizadas. Tem-se analisado a natureza molecular da rota de tradução do sinal induzido por hormônio que ativa a expressão do gene TAT. A expressão específica do gene TAT no fígado é controlada por 3 regiões bem separadas que tem sido extensamente caracterizada em experimentos de transfecções, através de mutagênese direcionada e por estudos com proteínas de ligação, tanto *in vivo* como *in vitro* (NITSCH et al., 1990).A

expressão desse gene ocorre unicamente nas células do fígado e apenas após o parto. A exposição de tecidos fetais a glicocorticóides ativa a expressão desse gene antes do nascimento e ocorrem alterações na estrutura da cromatina (JANTZEN et al., 1987).

Os GRs também exercem efeitos sobre vias alternativas não-genômicas como: a via da 1,25-vitamina D₃, da progesterona e da aldosterona. Atuam sobre os sistemas de segundo mensageiro incluindo proteína quinase C, níveis intracelulares de cálcio, óxido nítrico e outras proteínas quinase. Considera-se a existência de um receptor na membrana citoplasmática, originado de uma transcrição alternativa de gene do receptor para glicocorticóides que gera essas alterações sobre vias não-genômicas (LOSEL et al., 2003).

Vários fatores exercem influencia sobre a ação dos receptores para glicocorticóides. Os principais fatores são: concentração hormonal, mantida pelo eixo HPA (TORPY et al., 2001), biodisponibilidade de glicocorticóides (FUNDER, 1997), afinidade do receptor para ligação hormonal (HURLEY et al., 1991), densidade intracelular de GR (MILLER et al., 1990), translocação nuclear do receptor ativado (PARIANTE et al., 1999), dissociação do complexo GR com o complexo hps (PRATT et al., 1992), fosforilação do GR (KING; CIDLOWSKI, 1998), interação com o elemento responsivo ao glicocorticóide, GRE, e fatores de transcrição (SMOAK; CIDLOWSKI, 2004). A expressão celular de GR também é correlacionada positivamente com a magnitude da resposta mediada pelos glicocorticóides e varia de modo tecido-específico, tendo no timo um dos órgãos com maior densidade de receptores por célula (MILLER et al., 1990). Dos fatores de influencia sobre a ação dos glicocorticóides citados, o mais importante durante a gestação é a biodisponibilidade de glicocorticóides, sendo esta regulada pelas enzimas 11 β -hidroxilases e 11 β -redutases.

A *biodisponibilidade intracelular* do hormônio é modulada por duas isoformas de enzimas 11 β – hidroxisteróide desidrogenase (11 β – HSD), codificadas por genes distintos e que catalisam a conversão da forma ativa para a forma inativa dos glicocorticóides (FREY et al., 2004). Nos tecidos humanos, a 11 β – HSD 1 é amplamente distribuída, sendo especialmente abundante no fígado e no tecido adiposo. Atua principalmente como uma oxorredutase, converendo a cortisona em

cortisol. De modo oposto, a enzima 11β – HSD 2 é encontrada predominantemente nos tecidos-alvo de mineralocorticóides, como nos rins, no cólon e nas glândulas salivares, onde atuam protegendo o receptor para mineralocorticóide (MR) da ação dos glicocorticóides. O MR apresenta a mesma afinidade para com o cortisol e para a aldosterona, sendo a inativação do cortisol em cortisona nesse sítio favorecedora da ligação da aldosterona ao seu receptor. Mutações nos genes destas enzimas alteram suas atividades e, conseqüentemente, a biodisponibilidade do cortisol (PATERSON et al., 2004).

2.6. Papel das enzimas 11β – HSD na atividade dos glicocorticóides

As enzimas 11β -HSDs são responsáveis pela ativação e inativação de glicocorticóides nos tecidos. Inicialmente, estudos que visavam a purificação e caracterização dessas enzimas no tecido hepático por método de coluna de afinidade de agarose-NADP determinaram um peso molecular de 34.000 e a enzima teve um Kd para cortisol de $17.3 \mu\text{M}$ e para corticosterona de $1,83 \mu\text{M}$. O fígado é um importante sítio de interconversão de glicocorticóides em suas formas ativas e inativas, de forma que essas enzimas ocorrem em concentração elevada nesse tecido. Estudos usando ratos para a elaboração de bibliotecas de DNA foi possível encontrar o mesmo cDNA foi encontrado nos rins e testículos. Essa enzima passou a ser chamada de 11-HSD do tipo 1 (AGARWAL et al., 1989). Com a purificação de processados enzimáticos de fígado ficou aparente que outra enzima realizava o papel de proteção não específica de glicocorticóides (SECKL, 1993). Estudos em outros tecidos indicavam baixa imunolocalização para 11β -HSD análoga a encontrada no fígado, 11β -HSD 1 (EDWARDS et al., 1988; RUNDLE et al., 1989). A enzima 11β – HSD do tipo 2 foi então purificada de placentas humanas e foram determinados diferentes pH ótimo, solubilidade detergente, latência e imunorreatividade em relação ao tipo que já havia sido purificado no fígado (BROWN et al., 1993).

2.7. Regulação das enzimas 11β – HSD da placenta

A produção de estrogênios, sintetizados na placenta a partir de andrógenos oriundos da adrenal fetal, mantém a atividade de 11 β -HSD da placenta. O retardo no crescimento intra-uterino em humanos é associado com redução da produção de andrógenos fetais, que pode reduzir a produção de 11 β -HSDs da placenta, aumentando, por sua vez, a transferência de glicocorticóides da mãe para o feto. O estresse materno pode causar a elevação na produção de hormônios ligados a corticotropina, essa elevação na circulação neonatal é associada com o retardo no crescimento intra-uterino (LESAGE et al., 2004). Essa sucessão de eventos estimula o eixo HPA e a liberação de glicocorticóides. Ocorre uma progressiva redução da conversão de formas ativas em inativas de glicocorticóides pela enzima 11 β -HSD 2, provavelmente devido a ligação dela com outros esteróides de maior afinidade que o cortisol. Alterações da eficiência da enzima também são atribuídas a alterações no gene que a codifica (STEWART et al., 1996).

Esse excesso de glicocorticóides pode prover um benefício de curto prazo, talvez por elevar a disponibilidade de glicose e outros combustíveis metabólicos. Contudo, pode haver conseqüências de longo prazo como a programação de níveis elevados de glicocorticóides, pressão sanguínea elevada, hiperglicemia, todo tipo de resposta gerada de maneira semelhante aquelas encontradas no estresse, no entanto, atinge níveis patológicos na vida adulta (SECKL 2004).

A exposição do tecido placentário a elevados níveis de glicocorticóides é associada a uma redução na síntese da enzima 11 β -HSD 2 (HENDERSON et al., 2003). Com a redução dessa enzima é verificado o surgimento de inúmeras alterações no conceito e na dinâmica natural dos glicocorticóides na placenta, baseada no sinergismo entre os mesmos e as enzimas 11 β -HSD 1 e 2. Esse sinergismo manteria um contingente de moléculas inativas de glicocorticóides na circulação placentária. Esses glicocorticóides inativos seriam reativados de forma controlada pela ação da enzima 11 β -HSD 1. Com a redução da enzima 11 β -HSD 2 ocorre maior passagem dos glicocorticóides para a circulação fetal e redução da imunoproteção da placenta com o aumento do número de células NK e um conseqüente aumento de apoptoses no trofoblasto. Esse tipo de alteração é

associado com desordens de implantação e abortos espontâneos (QUENBY et al., 2005; QUENBY; FARQUHARSON 2006).

2.8. Efeitos do estresse sobre a interação feto-placenta

O crescimento fetal adequado depende da nutrição adequada da placenta. O nutriente primário é a glicose, que cruza a barreira da placenta através de transportadores facilitados por uma redução do gradiente de concentração entre do compartimento materno para o feto. As proteínas transportadoras que têm sido identificadas, tanto em humanos como em roedores são: transportadores de glicose, GLUT1, GLUT3 e GLUT4 (KORGUN 2001; LANGLEY-EVANS et al., 1996). O GLUT1 media o transporte de glicose para a placenta e para o feto (KNIPP et al., 1999), enquanto o GLUT 3 é restrita a células na superfície fetal da barreira materno-fetal (BOILEAU et al., 1995). A expressão de GLUT 4 é muito baixa nas placentas de roedores e elevada nas placentas humanas (XING et al., 1998; ZHOU, J.; BONDY, 1993).

A utilização de glicocorticóides no período pré-natal causa, frequentemente, alterações no metabolismo da glicose na vida adulta devido, principalmente, ao desenvolvimento de resistência a insulina, comumente associada à redução da síntese dos receptores de insulina, desencadeando hiperglicemia e hiperinsulinemia (NYRIENDA et al., 1998). Pode ocorrer também a redução da síntese de insulina induzida pela redução da absorção da glicose circulante pelas células β do pâncreas. O pâncreas sofre uma redução dos receptores para insulina mediada por glicocorticóides e com a redução da sensibilidade dessas células à insulina ocorre uma menor absorção da glicose circulante resultando no comprometimento da síntese da insulina. Acompanhando essas alterações ocorrem mudanças no perfil lipídico plasmático, em decorrência de uma hiperestimulação da maturação do tecido adiposo que libera seu conteúdo na corrente sanguínea, principalmente o colesterol (HOLNESS; SUGDEN 2001; DIEDERICH et al., 2002).

2.9. Efeito dos glicocorticóides sobre carboidratos, proteínas e lipídeos

Os glicocorticóides elevam o nível de glicose sanguínea e mecanismo pelo qual promovem essa elevação envolve o metabolismo de proteínas, lipídeos e glicogênio. A deposição de glicogênio no tecido hepático depende das vias de síntese, promovida pelas enzimas glicogênio sintetase, e por suas vias de catabólicas promovidas pelas enzimas de mobilização de glicogênio. As enzimas indicadas como enzimas chave para o processo de absorção de carboidratos são a glicose-6-fosfatase e a fosfoenolpiruvato quinase (PEPCK). Em tecidos periféricos o cortisol inibe a absorção e uso de glicose. No tecido adiposo ocorre lipólise e uma resultante liberação de ácidos graxos na circulação. Ocorre elevação de colesterolemia e dos níveis de triglicerídeos, mas o HDL sofre redução. Os glicocorticóides também possuem efeitos permissivos sobre catecolaminas e glucagon. O resultado é o surgimento de resistência a insulina e a elevação da concentração de glicose sanguínea, com o custo do catabolismo de lipídeos e proteínas (BARTHEL; SCHMOLL 2003).

Os glicocorticóides influem sobre o metabolismo de lipídeos através da estimulação da síntese de lipoproteínas. Frequentemente o quadro é associado com diabetes mellitus. Os glicocorticóides estimulam a diferenciação de adipócitos através da ativação transcricional de genes chave da diferenciação de adipócitos promovendo a ativação transcricional de genes relacionados a diferenciação como aqueles relacionados a produção de lipoproteína lípase, glicerol – 3 – fosfato desidrogenase e leptina. Na maioria das pessoas essas alterações ocasionam obesidade generalizada, no entanto, nos quadros de síndrome de Cushing observa-se um acúmulo de gordura abdominal, Correlacionada a elevação do número de receptores para glicocorticóides e da 11β – HSD 1 no omento, quando comparado com o tecido adiposo de regiões subcutâneas (HAUNER et al., 1989). No músculo e tecido conjuntivo ocorre redução na síntese de proteínas que pode ser associada com atrofia muscular e redução de colágeno na pele (SUN et al., 2008).

2.10. Efeitos dos glicocorticóides sobre parâmetros sanguíneos

Os glicocorticóides agem sobre as regiões do núcleo paraventricular e núcleo supraóptico do hipotálamo e nas terminações da neurohipófise induzindo a redução da produção de proteínas responsáveis pela regulação da homeostase dos fluidos corporais. É relatada uma redução na produção de oxitocina que é responsável por efeitos natriuréticos (RUGINSK, et al., 2009). Além disso, os glicocorticóides ligam-se aos receptores mineralocorticóides, MR, na região distal dos néfrons. A regulação da interação entre esses receptores e os glicocorticóides é realizada pelas enzimas 11β – HSD 2. A inativação de glicocorticóides nessa região possibilita a interação dos MR com os mineralocorticóide cuja interação resulta na retenção de sódio e perda de potássio e leva a indução da síntese de angiotensinogênio. De forma geral, os glicocorticóides agem reduzindo a razão de filtração glomerular, o transporte de sódio do epitélio tubular proximal e o *clearance* de água livre, fatores que influem diretamente sobre o volume, pressão e osmolalidade do sangue (STANTON 1986).

Glicocorticóides suprimem a resposta imunológica. No sangue periférico, a ação dos glicocorticóides reduz o número de linfócitos de compartimentos intravascular para o baço, linfonodos e medula óssea. Os neutrófilos sofrem elevação do seu número. Os eosinófilos caem rapidamente, isso tem sido usado como bioensaio (YU, et al., 1974). A ação dos glicocorticóides envolve tanto a ação direta dos glicocorticóides sobre a produção de imunoglobulina e apoptose de linfócitos. A inibição da produção de citocinas de linfócitos é mediada através da inibição da ação de fator NF-kB, que desempenha um papel crucial e generalizado na indução da transcrição do gene de citocinas; glicocorticóides podem ligar-se diretamente a NF-kB para prevenir a translocação nuclear, e em adição induz a NF-kB, com seqüestro de NF-kB do citoplasma, dessa forma, inativando seu efeito. Outros efeitos antiinflamatórios envolvem a diferenciação em macrófagos e fagocitose de macrófagos em atividade citotóxica. Glicocorticóides reduzem a resposta inflamatória local por prevenir a ação de histaminas e ativadores de plasminogênio. A síntese de prostaglandinas é reduzida pela indução de lipocortinas e inibição da atividade da fosfolipase A2 (RHEN; CIDLOWSKI 2005).

O bloqueio de várias rotas inflamatórias reside nas interações entre glicocorticóides e seus receptores. A inibição da prostaglandina por glicocorticóides, por exemplo é mediada pela indução da ativação de anexina 1 e indução da fosfatase 1 MAPK, e a repressão da transcrição de ciclooxigenase 2. A anexina 1, também chamada de lipocortina-1, é uma proteína antiinflamatória que interage fisicamente e inibe a fosfolipase $A_2\alpha$ citossólica, cPLA $_2\alpha$ (SOLITO et al., 1998; MIZUNO et al., 1997; ANTONICELLI et al., 2001; KIM et al., 2001). Essa proteína ligada a cálcio requer elevados níveis de cálcio e fosforilação por proteínas quinase MAPK, quinase II dependente de cálcio ou calmodulina e interação com o MAPK para exercer sua atividade enzimática (HIRABAYASHI et al., 2004).

A atuação de cPLA $_2\alpha$ por estímulo inflamatório começa com o movimento da fosfolipase do citosol para a membrana perinuclear, onde ele hidrolisa fosfolípidos contendo ácido aracdônico. Glicocorticóides induzem a síntese de anexina 1, que por inibição da cPLA $_2\alpha$ bloqueia a liberação de ácido aracdônico e sua subsequente conversão em eicosanóides, por exemplo, prostaglandinas, tromboxanos, prostaglandinas e leucotrienos. Camundongos com ausência de anexina 1 tem elevado nível de cPLA $_2\alpha$, e exagerada resposta inflamatória e resistência parcial a ação antiinflamatória de glicocorticóides. Uma forte correlação existe entre os níveis de cortisol basais e estimulados por corticotropina e a expressão de anexina 1 em neutrófilos em humanos, mas a importância da anexina 1 como antiinflamatório é desconhecida (LIM et al., 1998; YANG et al., 2004).

O complexo cortisol – receptor para glicocorticóides também interagem com NF-KB para bloquear sua atividade transcricional. Nesse estado inativo, NF-KB é seqüestrado no citoplasma por uma proteína inibitória chamada I κ B. TNF- α , interleucina-1, patógenos microbianos, infecções virais e outros gatilhos de sinais inflamatórios, sinalizam cascatas que inativam a I κ B quinases (RHEN; CIDLOWSKI, 2005). Fosforilação de I κ B leva a sua ubiquitinação e degradação pro proteossomos, desmascarando a localização nuclear de sinal de NF-kB. No núcleo, NF-kB liga-se a sequências de DNA chamadas elementos NF-kB e estimula a transcrição de citocinas, quimiocinas, moléculas de adesão celular, fatores complemento e os receptores dessas moléculas. Também induzem a transcrição de ciclooxigenase 2,

enzima essencial para a produção de prostaglandina (CHANDRASEKHARAN; SIMMONS 2004).

Estudos recentes mostram que os glicocorticóides podem ter rápidos efeitos sobre a inflamação que não são mediados por alterações na expressão gênica. Para Hafezi-Moghadam et al. 2002, o mecanismo não-genômico envolve a ativação de óxido nítrico sintetase endotelial (eNOS). Os glicocorticóides estimulam a produção de fosfatidilinositol-3-hidroxiquinase (PI3K) de maneira dependente de glicocorticóides, porém independente de transcrição, em células endoteliais humanas. A ativação de PI3K leva a fosforilação de Akt. A fosforilação de Akt leva a fosforilação de NOS que o ativa e resulta na produção de óxido nítrico. A produção de óxido nítrico é comumente associada a vasodilatação e inflamação (ORTIZ; GARVIN, 2003).

2.11. Uso de glicocorticóides para tratamento pré-natal

A imaturidade do desenvolvimento pulmonar é um dos principais fatores causador de mortalidade e morbidade neonatal de prematuros, contribuindo para a elevação dos custos no tratamento neonatal intensivo (JOHNSON 1993). Tratamentos pré-natais com administração única de glicocorticóides reduzem o risco da síndrome da angústia respiratória (RDS) de 26% para 17%. Além desse benefício, o tratamento pré-natal com glicocorticóides reduz o risco de hemorragia intraventricular (GALARD et al., 1995). O tratamento pré-natal também aumenta os benefícios da terapia pós-natal com surfactante, de forma a reduzir a duração do cuidado neonatal intensivo (MOISE 1995). Estudos de longa-duração com crianças tratadas pré-natalmente com corticosteróides fracassaram em determinar seus efeitos adversos (DALZIEL 2005a; DALZIEL 2005b). Atualmente, a administração de glicocorticóides é a estratégia mais bem sucedida em reduzir os efeitos negativos da prematuridade, no entanto, ainda existe considerável morbidade para prematuros (SOLL 2001).

O uso de repetidas administrações de corticosteróides praticado tem sido associado a elevação do risco de infecção e prejuízo do funcionamento do eixo hipotálamo-pituitária-adrenal (STUCK, et al.,1989). Estudos com animais mostram efeitos benéficos como redução do risco da RDS associada com a redução de hemorragias intraventriculares. Contudo, a administração de várias aplicações de corticosteróides leva a efeitos adversos que compreendem a inibição do crescimento fetal (IKEGAMI et al., 1997), redução do peso ao nascer e alterações na funcionalidade do eixo hipotálamo-pituitária-adrenal (MOSS et al., 2001).

O tratamento com dexametasona pode afetar ainda a embriogênese. São citados efeitos deletérios, como: reabsorções, implantações de embriões alterados e implantações de embriões inviáveis. Também são relatadas algumas alterações morfológicas, como: fenda labial, fenda palatal e tamanho reduzido do concepto (LABORDE et al., 1992; HANSEN et al., 1999). Alguns órgãos como o pâncreas, o fígado e os rins podem apresentar alterações morfofuncionais atribuídas a corticoterapia (HOLNESS; SUGDEN 2001; BRUDER; PING; RAFF 2004).

REFERÊNCIAS

AL-DAHAN, J; STIMMLER, L; CHANTLER, C; HAYCOCK, G. B. The effect of antenatal dexamethasone administration on glomerular filtration rate and renal sodium excretion in premature infants. **Pediatric Nephrology**, Heidelberg, v. 1, n. 2, p. 131-135, 1987.

ACTON, S.; RIGOTTI, A.; LANDSCHULZ, K. T.; XU, S.; HOBBS, H. H.; KRIEGER, M. Identification of scavenger receptor SR-BI as a high-density lipoprotein receptor. **Science**, New York, Washington, DC, v. 271, p. 518–20, 1996. Disponível em:

<<http://www.digestivo.fmed.edu.uy/.pdf>> Acesso em: 14 abr. 2011.

ADAMS, M.; MEIJER, O. C.; WANG, J.; BHARGAVA, A.; PEARCE, D. Homodimerization of the glucocorticoid receptor is not essential for response element binding: activation of the phenylethanolamine N-methyltransferase gene by dimerization-defective mutants. **Molecular Endocrinology**, Chevy Chase, MD, v. 17, n. 12, p. 2583-2592, 2003. Disponível em:

<<http://mend.endojournals.org/cgi/reprint/17/12/2583>> Acesso em: 14 abr. 2011.

AGARWAL, A. K.; MONDER, C.; ECKSTEIN, B.; WHITE, P. C. Cloning and expression of rat cDNA encoding corticosteroid 11 β -dehydrogenase. **The Journal of Biological Chemistry**, Rockville Pike, Bethesda, MD, v. 264, n. 32, p.18939-18943, 1989. Disponível em:

<<http://www.jbc.org/content/264/32/18939.full.pdf>> Acesso em: 14 abr. 2011.

ANTONICELLI, F.; DE COUPADE, C.; RUSSO- MARIE, F.; LE GARREC, Y. CREB is involved in mouse annexin A1 regulation by cAMP and glucocorticoids. **European Journal of Biochemistry**, Cambridge, v. 268, p. 62-69, 2001. Disponível em:

<<http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1046//pdf>> Acesso em: 14 abr. 2011.

AKHTAR, M. K.; KELLY, S. L.; KADERBHAI, M. A. Cytocrome b5 modulation of 17 α hydroxylase and 17-20 lyase (CYP17) activities in steroidogenesis. **Journal of Endocrinology**, Chevy Chase, MD, v. 187, p. 267-274, 2005. Disponível em:

<<http://joe.endocrinology-journals.org/cgi/reprint/>> Acesso em: 14 abr. 2011.

ARLT, W.; STEWART, P. M. Adrenal Corticosteroid Biosynthesis, Metabolism, and Action. **Endocrinology and Metabolism Clinics of North America**, Kidlington, Oxford, v. 34, p. 293–313, 2005. Disponível em:

<<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/.pdf>> Acesso em: 14 abr. 2011.

BARTHEL, A.; SCHMOLL, D. Novel concepts in insulin regulation of hepatic gluconeogenesis. **American Journal of Physiology Endocrinology and Metabolism**, Bethesda, MD, v. 285, n. 4, p. E685-E692, 2003. Disponível em:

<<http://ajpendo.physiology.org/content/285/4/ll.pdf>> Acesso em: 14 abr. 2011.

BAVARESCO, L.; BERNARDI, A.; BATTASTINI, A. M. O. Glicocorticóides: Usos clássicos e emprego no tratamento do câncer. **Infarma**, São Paulo, v.17, n. 7-9, p. 58-60, 2005.

BORKOWSKI, A. J.; LEVIN, S.; DELCROIX. C.; MAHLER, A.; VERHAS, V. Blood cholesterol and hydrocortisone production in man: quantitative aspects of the utilization of circulating cholesterol by the adrenals at rest and under adrenocorticotropin stimulation. **The Journal of Clinical Investigation**, Ann Arbor, Michigan, v. 46, n. 5, p. 797–811, 1967. Disponível em:

<<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/.pdf>> Acesso em: 14 abr. 2011.

BROWN, R. W.; CHAPMAN, K. E.; EDWARDS, C. R. W.; SECKL, J. R. Human placental 11 β -hydroxysteroid dehydrogenase: partial purification of and evidence for a distinct NAD-dependent isoform. **Endocrinology**, Chevy Chase, MD, v. 132, p. 2614-2621, 1993.

BRUDER, E. D.; PING C. L.; RAFF H. Metabolic consequences of hypoxia from birth and dexamethasone treatment in the neonatal rat: comprehensive hepatic lipid and fatty acid profiling. **Endocrinology**, Chevy Chase, MD, v. 145, n. 11, p. 5364 - 5372, 2006. Disponível em:

<<http://endo.endojournals.org/cgi/reprint/145/11/5364>> Acesso em: 14 abr. 2011.

BUHIMSCHI, C. S.; TURAN, O. M. ; FUNAI, E. F. ; AZPURUA, H.; BAHTIYAR, M. O.; TURAN, S.; ZHAO , G.; DULAY, A.; BHANDARI, V.; COPEL, J. A.; BUHIMSCHI, I. A. Fetal adrenal gland volume and cortisol/ dehydroepiandrosterone sulfate ratio in inflammation-associated preterm birth. **Obstetrics and Gynecology**, Hagerstown, MD, v. 111, n. 3, p. 715 - 722, 2008.

BUIJS, R. M.; KALSBECK, A. Hypothalamic integration of central and peripheral clocks. **Nature Reviews Neuroscience**, London, v. 2, p. 521–526, 2001.

BUTTGEREIT, F.; WEHLING, M.; BURMESTER, G. R. A new hypothesis of modular glucocorticoid actions: steroid treatment of rheumatic diseases revisited. **Arthritis & Rheumatism**, New York, NY, v. 41, n. 5, p. 761-767, 1998.

CHANDRASEKHAR, S.; SOUBA, W. W.; ABCOUWER, S. F. Identification of glucocorticoid-responsive elements that control transcription of rat glutamine synthetase. **American Journal of Physiology - Lung Cellular and Molecular Physiology**, Rockville Pike, Bethesda, MD, v. 276, p. L319-331, 1999. Disponível em:

< <http://www.biomedcentral.com/content/pdf/gb.pdf> > Acesso em: 11 abr. 2011.

CHANDRASEKHARAN, N. V.; SIMMONS, D. L. The cyclooxygenases. **Genome Biology**, London, v. 5, n. 9, p. 241-2147, 2004. Disponível em:

< <http://www.biomedcentral.com/content/pdf/gb-.pdf> > Acesso em: 11 abr. 2011.

CHUA, S. C.; SZABO, P.; VITEK, A.; GRZESCHIK, K. H.; JOHN, M.; WHITE, P. C. Cloning of cDNA encoding steroid 11 β -hydroxylase (P450c11). **Proceedings of the National Academy of Science of the United States of America**, Washington, DC, v. 84, p. 7193–7197, 1987. Disponível em:

<<http://www.pnas.org/content/84/20/7193.full.pdf>> Acesso em: 14 abr. 2011.

CHUNG, B.C.; PICADO-LEONARD, J.; HANIU, M.; BIENKOWSKI, M.; HALL, P. F.; SHIVELY, J. E.; MILLER, W. L. Cytochrome P450c17 (steroid 17 α -hydroxylase/17,20 lyase): cloning of human adrenal and testis cDNAs indicates the same gene is expressed in both tissues. **Proceedings of the National Academy of Science of the United States of America**, Washington, DC, v. 84, p. 407-411, 1987. Disponível em:

<<http://www.pnas.org/content/84/2/407.full.pdf>> Acesso em: 14 abr. 2011.

CROCKER, I. P.; BARRATT, S.; KAUR, M.; BAKER, P. N. The in-vitro characterization of induced apoptosis in placental cytotrophoblasts and syncytiotrophoblasts. **Placenta**, Kidlington, v. 22, p. 822 – 830, 2001.

CROCKER, I. P.; COOPER, S.; ONG, S. C.; BAKER, P. N. Differences in apoptotic susceptibility of cytotrophoblasts and syncytiotrophoblasts in normal pregnancy to those complicated with preeclampsia and intrauterine growth restriction. **American Journal of Pathology**, Bethesda, MD, v. 162, p. 637–643, 2003. Disponível em:

<<http://amjpathol.highwire.org/cgi/reprint/162/2/637>> Acesso em: 15 abr. 2011.

DALZIEL, S. R.; WALKER, N. K.; PARAG, V.; MANTELL, C.; REA H. H.; RODGERS A.; HARDING, J. E. Cardiovascular risk factors after antenatal exposure to betamethasone: 30-year follow-up of a randomised controlled trial. **Lancet**, London, v. 365, p. 1856–1862, 2005.

DALZIEL, S. R.; LIM, V. K.; LAMBERT, A.; MCCARTHY D; PARAG, V.; RODGERS, A. HARDING, J. E. Antenatal exposure to betamethasone: psychological functioning and health related quality of life 31 years after inclusion in randomized controlled trial. **British Medical Journal**, London, v. 331, n. 7518, p. 1-7, 2005. Disponível em:

<<http://www.bmj.com/content/331/7518/665.full.pdf>> Acesso em: 14 abr. 2011.

DIEDERICH, S.; EIGENDORFF, E.; BURKHARDT, P.; QUINKLER, M.; BUMKE-VOGT, C.; ROCHEL, M.; SEIDELMANN, D.; ESTERLING, P.; OELKERS, W.; BÄHR,

V. 11 β -hydroxysteroid dehydrogenase types 1 and 2: A important pharmacokinetic determinant for the activity of synthetic mineralo- and glucocorticoids. **The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism**, Chevy Chase, MD, v. 87, n. 12, p. 5695 - 5701, 2002. Disponível em:

<<http://jcem.endojournals.org/cgi/reprint/87/12/5695>> Acesso em: 14 abr. 2011.

DIJKSTRA, I.; BINNEKADE, R.; TILDERS, F. J. Diurnal variation in resting levels of corticosterone is not mediated by variation in adrenal responsiveness to adrenocorticotropin but involves splanchnic nerve integrity. **Endocrinology**, Chevy Chase, MD, n. 137, p. 540–547, 1996.

EDWARDS, C. R. W.; STEWART, P. M.; BURT, D.; BRETT, L.; MCINTYRE, M. A.; SUTANTO, W. S.; de KLOET, E. R.; MONDER, C. Localisation of 11 β -hydroxysteroid dehydrogenase-tissue specific protector of the mineralocorticoid receptor. **Lancet**, London, v. 332, n. 8618, p. 986-989, 1988.

FREKING, F.; NAZAIRIANS, T.; SCHLINGER, A. B. The expression of the sex steroid-synthesizing enzymes CYP11A1, 3 β -HSD, CYP17, and CYP19 in gonads and adrenals of adult and developing Zebra finches. **General and Comparative Endocrinology**, Chevy Chase, MD, v. 119, p. 140-151, 2000.

FREY, F. J.; ODERMATT, A.; FREY, B. M. Glucocorticoid-mediated mineralocorticoid receptor activation and hypertension. **Current Opinion in Nephrology & Hypertension**, London, v. 13, n. 4, p. 451-8, 2004.

FREYSCHUSS, B.; STAVREUS-EVERS, A.; SAHLIN, L.; ERIKSSON, H. Induction of the estrogen receptor by growth hormone and glucocorticoid substitution in primary cultures of rat hepatocytes. **Endocrinology**, Chevy Chase, MD, v. 133, p. 1548 - 1554, 1993.

FUNDER, J. W. Glucocorticoid and mineralocorticoid receptors: biology and clinical relevance. **Annual Review of Medicine**, Palo Alto, CA, v. 48, p. 231-240, 1997. Disponível em:

<<http://www2.uah.es/farmamol/.pdf>> Acesso em: 14 abr. 2011.

GARLAND, J. S.; BUCK, R.; LEVITON, A. Effect of maternal glucocorticoid exposure on risk of severe intraventricular hemorrhage in surfactant-treated preterm infants. **The Journal of Pediatrics**, Cincinnati, OH, v. 126, n. 2, p. 272-279, 1995.

GWYNNE, J. T.; HESS, B. The role of high density lipoproteins in rat adrenal cholesterol metabolism and steroidogenesis. **The Journal of Biological Chemistry**, Rockville Pike, Bethesda, MD, v. 255, n. 22, p. 10875-10883. 1980. Disponível em:

<<http://www.jbc.org/content/255/22/10875.full.pdf>> Acesso em: 14 abr. 2011.

GWYNNE, J. T.; STRAUSS, J. F. III. The role of lipoprotein in steroidogenesis and cholesterol metabolism in steroidogenic glands. **Endocrine Reviews**, Chevy Chase, MD, v. 3, p. 299–329, 1982.

HAFEZI-MOGHADAM, A.; SIMONCINI, T.; YANG, Z.; LIMBOURG, F. P.; PLUMIER, J. C.; REBSAMEN, M. C.; HSIEH, C. M.; CHUI, D. S.; THOMAS, K. L.; PROROCK, A. J.; LAUBACH, V. E.; MOSKOWITZ, M. A.; FRENCH, B. A.; LEY, K.; LIAO, J. K. Acute cardiovascular protective effects of corticosteroids are mediated by non-transcriptional activation of endothelial nitric oxide synthase. **Nature Medicine**, New York, NY, v. 8, p. 473-479, 2002. Disponível em:

<<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles.pdf>> Acesso em: 14 abr. 2011.

HANSEN, D. K.; LABORDE, J. B.; WALL, K. S.; HOLSON, R. R.; YOUNG, J. F. Pharmacokinetic considerations of dexamethasone-induced developmental toxicity in rats. **Toxicology Science**, Princeton, NJ, v. 48, p. 230-239, 1999. Disponível em:

<<http://toxsci.oxfordjournals.org/content/48/2/230.full.pdf>> Acesso em: 14 abr. 2011.

HAUNER, H.; ENTENMANN, G.; WABITSCH, M.; GAILLARD, D.; AILHAUD, G.; NEGREL, R.; PFEIFFER, E. F. Promoting effects of glucocorticoids on the differentiation of human adipocyte precursor cells cultured in a chemically defined medium. **Journal of Clinical Investigation**, Ann Arbor, Michigan, v. 84, p. 1663–1670, 1989. Disponível em:

<<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles.pdf>> Acesso em: 14 abr. 2011.

HENDERSON, T. A.; SAUNDERS, P. T.; MOFFETT-KING, A.; GROOME, N. P.; CRITCHLEY, H. O. D. Steroid receptor expression in uterine natural killer cells. **The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism**, Chevy Chase, MD, v. 88, p. 440–449, 2003. Disponível em:

<<http://jcem.endojournals.org/cgi/reprint/88/1/440>> Acesso em: 14 abr. 2011.

HIRABAYASHI, T.; MURAYAMA, T.; SHIMIZU, T. Regulatory mechanism and physiological role of cytosolic phospholipase A2. **Biological & Pharmaceutical Bulletin**, Chiyoda-ku, Tokyo, v. 27, n. 8, p. 1168-1173, 2004. Disponível em:

<<http://www.istage.ist.go.jp/article/bpb/27/8/1168/pdf>> Acesso em: 14 abr. 2011.

HOLLENBERG, S. M.; WEINBERGER, C.; ONG, E. S.; CERELLI, G.; ORO, A.; LEBO, R.; THOMPSON, E. B.; ROSENFELD, M. G.; EVANS, R. M. Primary structure and expression of a functional human glucocorticoid receptor cDNA. **Nature**, London, n. 318, v. 6047, p. 635-641, 1985.

HOLNESS, M.; SUGDEN, D. Dexamethasone during late gestation exacerbates peripheral insulin resistance and selectively targets glucose-sensitive functions in β cell and liver. **Endocrinology**, Chevy Chase, MD, v. 142, n. 9, p. 3742 - 3748, 2001. Disponível em:

<<http://endo.endojournals.org/cgi/reprint/142/9/3742>> Acesso em: 14 abr. 2011.

HURLEY, D. M.; ACCILI, D.; STRATAKIS, C. A.; KARL, M.; VAMVAKOPOULOS, N.; RORER, E.; CONSTANTINE, K.; TAYLOR, S. I.; CHROUSOS, G. P. Point mutation causing a single amino acid substitution in the hormone binding domain of the glucocorticoid receptor in familial glucocorticoid resistance. **The Journal of Clinical Investigation**, Ann Arbor, Michigan, v. 87, p. 680-686, 1991. Disponível em:

<<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles.pdf>> Acesso em: 14 abr. 2011.

IKEGAMI, M.; JOBE, A. H.; NEWNHAM, J.; POLK, D. H.; WILLET, K. E.; SLY, P. Repetitive prenatal glucocorticoids improve lung function and decrease growth in preterm lambs. **American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine**, New York, NY, v. 156, p. 178–184, 1997. Disponível em:

<<http://171.66.122.149/cgi/reprint/156/1/178>> Acesso em: 14 abr. 2011.

ISHIDA, A.; MUTOH, T.; UEYAMA, T.; BANDO, H.; MASUBUCHI, S.; NAKAHARA, D.; TSUJIMOTO, G.; OKAMURA, H. Light activates the adrenal gland: Timing of

gene expression and glucocorticoid release. **Cell Metabolism**, Cambridge, MA, v. 2, p. 297–307, 2005. Disponível em:

<<http://www.sciencedirect.com/sciencesdirect/article.pdf>> Acesso em: 14 abr. 2011.

JANTZEN, H. M.; STRAHLE, U.; GLOSS, B.; STEWART, F.; SCHMID, W.; BOSHART, M.; MIKSICEK, R.; SCHLITZ, G. Cooperativity of glucocorticoid response elements located far upstream of the tyrosine aminotransferase gene. **Cell**, Cambridge, MA, v. 49, p. 29-38, 1987. Disponível em:

<<http://epub.ub.uni-muenchen.de/3202/1/004.pdf>> Acesso em: 14 abr. 2011.

JOHN, M. E.; JOHN, M. C.; ASHLEY, P.; MACDONALD, R. J.; SIMPSON, E. R.; WATERMAN, M. R. Identification and characterization of cDNA clones specific for cholesterol side-chain cleavage cytochrome P-450. **Proceedings of the National Academy of Science of the United States of America**, Washington, DC, v. 81, p. 5628–5632, 1984. Disponível em:

<<http://www.pnas.org/content/81/18/5628.full.pdf>> Acesso em: 14 abr. 2011.

JOHNSON, A.; TOWNSHEND, P.; YUDKIN, P.; BULL, D.; WILKINSON, A. R. Functional abilities at age 4 years of children born before 29 weeks of gestation. **British Medical Journal**, London, v. 306, p. 1715–1718, 1993.

KAWAMOTO, T.; MITSUUCHI, Y.; TODA, K.; YOKOYAMA, Y.; MIYAHARA, K.; MIURA, S.; OHNISHI, T.; ICHIKAWA, Y.; NAKAO, K.; IMURA, H.; ULICK, S.; SHIZUTA, Y. Role of steroid 11,6-hydroxylase and steroid 18-hydroxylase in the biosynthesis of glucocorticoids and mineralocorticoids in humans. **Proceedings of the National Academy of Science of the United States of America**, Washington, DC, v. 89, p. 1458-1462, 1992. Disponível em:

<<http://www.pnas.org/content/89/4/1458.full.pdf>> Acesso em: 14 abr. 2011.

KRAEMER, F. B. Adrenal cholesterol utilization. **Molecular and Cellular Endocrinology**, Chevy Chase, MD, v. 265–266, p. 42–45, 2007.

KIM, S. W.; RHEE, H. J.; KO, J.; KIM, Y. J.; KIM, H. G.; YANG, J. M.; CHOI, E. C.; NA, D. S. Inhibition of cytosolic phospholipase A2 by annexin I: specific interaction model and mapping of the interaction site. **The Journal of Biological Chemistry**, Rockville Pike, Bethesda, MD, v. 276, n. 19, p. 15712-15719, 2001. Disponível em:

<<http://www.jbc.org/content/276/19/15712.full.pdf>> Acesso em: 14 abr. 2011.

KING, K. L.; CIDLOWSKI, J. A. Cell cycle regulation and apoptosis. **Annual Review of Physiology**, Palo Alto, CA, v. 60, p. 601-617, 1998. Disponível em:

<<http://www2.uah.es/farmamol/Public/.pdf>> Acesso em: 14 abr. 2011.

KNIPP, G. T.; AUDUS, K. L.; SOARES, M. J. Nutrient transport across the placenta. **Advanced Drug Delivery Reviews**, Hong Kong, v. 38, p. 41–58, 1999. Disponível em:

<<http://www2.kumc.edu/soalab/journals/.pdf>> Acesso em: 14 abr. 2011.

KO, C. H.; TAKAHASHI, J. S. Molecular components of the mammalian circadian clock. **Human Molecular Genetics**, Oxford, v. 15, n. 2, p. R271–R277, 2006. Disponível em:

<<http://hmg.oxfordjournals.org.pdf>> Acesso em: 14 abr. 2011.

KORGUN, E. T.; DEMIR, R.; HAMMER, A.; DOHR, G.; DESOYE, G.; SKOFITSCH, G.; HAHN, T. Glucose transporter expression in rat embryo and uterus during decidualization, implantation, and early postimplantation. **Biology of Reproduction**, Madison, WI, v. 65, p. 1364–1370, 2001. Disponível em:

<<http://www.biolreprod.org/content/.pdf+html>> Acesso em: 14 abr. 2011.

KREBSBACHL, P. H.; KUZNETSOV, S. A.; BIANCO, P.; GEHRON-ROBEY, P. Bone marrow stromal cells: characterization and clinical application. **Critical Oral Biology and Medicine**, Chicago, Illinois, v. 10, n. 21, p. 165 - 181, 1999. Disponível em:

<<http://cro.sagepub.com/content/10/2/165.full.pdf>> Acesso em: 15 abr. 2011.

LABORDE, J. B.; HANSEN, D. K.; YOUNG, J. F.; SHEEHAM, D. M.; HOLSON, R. R. Prenatal dexamethasone exposure in rats: Effects of dose, age at exposure, and drug-induced hypophagia on malformations and fetal organ weights. **Toxicology Science**, Princeton, NJ, v. 19, n. 4, p. 545 – 554, 1992.

LAHGLEY-EVAHS, S. C.; GARDNER, D. S.; JACKSON, A. A. Maternal protein restriction influences the programming of the rat hypothalamic-pituitary-adrenal axis1. **The Journal of Nutrition**, University Park, PA, v. 126, p. 1578-1585, 1996. Disponível em:

<<http://jn.nutrition.org/content/126/6/1578.full.pdf>> Acesso em: 14 abr. 2011.

LESAGE, J.; DEL-FAVERO, F.; LEONHARDT, M.; LOUVART, H.; MACCARI, S.; VIEAU, D.; DARNAUDERY, M. Prenatal stress induces intrauterine growth restriction and programmes glucose intolerance and feeding behavior disturbances in the aged rat. **Journal of Endocrinology**, Chevy Chase, MD, v. 181, p. 291–296, 2004. Disponível em:

<<http://joe.endocrinology-journals.org/cgi/.pdf>> Acesso em: 14 abr. 2011.

LIM, L. H. K.; SOLITO, E.; RUSSO-MARIE, F.; FLOWER, R. J.; PERRETTI, M. Promoting detachment of neutrophils adherent to murine postcapillary venules to control inflammation: effect of lipocortin 1. **Proceedings of the National Academy of Science of the United States of America**, Washington, DC, v. 95, p. 14535-14539, 1998. Disponível em:

<<http://www.pnas.org/content/95/24/14535.full.pdf>> Acesso em: 14 abr. 2011.

LIU, D.; ZHANG, Z.; GLADWELL, W.; TENG, C. T. Estrogen stimulates estrogen-related receptor {alpha} gene expression through conserved hormone response elements. **Endocrinology**, Chevy Chase, MD, v. 144, n. 11, p. 4894-4904, 2003. Disponível em:

<<http://endo.endojournals.org/cgi/reprint>> Acesso em: 14 abr. 2011.

LOSEL, R. M.; FALKENSTEIN, E.; FEURING, M.; SCHULTZ, A.; TILLMANN, H. C.; ROSSOL-HASEROTH, K.; WEHLING, M. Nongenomic steroid action: controversies, questions, and answers. **Physiological Reviews**, Rockville Pike, Bethesda, MD, v. 83, p. 965-1016, 2003. Disponível em:

<<http://physrev.physiology.org/content/.full.pdf>> Acesso em: 14 abr. 2011.

MA, Y.; RYU, J. S.; DULAY, A.; SEGAL, M.; GULLER, S. Regulation of plasminogen activator inhibitor (PAI)-1 expression in a human trophoblast cell line by

glucocorticoid (GC) and transforming growth factor (TGF)-b. **Placenta**, Kidlington, v. 23, p. 727–734, 2002.

MANGELSDORF, D. J.; THUMMEL, C.; BEATO, M.; HERRLICH, P.; SCHIITQ, G.; UMESONO, K. BLUMBERG, B.; KASTNER, P.; MARK, M. CHAMBON, P. EVAN, R. M. The Nuclear Receptor Superfamily: The Second Decade. **Cell**, Cambridge, MA, v. 83, p. 835-839, 1995. Disponível em:

<<http://blumberg.bio.uci.edu/reprints.pdf>> Acesso em: 14 abr. 2011.

MACDONALD, P. C.; SIITERI, P. K. Origin of estrogen in women pregnant with an anencephalic fetus. **Journal of Clinical Investigation**, , Ann Arbor, Michigan, v. 44, n. 3, p. 465-474, 1965. Disponível em:

<<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/.pdf>> Acesso em: 14 abr. 2011.

MEIER, A. H. Daily variation in concentration of plasma corticosteroid in hypophysectomized rats. **Endocrinology**, Chevy Chase, MD, v. 98, p. 1475–1479, 1976.

MENDEL, D. B.; ORTI, E. Isoform composition and stoichiometry of the 90-kDa heat shock protein associated with glucocorticoid receptors. **The Journal Biological Chemistry**, Rockville Pike, Bethesda, MD, v. 263, n. 14, p. 6695-6702, 1988. Disponível em:

<<http://www.jbc.org/content/263/14/6695.full.pdf>> Acesso em: 14 abr. 2011.

MICHAEL, A. E.; PAPAGEORGHIU, A. T. Potential significance of physiological and pharmacological glucocorticoids in early pregnancy. **Human Reproduction Update**, Oxford, v.14, n. 5 p. 497 – 517, 2008. Disponível em:

<<http://humupd.oxfordjournals.org/content/14/5l.pdf>> Acesso em: 15 abr. 2011.

MILLER, A. H.; SPENCER, R. L.; STEIN, M.; MCEWEN, B. S. Adrenal steroid receptor binding in spleen and thymus after stress or dexamethasone. **American Journal of Physiology**, Rockville Pike, Bethesda, MD, v. 259, p. E405-E412, 1990. Disponível em:

<<http://ajpendo.physiology.org/content/259/3/E405.full.pdf>> Acesso em: 14 abr. 2011.

MIZUNO, H.; UEMURA, K.; MORIYAMA, A.; ET al. Glucocorticoid induced the expression of mRNA and the secretion of lipocortin 1 in rat astrocytoma cells. **Brain Research**, Philadelphia, PA, v. 746, p. 256-64, 1997.

MOISE, A. A.; WEARDEN, M. E.; KOZINETZ, C. A.; GEST, A. L.; WELTY, S. E.; HANSEN, T. N. Antenatal steroids are associated with less need for blood pressure support in extremely premature infants. **Pediatrics**, Burlington, Vermont, v. 95, p. 845–50, 1995.

MORNET, E.; DUPONT, J.; VITEK, A.; WHITE, P. C. Characterization of two genes encoding human steroid 11 β -hydroxylase (P-450_{11 β}). **The Journal Biological Chemistry**, Rockville Pike, Bethesda, MD, v. 264, n. 35, p. 20961–20967, 1989. Disponível em:

<<http://www.jbc.org/content/264/35/20961.full.pdf>> Acesso em: 14 abr. 2011.

MOSS, T. J. M.; SLOBODA, D. M.; GURRIN, L. C.; HARDING, R.; CHALLIS, J. R. G.; NEWNHAM, J. P. Programming effects in sheep of prenatal growth restriction and glucocorticoid exposure. **American Journal of Physiology - Regulatory, Integrative and Comparative Physiology**, Rockville Pike, Bethesda, MD, v. 281, p. R960–R970, 2001. Disponível em:

<<http://ajpregu.physiology.org/content/281/3/R960.full.pdf>> Acesso em: 14 abr. 2011.

NEVAGI, S. A.; KALIWAL, B. B. Effect of dexamethasone on implantation and pregnancy in albino rats. **Indian Journal Experimental Biology**, New Delhi, v. 39, n. 11, p. 1163 - 1165, 2001.

NITSCH, D.; STEWART, A. F.; BOSHART, M.; MESTRIL, R.; WEIH, F.; SCHUTZ, G. Chromatin structures of the rat tyrosine aminotransferase gene relate to the function of its *cis*-acting elements. **Molecular and Cellular Biology**, Chevy Chase, MD, v. 10, n. 7, p. 3334—3342, 1990. Disponível em:

<<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pdf>> Acesso em: 14 abr. 2011.

NYRIENDA, J. M.; LINDSAY, R. S.; KENYON, C. J.; BURCHELL, A.; SECKL, J. R. Glucocorticoids exposure in late gestation permanently programs rat hepatic phosphoenolpyruvate carboxykinase and glucocorticoid receptor expression and cause glucose intolerance in adult offspring. **Journal of Clinical Investigation**, Ann Arbor, Michigan, v. 101, n. 10, p. 2174 - 2181, 1998. Disponível em:

<<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/pdf>> Acesso em: 14 abr. 2011.

OAKLEY, R. H.; SAR, M.; CIDLOWSKI, J. A. The human glucocorticoid receptor β isoform: Expression, biochemical properties, and putative function. **The Journal Biological Chemistry**, Rockville Pike, Bethesda, MD, v. 271, v. 16, p. 9550-9559, 1996. Disponível em:

<<http://www.jbc.org/content/271/16/9550.full.pdf>> Acesso em: 14 abr. 2011.

OGAWA, H.; YU, R. T.; HARAGUCHI, T.; HIRAOKA, Y.; NAKATANI, Y.; MOROHASHI, K.; UMESONO, K. Nuclear structure-associated TIF2 recruits glucocorticoid receptor and its target DNA. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v. 320, p. 218-225, 2004. Disponível em:

<<http://www2.nict.go.jp/w/w131/w131103/pdf>> Acesso em: 14 abr. 2011.

OKAJIMA, S.; MATSUDA, T.; CHO, K.; MATSUMOTO, Y.; KOBAYASHI, Y.; FUJIMOTO, S. Antenatal dexamethasone administration impairs normal postnatal lung growth in rats. **Pediatric Research**, Hagerstown, MD, v. 49, n. 6, p. 777 – 781, 2001.

ORTIZ, P. A.; GARVIN, J. L. Cardiovascular and renal control in NOS-deficient mouse models. **American Journal Physiology - Regulatory, Integrative and Comparative Physiology**, Rockville Pike, Bethesda, MD, v. 284, p. R628-R638, 2003. Disponível em:

<<http://ajpregu.physiology.org/content.full.pdf>> Acesso em: 14 abr. 2011.

ORTI, E.; MENDEL, D. B. MUNCK, A. Phosphorylation of Glucocorticoid Receptor-associated and Free Forms of the ~90-kDa Heat Shock Protein before and after Receptor Activation **The Journal of Biological Chemistry**, Rockville Pike, Bethesda, MD, v. 261, n. 1, p. 231-237, 1989.

OUE, T.; SHIMA, H.; GUARINO, N.; PURI, P. - Antenatal dexamethasone administration increases fetal lung DNA synthesis and RNA and protein content in nitrofen-induced congenital diaphragmatic hernia in rats. **Pediatric Research**, Hagerstown, MD, v. 48, n. 6, p. 789 - 793, 2000.

PAPADOPOULOS, V.; AMRI, H.; BOUJRAD, N.; CASCIO, C.; CULTY, M.; GARNIER, M.; HARDWICK, M.; LI, H.; VIDIC, B.; BROWN, A. S.; REVERSA, J. L.; BERNASSAU, J. M.; DRIEU, K. Peripheral benzodiazepine receptor in cholesterol transport and steroidogenesis. **Steroids**, New York, NY, v. 62, p. 21-28, 1997.

PARIANTE, C. M.; PEARCE, B. D.; PISELL, T. L.; SANCHEZ, C. I.; PO, C.; SU, C.; MILLER, A. H. The Proinflammatory cytokine, interleukin-1{alpha}, reduces glucocorticoid receptor translocation and function. **Endocrinology**, Chevy Chase, MD, v. 140, p. 4359-4366, 1999. Disponível em:

<<http://endo.endojournals.org/cgi/reprint/140/9/4359>> Acesso em: 14 abr. 2011.

PATERSON, J. M.; MORTON, N. M.; FIEVET, C.; KENYON, C. J.; HOLMES, M. C.; STAELS, B.; SECKL, J. R.; MULLINS, J. J. Metabolic syndrome without obesity: Hepatic overexpression of 11 β -hydroxysteroid dehydrogenase type 1 in transgenic mice. **Proceedings of the National Academy of Science of the United States of America**, Washington, DC, v.101,n.18,p.7088-7093, 2004. Disponível em:

< <http://www.pnas.org/content/101/18/7088.full.pdf> > Acesso em: 14 abr. 2011.

PAYNE, A. H.; HALES, D. B. Overview of steroidogenic enzymes in the pathway from cholesterol to active. **Endocrine Reviews**, Chevy Chase, MD, v. 25, n. 6, p. 947–970, 2004. Disponível em:

<<http://edrv.endojournals.org/cgi/reprint/25/6/947>> Acesso em: 14 abr. 2011.

PRATT, W. B.; SCHERRER, L. C.; HUTCHISON, K. A.; DALMAN, F. C. A model of glucocorticoid receptor unfolding and stabilization by a heat shock protein complex. **The Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology**, Oberschleissheim, v. 41, n. 3-8, p. 223-229. 1992. Disponível em:

<<http://edrv.endojournals.org/cgi/reprint/25/6/947>> Acesso em: 14 abr. 2011.

QUENBY, S.; FARQUHARSON, R. Uterine natural killer cells, implantation failure and recurrent miscarriage. **Reproductive BioMedicine Online**, Cambridge, UK, v.13, p.24 – 28, 2006.

QUENBY, S.; KALUMBI, C.; BATES, M.; FARQUHARSON, R.; VINCE, G. Prednisolone reduces preconceptual endometrial natural killer cells in women with recurrent miscarriage. **Fertility and Sterility**, Birmingham, AL, v. 84, p. 980 – 984, 2005.

RHEN, T.; CIDLOWSKI, J. A. Antiinflammatory Action of Glucocorticoids - New Mechanisms for Old Drugs. **The New England Journal of Medicine**, Boston, MA, v. 353, n.16, p. 1711-1723, 2005. Disponível em:

<<http://www.und.edu/dept/biology/rhen/.pdf>> Acesso em: 14 abr. 2011.

RUGINSKI, S.G; LOPES da SILVA, A.; VENTURA, R.R.; ELIAS, L. L. K.; ANTUNES-RODRIGUES, J. Central actions of glucocorticoids in the control of body fluid homeostasis: Review. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, Ribeirão Preto, SP, v. 42, p. 61-67, 2009. Disponível em:

<<http://www.scielo.br/pdf/bjmr/v42n1/7441.pdf>> Acesso em: 14 abr. 2011.

RUNDLE, C.; FUNDER, J.; LAKSHMI, V.; MONDER, C. The intrarenal localization of mineralocorticoid receptors and 11 β -dehydrogenase: immunocytochemical studies. **Endocrinology**, Chevy Chase, MD, v. 125, p. 1700–1704, 1989.

SCHOOF, E.; GIRSTL, M.; FROBENIUS, W.; KIRSCHBAUM, M.; DÖRR, H. G.; RASCHER, W.; DÖTSCH, J. Decreased gene expression of 11 β -hydroxysteroid dehydrogenase type 2 and 15-hydroxyprostaglandin dehydrogenase in human placenta of patients with preeclampsia. **The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism**, Bethesda, MD, v. 86, n. 3, p. 1313–1317, 2001. Disponível em:

<<http://jcem.endojournals.org/cgi/reprint/86/3/1313>> Acesso em: 15 abr. 2011.

SECKL, J. R. 11 β -Hydroxysteroid dehydrogenase isoforms and their implications for blood pressure regulation. **European Journal of Clinical Investigation**, Utrecht, v. 23, p. 589-601, 1993.

SECKL, J. R. Prenatal glucocorticoids and long-term programming. **European Journal of Endocrinology**, Bradley Stoke, UK, v. 151, p. U49–U62, 2004. Disponível em:

<http://www.eje-online.org/cgi/reprint/151/Suppl_3/pdf> Acesso em: 14 abr. 2011.

SMOAK, K. A.; CIDLOWSKI, J. A. Mechanisms of glucocorticoid receptor signaling during inflammation. **Mechanisms of Ageing and Development**, Baltimore, MD, v. 125, n. 10-11, p. 697-706, 2004.

SOLITO, E.; DE COUPADE, C.; PARENTE, L.; FLOWER, R. J.; RUSSO-MARIE, F. IL-6 stimulates annexin 1 expression and translocation and suggests a new biological role as class II acute phase protein. **Cytokine**, Sheffield, United Kingdom, v. 10, n. 7 p. 514-21, 1998.

SOLL, R. F.; MORLEY, C.J. Prophylactic versus selective use of surfactant in preventing morbidity and mortality in preterm infants. **Cochrane Database of Systematic Reviews**, n. 2, 2000.

SON, G. H.; CHUNG, S.; CHOE, H. K.; KIM, H. D.; BAIK, S. M.; LEE, H., LEE, H. W.; CHOI, S.; SUN, W.; KIM, H.; CHO, S.; LEE, K. H.; KIM, K. Adrenal peripheral clock controls the autonomous circadian rhythm of glucocorticoid by causing rhythmic steroid production. **Proceedings of the National Academy of Science of the United States of America**, Washington, DC, v. 105, n. 52, p. 20970–20975, 2008. Disponível em:

<<http://www.pnas.org/content/105/52/20970.full.pdf>> Acesso em: 14 abr. 2011.

STANTON, B. A. Regulation by adrenal corticosteroids of sodium and potassium transport in loop of Henle and distal tubule of rat kidney. **The Journal Clinical Investigation**, Ann Arbor, Michigan, v. 78, p. 1612-1620, 1986. Disponível em:

<<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/.pdf>> Acesso em: 14 abr. 2011.

STEWART, P. M.; KROZOWSKI, Z. S.; GUPTA, A.; MILFORD, D. V.; HOWIE, A.J.; SHEPPARD, M. C.; WHORWOOD, C. B. Hypertension in the syndrome of apparent mineralocorticoid excess due to mutation of the 11 β -hydroxysteroid dehydrogenase type 2 gene. **The Lancet**, London, v. 347, n. 8994, p. 88-91, 1996.

STRATMANN, M.; SCHIBLE, U. Properties, entrainment, and physiological functions of mammalian peripheral oscillators. **Journal of Biological Rhythms**, Bethesda, MD, v. 21, n. 6, p. 494–506, 2006.

STROTT, C. A. Sulfonation and molecular action. **Endocrine Reviews**, Chevy Chase, MD, v. 23, p. 703–732, 2002. Disponível em:

<<http://edrv.endojournals.org/cgi/reprint/23/5/703>> Acesso em: 14 abr. 2011.

SUN, L.; TRAUSCH-AZAR, J. S.; MUGLIA, L. J.; SCHWARTZ, A. L. Glucocorticoids differentially regulate degradation of MyoD and Id1 by N-terminal ubiquitination to promote muscle protein catabolism. **Proceedings of the National Academy of Science of the United States of America**, Washington, DC, v. 105, n. 9, p. 3339–3344, 2008. Disponível em:

<<http://www.pnas.org/content/105/9/3339.full.pdf+html>> Acesso em: 14 abr. 2011.

STUCK, A. E.; MINDER, C. E.; FREY, F. J. Risk of Infectious Complications in Patients Taking Glucocorticosteroids. **Reviews of Infectious Diseases**, Oxford, v. 11, n. 6, p. 954-963, 1989. Disponível em:

<<http://www.stanford.edu/pdf>> Acesso em: 14 abr. 2011.

SUZUKI, T.; SASANO, H.; TAKEYAMA, J.; KANEKO, C.; FREIJE, W. A.; CARR, B. R.; RAINEY, W. E. Developmental changes in steroidogenic enzymes in human postnatal adrenal cortex: immunohistochemical studies. **Clinical Endocrinology**, Chichester, v. 53, p. 739–47, 2000.

TORPY, D. J.; BACHMANN, A. W.; GRICE, J. E.; FITZGERALD, S. P.; PHILLIPS, P. J.; WHITWORTH, J. A.; JACKSON, R. V. Familial corticosteroid-binding globulin deficiency due to a novel null mutation: association with fatigue and relative hypotension. **The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism**, Chevy Chase, MD, v. 86, n. 8, p. 3692-3700, 2001. Disponível em:

<<http://jcem.endojournals.org/cgi/reprint/86/8/3692>> Acesso em: 14 abr. 2011.

TURNER, J. D.; MULLER, C. P. Structure of the glucocorticoid receptor (NR3C1) gene 5' untranslated region: identification, and tissue distribution of multiple new human exon 1. **Journal of Molecular Endocrinology**, Chevy Chase, MD, v. 35, p. 283-292, 2005. Disponível em:

<<http://jme.endocrinology-journals.org/cgi/reprint>> Acesso em: 14 abr. 2011.

ULRICH-LAI, Y. M.; ARNHOLD, M. M.; ENGELAND, W. C. Adrenal splanchnic innervations contributes to the diurnal rhythm of plasma corticosterone in rats by modulating adrenal sensitivity to ACTH. **American Journal of Physiology - Regulatory, Integrative and Comparative Physiology**, , Rockville Pike, Bethesda, MD, v. 290, p. R1128–R1135, 2006. Disponível em:

<<http://ajpregu.physiology.org/content/290/4/pdf>> Acesso em: 14 abr. 2011.

WADDELL, B. J.; BENEDIKTSSON, R.; BROWN, R. W.; SECKL, J. R. Tissue-specific messenger ribonucleic acid expression of 11b-hydroxysteroid dehydrogenase types 1 and 2 and the glucocorticoid receptor within rat placenta suggests exquisite local control of glucocorticoid action. **Endocrinology**, Chevy Chase, MD, v. 139, p. 1517 – 1523, 1998. Disponível em:

<<http://endo.endojournals.org/cgi/reprint/139/4/1517>> Acesso em: 15 abr. 2011.

WEBSTER, J. I.; TONELLI, L.; STERNBERG, E. M. Neuroendocrine regulation of immunity. **Annual Review of Immunology**, Palo Alto, CA, v. 20, p. 125-63, 2002. Disponível em:

<<http://www.immunology.unibe.ch/wiki/Files/.pdf>> Acesso em: 14 abr. 2011.

WHITE, P. C.; NEW, M. I.; DUPONT, B. Cloning and expression of cDNA encoding a bovine adrenal cytochrome P-450 specific for steroid 21-hydroxylation. **Proceedings of the National Academy of Science of the United States of America**, Washington, DC, v. 81, p. 1986–1990, 1984. Disponível em:

<<http://www.pnas.org/content/81/7/1986.full.pdf>> Acesso em: 14 abr. 2011.

WRIGHT, A. P.; ZILLIACUS, J.; MCEWAN, I. J.; DAHLMAN-WRIGHT, K.; ALMLOF, T.; CARLSTEDT-DUKE, J.; GUSTAFSSON, J. A. Structure and function of the glucocorticoid receptor. **The Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology**, Oberschleissheim, v. 47, n. 1-6, p. 11-19, 1993.

XING, A. Y.; CHALLIER, J. C.; LEPERCQ, J.; CAUZAC, M.; CHARRON, M. J.; GIRARD, J.; HAUGUEL-DE MOUZON, S. Unexpected expression of glucose transporter 4 in villous stromal cells of human placenta. **The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism**, Chevy Chase, MD, v. 83, n.11, p. 4097–4101, 1998. Disponível em:

<<http://jcem.endojournals.org/cgi/reprint/83/11/4097>> Acesso em: 14 abr. 2011.

YAMAGUCHI, H.; NAKAZATO, M.; MIYAZATO, M.; KANGAWA, K.; MATSUKURA, S. A 5'-splice site mutation in the cytochrome P450 steroid 17 α -hydroxylase gene in 17 α -hydroxylase deficiency. **The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism**, Chevy Chase, MD, v. 82, p. 1934-1938, 1997. Disponível em:

<<http://jcem.endojournals.org/cgi/reprint/82/6/1934>> Acesso em: 14 abr. 2011.

YANG, Y. H.; MORAND, E. F.; GETTING, S. J.; Paul-CLARK, M.; LIU, D. L.; YONA, S.; HANNON, R.; BUCKINGHAM, J. C.; PERRETTI, M.; FLOWER, R. J. Modulation of inflammation and response to dexamethasone by annexin 1 in antigen-induced arthritis. **Arthritis & Rheumatism**, New York, NY, v. 50, n. 3, p. 976–984, 2004. Disponível em:

<<http://www.whri.qmul.ac.uk/publications/flower3.pdf>> Acesso em: 14 abr. 2011.

YU, D. T. Y.; CLEMENTS, P. J.; PAULUS, H. E.; PETER, J. B.; LEVY, J.; BARNETT, E. V. Human Lymphocyte subpopulations: effect of corticosteroids. **The Journal of Clinical Investigation**, Ann Arbor, Michigan, v. 53, p. 565–571, 1974. Disponível em:

<<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/.pdf>> Acesso em: 14 abr. 2011.

YUDT, M. R.; CIDLOWSKI, J. A. Molecular identification and characterization of A and B forms of the glucocorticoid receptor. **Molecular Endocrinology**, Chevy Chase, MD, v. 15, n. 7, p. 1093-1103, 2001. Disponível em:

<<http://mend.endojournals.org/cgi/reprint/15/7/1093>> Acesso em: 14 abr. 2011.

ZHANG, Z.; BURCH, P. E.; COONEY, A. J.; LANZ, R. B.; PEREIRA, F. A.; WU, J.; GIBBS, R. A.; WEINSTOCK, G.; WHEELER, D. A. Genomic analysis of the nuclear receptor family: new insights into structure, regulation, and evolution from the rat

genome. **Genome Research**, Cold Spring Harbor, NY, v. 14, p. 580-590, 2004. Disponível em:

<<http://genome.cshlp.org/content/14/4/580.full.pdf>> Acesso em: 14 abr. 2011.

ZHOU, J.; BONDY, C. A. Placental glucose transporter gene expression and metabolism in the rat. **The Journal of Clinical Investigation**, , Ann Arbor, Michigan, v. 91,n. 3, p. 845–852, 1993. Disponível em:

<<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/.pdf>> Acesso em: 14 abr. 201

CAPÍTULO II

Efeito da administração pré-natal da dexametasona em ratas no início e meio da gestação sobre o nível glicídico, perfil hematológico e funcionalidade hepática na prole.

P. E. A. Vilaça-Junior^a ; A. C. C. Araújo^a; A. F. Soares^b; V. Wanderley-Teixeira^b; A. A. C. Teixeira^{b*}

Aluno do Programa de Pós-graduação em Biociência Animal, nível de Mestrado, Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal da Universidade Federal Rural de Pernambuco, UFRPE, Brasil.

^b Professores do Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal da Universidade Federal Rural de Pernambuco - UFRPE- Brasil.

*Contato: Universidade Federal Rural de Pernambuco, Rua Dom Manoel de Medeiros, s/n, Recife, PE, CEP 52171-900. Tel.: (81) 3320.6389. E-mail: alvaro@dmfa.ufrpe.br

Efeitos da administração pré-natal da dexametasona em ratas no início e meio da gestação sobre o nível glicídico, perfil hematológico e funcionalidade hepática na prole.

Resumo

A administração de dexametasona é comumente associada com alterações na produção e distribuição de células sanguíneas, hiperglicemia e alterações na metabolização de carboidratos no fígado. A presente pesquisa teve o objetivo de avaliar o efeito da administração no início e meio da gestação de ratas sobre os parâmetros relacionados na prole. Os animais foram divididos nos seguintes tratamentos: dexametasona do 1º ao 7º dia e placebo do 8º dia ao 14º dia; placebo do 1º ao 7º dia e dexametasona do 8º ao 14º dia; dexametasona do 1º ao 14º dia com redução de 15% a cada 2 dias e tratamento com placebo do 1º ao 14º dia de gestação. A dexametasona foi administrada por via intraperitoneal na dose de 0.8mg/kg/animal. Foram coletadas amostras de sangue no 7º, 14º e 21º dia de gestação e de sangue e tecido hepático na prole no 5º, 10º e 15º dia pós-natal. Para a verificação das reservas de glicogênio foi realizada análise histoquímica. Os resultados estabelecem relação tempo-dependente entre a administração de dexametasona para alterações como lifopenia, eosinopenia, neutrofilia e alteração dos níveis plasmáticos de carboidratos totais encontradas nas matrizes, porém na prole, ocorrem apenas no tratamento mais duradouro.

34

35 PALAVRAS- CHAVE: dexametasona, parâmetros hematológicos, carboidratos, fígado, ratos.

36

37 **Effects of the prenatal dexamethasone treatment in early and mid- pregnancy of rats**
38 **over glycidic levels, hematologic profiles and liver function in the offspring.**

39

40 **Abstract**

41

42 Glucocorticoids treatment is commonly associated with changes in blood cell production and
43 distribution, hyperglycemia and changes in liver carbohydrate metabolization. The present
44 research had subjected to evaluate the effect of dexamethasone administration in rats in early
45 and mid- pregnancy over the related parameters in the offspring. Animals were divided in the
46 following treatments: dexamethasone treatment 1 to 7 day and placebo treatment 8 to 14 day;
47 placebo treatment 1 to 7 day and dexamethasone treatment 8 to 14 day; dexamethasone
48 treatment 1 to 14 day with 2% reduction in each 2 days and placebo treatment 1 to 14 day of
49 pregnancy. Dexamethasone was administrated for intraperitoneal via in dosage of
50 0.8mg/kg/animal. Samples of blood were collected in 7, 14 and 21 day of pregnancy and
51 blood and tissue were collected in 5, 10 and 15 day afterbirth in the offspring. Carbohydrate
52 histochemistry was used for glycogen assessment. The results of the present research to point
53 to a time-dependent effect of the dexamethasone administration for alterations as
54 limphopenie, eosinopenie neutrophily and plasma full carbohydrate level changes found in
55 matrices and found only in the longest treatment for the offspring.

56

57 KEY-WORDS: dexamethasone, hematologic parameters, carbohydrates, liver, rats.

58

59

60 **1. Introdução**

61

62 Os glicocorticóides são hormônios esteróides indispensáveis para o desenvolvimento
63 do tecido pulmonar do feto e clinicamente utilizados em gestações com riscos de
64 prematuridade para a aceleração o desenvolvimento pulmonar (Ward, 1994). A dexametasona
65 é um glicocorticóide sintético largamente utilizado por apresentar efeitos análogos ao da
66 cortisona (Sloboda et al., 2005). O transporte transplacentário de glicocorticóides é regulado

67 pelas enzimas 11 β -hidroxisteróide desidrogenase (11 β -HSD) tipo 1 e 2 que atuam na
68 reativação e inativação de glicocorticóides, respectivamente, regulando a exposição do feto
69 aos mesmos (Diederich et al., 2002). Devido a progressiva redução da bioatividade da enzima
70 11 β -HSD2 ao longo da gestação (Waddell et al., 1998), o terço final é o período de gestação
71 em que ocorre uma maior permissibilidade do tráfego de glicocorticóides, estudos que
72 exploram os efeitos da exposição à glicocorticóide durante esse período mostram alterações
73 fisiológicas como a elevação do nível glicêmico pós-natal, a redução da síntese de receptores
74 para insulina e a mobilização de glicogênio para a corrente sanguínea (Nyrienda et al., 1998).

75 Além das alterações relacionadas com a bioquímica do sangue, a dexametasona exerce
76 influência sobre a distribuição de células sanguíneas através da inibição da expressão de
77 citocinas (Haynesworth et al., 1996), supressão de fatores de proliferação de linfócitos
78 (Almawi et al., 1991) e indução da apoptose (Mor e Cohen 1996). Dentre as alterações
79 verificadas na distribuição de leucócitos entre o sangue e os compartimentos do sistema
80 imune estão a redução drástica do número linfócitos T e a elevação acentuada de neutrófilos,
81 além de uma redução acentuada dos linfócitos B, células NK e monócitos (Dhabhar, et al.,
82 1995; Dhabhar, et al., 1996). Estudos com animais mostram que glicocorticóides são
83 estimuladores da eritropoiese (Malgor et al., 1974). Em culturas de eritrócitos, a
84 dexametasona promove um aumento do potencial de formação de colônias supridas com
85 eritropoetina, sugerindo o sinergismo com esse regulador humoral (Golde et al., 1976). O
86 fígado fetal é uma fonte de eritropoetina, sendo também o sítio de localização de células ovas
87 precursoras de eritrócitos (Cantor et al., 1972). Através da inibição de TNF e IL -6 a
88 dexametasona exerce influência sobre a proliferação das populações de células ovas no
89 fígado (Nagy et al., 1998).

90 Em virtude da incipiência de estudos realizados nos dois primeiros terços da gestação
91 e a inviabilidade da extrapolação dos dados obtidos *in vitro* para modelos *in vivo*, o presente
92 estudo teve o objetivo de verificar se os efeitos da administração da dexametasona nos dois
93 terços iniciais da gestação interferem no desenvolvimento hepático, metabolismo de
94 carboidratos e parâmetros sanguíneos.

95

96 **2. Materiais e Métodos**

97

98 *2.1. Animais e desenho experimental*

99

100 Foram utilizadas 12 ratas albinas (*Rattus norvegicus albinus*) da linhagem Wistar,
101 procedentes do Biotério do Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal, da
102 Universidade Federal Rural de Pernambuco, segundo aprovação pelo Comissão de Ética no
103 Uso de Animais dessa instituição (protocolo nº. 23082.010750/2010). As fêmeas, com 90 dias
104 de idade, virgens e pesando entre 200 e 250g, foram acondicionadas em caixas e mantidas
105 com alimentação e água “*ad libitum*”, em ambiente com a temperatura média de 22°C e
106 iluminação artificial controlada com fotoperíodo de 12h claro/12h escuro. As fêmeas foram
107 divididas ao acaso, em quatro grupos, cada um deles constituído por três animais: GI, ratas
108 tratadas do 1º ao 7º dia de gestação com dexametasona e do 8º ao 14º dia com placebo; GII,
109 ratas tratadas do 1º ao 7º dia de gestação com placebo e do 8º ao 14º dia com dexametasona;
110 GIII, ratas prenhas tratadas com dexametasona do 1º ao 14º dia de gestação com redução
111 progressiva da dose de dexametasona em 15% a cada dois dias e o GIV, ratas prenhas tratadas
112 com placebo do 1º ao 14º dia de gestação. Como placebo e para a diluição progressiva da
113 dexametasona foi utilizada solução salina em pH fisiológico. Os animais foram mantidos para
114 acasalamento das 18:00h às 06:00h do dia seguinte, foram realizados então exames
115 colpocitológicos para a confirmação do acasalamento, sendo este considerado o 1º dia da
116 gestação. Para o tratamento foi utilizada a formulação comercial Decadron® (fosfato
117 dissódico de dexametasona) que foi administrada por via intraperitoneal, na dose de
118 0.8mg/kg/animal (Vilaça-Júnior et al., 2008).

119

120 2.2.Procedimentos para coleta de sangue, armazenamento e análise de parâmetros 121 hematológicos

122

123 O sangue foi coletado durante a gestação por meio de contenção mecânica (Fluttert et
124 al., 2000). A coleta foi realizada através da punção da veia caudal lateral com uso de cateter
125 (24G). O sangue foi armazenado em microtubo com EDTA à temperatura média de 4°C. Para
126 subsequente obtenção do plasma as amostras foram submetidas à centrifugação a uma
127 temperatura de 4°C com a velocidade de 3000rpm por 10 minutos. O plasma obtido foi
128 acondicionado à temperatura de -20°C. O sangue dos filhotes foi coletado por punção cardíaca
129 no 5º, 10º e 15º dia após o nascimento dos distintos grupos. Para o procedimento os filhotes
130 foram anestesiados com pentobarbital na dosagem de 40mg/kg por via intraperitoneal
131 (Penicaud et al., 1987)e a punção foi realizada com seringa embebida com EDTA. Para as
132 análises de carboidratos totais foram utilizadas amostras dos três momentos e para as análises

133 hematológicas foram utilizadas apenas as amostras do 10º e 15º dia após o nascimento. Para
134 cada intervalo de coleta foram escolhidos três filhotes aleatoriamente por grupo experimental.
135 A separação e acondicionamento do plasma seguiram o procedimento já descrito
136 anteriormente para o sangue das ratas progenitoras. Após a coleta do material biológico foi
137 realizada a eutanásia utilizando-se câmara de CO₂. A contagem de eritrócitos e leucócitos foi
138 realizada com alíquotas de sangue total armazenadas em tubo heparinizado para as amostras
139 obtidas das fêmeas e em tubos com EDTA para as amostras obtidas dos filhotes.

140 Para obtenção dos valores de hematócrito, foi utilizado o método de
141 microhematócrito. Alíquotas de sangue total foram tomadas diretamente com capilares
142 heparinizados e centrifugadas por 5 minutos a velocidade de 7000 rpm.

143 Para a contagem total de eritrócitos as alíquotas foram diluídas em solução de Hayem
144 na proporção de 1: 400. Os resultados foram submetidos à fórmula: $Hm \times 10 \times$
145 $400 \times 5 = Hm/\mu L$, onde: Hm é o número total de hemácias contadas, 10 é o fator de
146 conservação para o volume de 1mm³ (profundidade da lâmina da câmara de Neubauer), 400 é
147 o fator de conservação da diluição utilizada e 5 é o fator de conservação para área de 1 mm²
148 (5 de 25 quadrados médios), sendo o resultado expressado como o número de hemácias/ μL .

149 Para a contagem total de leucócitos as alíquotas foram diluídas em solução de Turk na
150 proporção de 1: 20. Os resultados foram submetidos à fórmula: $Lc \times 20 \times 10/4 = Lc/\mu L$,
151 onde: Lc é o número total de leucócitos contados, 10 é o fator de conservação para o volume
152 de 1mm³ (profundidade da lâmina da câmara de Neubauer), 20 é o fator de conservação da
153 diluição utilizada e 4 é o fator de conservação para a área de 1 mm², (número de quadrados),
154 sendo o resultado expressado como o número de leucócitos/ μL .

155 Para contagem diferencial de leucócitos foram confeccionados esfregaços de sangue
156 total corados pelo método de panótico rápido.

157

158 *2.3.Procedimentos para preparação de amostras, preparação de padrões e análise de* 159 *carboidratos totais plasmáticos*

160

161 Para análise de carboidratos totais as amostras de plasma foram submetidas à
162 desproteinização, realizada com ácido tricloroacético a 5% (TCA 5%) numa proporção de
163 1:10, com posterior acréscimo de 10 partes de água destilada para uma diluição 1:20. A
164 solução foi então centrifugada a velocidade de 3000rpm por 3 min e o sobrenadante foi
165 armazenado à temperatura de 4°C. Para a preparação da curva de calibração foi utilizada uma

166 solução estoque de glicose em água destilada na concentração 1g/L. Foram realizadas
167 sucessivas diluições dessa solução estoque e as concentrações utilizadas foram: 1, 0.5, 0.25,
168 0.125, 0.0625, 0.03125 e 0.01562g/L. Como branco utilizou-se água destilada. Para a
169 dosagem de carboidratos totais do sangue foi utilizado o protocolo adaptado de Laurentini e
170 Edwards (2003). As amostras e padrões foram submetidos à leitura do comprimento de onda
171 de 620nm em leitora de microplaca (Anthos 2010 Microplate Absorbance Reader, Biochrom
172 Ltd, Cambridge, UK).

173

174 *2.4.Procedimentos para obtenção, processamento e análise de amostras de tecido* 175 *hepático*

176

177 Na ocasião da punção cardíaca foi realiza a abertura da cavidade abdominal para
178 coleta de amostras de fígado para análise histológica. As amostras de tecido hepático
179 coletadas foram fixadas em líquido de Bouin por 48 horas. Após esse período, fragmentos
180 foram desidratados em concentrações crescentes de álcool (álcool etílico), diafanizados em
181 xilol e impregnados para inclusão em parafina. Os cortes foram submetidos à coloração por
182 Hematoxilina e Eosina (HE) para análise morfológica e pelo Ácido Periódico de Schiff (PAS)
183 para análise histoquímica de glicogênio. Imagens dos cortes histológicos foram capturadas
184 por meio de câmera de vídeo Sony®, acoplada ao microscópio Olympus® Bx50 para análise.

185

186

187 *2.5.Análise estatística*

188

189 As amostras para análises hematológicas e dosagem de carboidratos totais foram
190 tomadas em triplicata. Os dados obtidos foram submetidos ao teste não paramétrico de
191 Kruskal-Wallis, onde as médias foram comparadas pelo teste de Wilcoxon-Mann-Whitney
192 ($p < 0,05$).

193

194 **3. Resultados**

195

196 *3.1.Parâmetros hematológicos das matrizes e prole*

197 Nas tabelas 1, 2 e 3 estão sumarizadas as médias e desvio-padrão do hematócrito,
198 número total de hemácias, número total de leucócitos e contagem diferencial dos leucócitos
199 nos períodos de 7, 14 e 21 dias de gestação, respectivamente. De acordo com as análises
200 estatísticas verificou-se que no 7º dia de gestação houve redução significativa do volume de
201 hematócrito e do número total de leucócitos nas fêmeas dos grupos I e III. Na contagem
202 diferencial evidenciou-se uma neutrofilia associada com linfopenia e eosinopenia (Tabela 1).
203 Aos 14 dias de gestação houve uma redução significativa do volume de hematócrito apenas
204 no grupo III. Com relação ao número de leucócitos e contagem diferencial os resultados
205 foram semelhantes aos observados aos das fêmeas com 7 dias de gestação para os grupos II e
206 III. No entanto, verificou-se nesse período redução significativa no número total de hemácias
207 nos grupos I, II e III em relação ao grupo IV (Tabela 2). No terço final da gestação as fêmeas
208 apresentaram redução dos valores de hematócrito, neutrofilia, linfopenia e eosinopenia apenas
209 no grupo III. O número total de hemácias e leucócitos permaneceu reduzido apenas nos
210 grupos II e III (Tabela 3). Os dados dos parâmetros sanguíneos dos filhotes com 10 e 15 dias
211 de nascidos constam nas tabelas 4 e 5, respectivamente. Com 10 dias de idade os filhotes não
212 apresentaram alteração nos valores de hematócrito, porém um aumento significativo foi
213 observado no número total de hemácias no grupo III. Nos parâmetros contagem total e
214 diferencial dos leucócitos esses filhotes mostraram o mesmo perfil evidenciados nas suas
215 matrizes durante toda a prenhez (Tabela 4). Não houve variação significativa nos parâmetros
216 analisados para os filhotes com 15 dias de nascido (Tabela 5).

217

218 *3.2. Níveis plasmáticos de carboidratos totais*

219

220 Os níveis séricos de glicose nas matrizes aos 7 dias de prenhez variaram bastante nos
221 grupos experimentais independente do tratamento, porém houve aumento significativo no
222 grupo III em relação aos grupos I e IV. Com 14 dias de gestação houve redução significativa
223 dos níveis de glicose nas matrizes do grupo III em relação as do grupo IV. Já aos 21 dias de
224 gestação os níveis de glicose foram similares entre os grupos (Figura 1). Nos filhotes com
225 cinco dias de vida os níveis séricos de glicose foram menores nos grupos tratados com
226 dexametasona em relação ao grupo tratado com placebo, o qual diferiu estatisticamente dos
227 grupos I e III. No décimo dia de vida só foram observadas diferenças significativas entre os

228 grupos III e IV. Não foram verificadas variações significativas nos níveis séricos de glicose
229 para os filhotes com 15 dias de vida (Figura 2).

230

231 *3.3. Verificação de reservas de carboidratos em tecido hepático*

232

233 A análise histoquímica do fígado pelo ácido periódico de Schiff apresentou reação de
234 intensidade variada, sendo mais intensa nos filhotes dos grupos I e IV e menos intensa nos
235 grupos II e III (Figura 3). O conteúdo de glicogênio é nitidamente evidenciado pela presença
236 de grânulos de cor magenta depositados no citoplasma dos hepatócitos. As áreas em que se
237 evidencia a maior depleção das reservas são as áreas intralobulares. Dentre os tratamentos o
238 grupo I apresenta a maior intensidade de coloração, enquanto o grupo II apresenta uma
239 coloração de intensidade inferior e o grupo III apresenta a coloração de intensidade mais
240 reduzida em comparação ao grupo IV.

241

242 **4. Discussão**

243

244 Os glicocorticóides exercem efeitos sobre o mecanismo de homeostase dos flúidos
245 corporais por meio da redução da síntese de proteínas reguladoras do processo como, por
246 exemplo, a oxitocina (Ruginsk et al., 2007), e também por impedir as ligações entre
247 mineralocorticóides e seus receptores, interferindo nos mecanismos de reabsorção de íons (
248 Seckl 2004). Dessa forma, provocam alterações como redução da volemia e aumento da
249 osmolalidade do sangue. Os valores de hematócrito estão relacionados a capacidade de
250 transporte de oxigênio, a viscosidade do sangue e a eficiência de fluxo microcirculatório nos
251 tecidos (Isbister, 1997). A redução significativa desse parâmetro pode acarretar possível
252 prejuízo dessas funções desencadeando alterações no transporte de oxigênio transplacentário e
253 no suprimento de nutrientes ao feto, o que comprometeriam o desenvolvimento fetal (Jansson
254 e Powell, 2006). Alterações nesse parâmetro foram verificadas no 7^o dia de gestação nos
255 grupos I e III, e no 14^o dia de gestação no grupo III em relação ao grupo IV pode representar
256 possível prejuízo para o feto. No entanto, nenhuma alteração significativa para esse parâmetro
257 foi encontrada nos filhotes no 10^o e 15^o dia pós-natal. Esse resultado sugere que administração
258 de glicocorticóides não significou a programação de um estado alterado desses parâmetros
259 para os dias mais iniciais da vida pós-natal.

260 A administração de dexametasona induz uma redução característica da síntese de
261 eritropoetina (Giglio et al., 1981), além de reduzir também a eritropoese (Giglio et al., 1980).
262 Em nosso experimento houve redução do número de hemácias nas ratas progenitoras, em
263 relação ao grupo IV, nos grupos I, II e III, no 14^o dia de gestação, e nos grupos II e III no 21^o
264 dia de gestação, indicando ação similar da dexametasona sobre a eritropoese independente do
265 período de aplicação. Por outro lado, o restabelecimento no número de hemácias do grupo I
266 para valores similares aos encontrados no grupo IV, aos 21 dias de gestação, mostra que a
267 redução não perdura até o fim da gestação quando administrada apenas no terço inicial da
268 gestação. Com relação à prole, sabe-se que a eritropoese fetal nos dois terços iniciais da
269 gestação é realizada pelo tecido hepático (Isern, et al., 2008) e a regulação dessa função é
270 realizada pelo nível de glicocorticóides circulantes (Nagel e Jacquot, 1969; Bauer, et al.,
271 1999). A elevação significativa de eritrócitos verificada nos filhotes do grupo III no 10^o dia
272 pós-natal sugere o estabelecimento de uma relação tempo-dependente devido à administração
273 prolongada da dexametasona, mesmo tendo sido realizado o desmame.

274 Glicocorticóides são conhecidos por seu efeito imunossupressor (Faas et al., 2000).
275 Esta característica é responsável pela redução do número de leucócitos observado na ratas
276 progenitoras no 7^o dia de gestação nos grupos I e III, e no 14^o e 21^o dia de gestação nos
277 grupos II e III. Esses dados revelam que tanto a administração contínua, como a partir da
278 segunda semana de gestação manteve um efeito imunossupressor até o final da gestação.
279 Durante a gestação ocorre uma alteração na composição prioritária de células do sistema
280 imunológico no sangue periférico, mudando-a de resposta de celular para humoral (Veenstra
281 Van Nieuwenhoven et al., 2002). A liberação de glicocorticóides endógenos na corrente
282 sanguínea está associada à redução do número de linfócitos e eosinófilos, além do aumento no
283 número de neutrófilos (Dhabhar et al., 1995), sendo a intensidade e duração da estimulação do
284 agente estressor determinantes para a configuração das alterações nessas populações celulares
285 (Dhabhar e Mcewen, 1997). Dessa forma, justificam-se as alterações encontradas, como a
286 neutrofilia, linfopenia e a eosinopenia em decorrência da ação dos glicocorticóides, sendo os
287 efeitos encontrados relacionados de forma tempo-dependente, mostrando maior significância
288 para o grupo III em que a exposição à dexametasona foi maior que nos outros grupos.

289 Os níveis séricos de carboidratos nas ratas progenitoras no 7^o dia de gestação
290 mostraram uma variação independente do tratamento ou não com a dexametasona. Essa
291 variação pode está relacionada ao fato de que durante a gestação ocorrem adaptações no
292 metabolismo de carboidratos, culminando com um progressivo estado de resistência à

293 insulina, que impedem a metabolização da glicose materna (Holness e Sugden, 1997). O
294 desenvolvimento da resistência a insulina materna promove o aumento de glicose no início da
295 gestação (Ericsson et al., 2007), por outro lado, a administração de dexametasona durante o
296 terço final da gestação (14^o ao 19^o dia) estimula a secreção de insulina (hiperinsulemia)
297 suprimindo a produção endógena de glicose levando a redução dos seus níveis séricos, sendo
298 esse mecanismo ainda desconhecido (Holness e Sugden, 2001). Esse efeito foi observado nas
299 fêmeas tratadas com dexametasona até o 14^o dia de gestação, mostrando uma relação tempo-
300 dependente para o estabelecimento de um quadro de hiperglicemia associada à corticoterapia.
301 Como parte do mecanismo normal, o restabelecimento e manutenção das concentrações
302 normais de glicose no sangue ocorre no final da gestação, o que provavelmente ocorreu no
303 21^o dia de gestação (Kahn et al., 2001).

304 A análise dos níveis carboidratos totais nos filhotes mostrou que aos cinco dias de vida
305 houve uma redução nos grupos tratados com dexametasona em relação aqueles nascidos das
306 fêmeas sem tratamento. Porém, aos dez dias de idade os filhotes nascidos das fêmeas tratadas
307 por 14 dias apresentaram um aumento significativo dos níveis séricos de glicose em relação
308 aos nascidos do grupo controle. Nos primeiros dias de vida a glicemia de ratos sofre grandes
309 variações, que são, em parte, atribuídas a alterações abruptas no nível de enzimas glicose-6-
310 fosfatase hepática e PEPCK, essas enzimas são responsáveis pela disponibilização da glicose
311 contida no tecido hepático para o sangue. Um fator que é apontado como intensificador desse
312 efeito é a resistência a insulina (Steiner et al., 1961). Estudos mostram o potencial para
313 induzir o desenvolvimento da resistência a insulina em ratos jovens da dexametasona
314 (Nyirienda et al., 1998).

315 Estudos com ovelhas mostram que o tratamento com dexametasona causa alterações
316 na regulação do uso das reservas de glicogênio causando a elevação da atividade das enzimas
317 glicose-6-fosfatases, relacionadas a utilização de glicogênio, verificada na prole, mas não nas
318 genitoras (Franko et al., 2007). A administração de dexametasona também promove a
319 redução da expressão de receptores para insulina no fígado, levando a uma incapacidade desse
320 tecido-alvo de importar glicose, principalmente nas áreas intralobulares (Severino et al.,
321 2002). Dessa forma, a análise histoquímica do fígado da prole no 10^o dia após o nascimento
322 aponta para a uma alteração do estado de nível das reservas de glicogênio hepático nos grupos
323 I, II e III em relação ao grupo IV, reforçando a interferência da dexametasona quando
324 aplicada no terço médio do período gestacional, uma vez que o grupo I, aparentemente, sofreu
325 menor depleção de suas reservas, suscitando uma provável programação para esse estado. Nas

326 amostras de fígado dos diferentes grupos no 5º e para as amostras do 15º dia após o
327 nascimento não foram encontradas alterações características, levando a crer que o
328 estimulação, assim como o verificado para os parâmetros sanguíneos, foram suficientes
329 apenas para causar essas alterações transitórias.

330

331 **5. Conclusão**

332

333 Os resultados da presente pesquisa apontam para um efeito tempo-dependente da
334 administração pré-natal da dexametasona durante o início e meio da gestação, levando a
335 alterações temporais distintas no hemograma das fêmeas e alterações semelhantes para a prole
336 do grupo submetido ao tratamento mais longo, somado a alterações dos níveis plasmáticos de
337 carboidratos totais. Porém, a estimulação foi suficiente apenas para provocar alterações
338 transitórias o que reforça a idéia de que tratamentos realizados no início da gestação
339 apresentariam efeitos menos danosos que aqueles realizados no meio e fim da gestação.
340 Estudos complementares são necessários para inferir a influência desses efeitos na vida adulta
341 da prole.

342

343 **6. Agradecimentos**

344 À Fundação de Amparo à Ciência e Tecnologia do estado de Pernambuco pelo apoio
345 financeiro.

346

347 **7. Referências**

348 ALMAWI, W. Y.; LIPMAN, M. L.; STEVENS, A. C.; ZANKER, B.; HADRO, E. T.;
349 STROM, T. B. Abrogation of glucocorticoid-mediated inhibition of T cell proliferation by the
350 synergistic action of IL-1, IL-6, and IFN-gamma. *J. Immunol.*, v. 146, n. 10, p. 3523-3527,
351 1991.

352 ALMAWI, W. Y.; MELEMEDJIAN, O. K. Molecular mechanisms of glucocorticoid
353 antiproliferative effects: antagonism of transcription factor activity by glucocorticoid receptor.
354 *J. Leukoc. Biol.*, v. 71, p. 9-15, 2002.

355 BAUER, A.; TRONCHE, F.; WESSELY, O.; KELLENDONK, C.; REICHARDT, H. M.;
356 STEINLEIN, P.; SCHUTZ, G.; BEUG, H. The glucocorticoid receptor is required for stress
357 erythropoiesis. *Genes Dev.*, v. 13, p. 2996-3002, 1999.

358 CANTOR, L. N.; MORRIS, A. J.; MARKS, P. A.; RIFKIND, R. A. Purification of
359 erythropoietin-responsive cells by immune hemolysis. *PNAS*, v. 69, p. 1337-1341, 1972.

- 360 CHASIS, J. A.; MOHANDAS, N. Erythroblastic islands: niches for erythropoiesis *Blood*, v.
361 112, n. 3, p. 470-478, 2008.
- 362 DHABHAR, F. S.; MCEWEN, B. S. Acute stress enhances while chronic stress suppresses
363 cell-mediated immunity *in vivo*: a potential role for leukocyte trafficking. *Brain Behav.*
364 *Immun.*, v. 11, p. 286–306, 1997.
- 365 DHABHAR, F. S.; MILLER, A. H.; MCEWEN, B. S.; SPENCER, R. L. Effects of stress on
366 immune cell distribution. Dynamics and hormonal mechanisms. *J. Immunol.*, v. 154, n. 10, p.
367 5511-5527, 1995.
- 368 DHABHAR, F. S.; MILLER, A. H.; MCEWEN, B. S.; SPENCER, R. L. Stress-induced
369 changes in blood leukocyte distribution. Role of adrenal steroid hormones. *J. Immunol.*, v.
370 157, n. 4, p. 1638-1644, 1996.
- 371 DIEDERICH; S.; EIGENDORFF, E.; BURKHARDT, P.; QUINKLER, M; BUMKE-VOGT,
372 C.; ROCHEL, M.; SEIDELMANN, D.; ESTERLING, P.; OELKERS, W.; BÄHR, V. 11 β -
373 hydroxysteroid dehydrogenase types 1 and 2: A important pharmacokinetic determinant for
374 the activity of synthetic mineralo- and glucocorticoids. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, v. 87, n.
375 12, p. 5695-5701, 2002.
- 376 ERICSSON, A.; SÄLJÖ, K.; SJÖSTRAND, E.; JANSSON, N.; PRASAD, P. D.; POWELL,
377 T. L.; JANSSON, T. Brief hyperglycaemia in the early pregnant rat increases fetal weight at
378 term by stimulating placental growth and affecting placental nutrient transport. *J. Physiol.*, v.
379 581 n. 3, p. 1323–1332, 2007.
- 380 FAAS, M.M.; SLOT, K.; KOITER, T.R.; SCHUILING, G.A. Corticosterone treatment of
381 pregnant low dose endotoxin-treated rats: inhibition of the inflammatory response. *Am. J.*
382 *Reprod. Immunol.*, v. 44, N. 3, p. 178–183, 2000.
- 383 FLUTTERT, M.; DALM, S.; OITZL, M. S. A refined method for sequential blood sampling
384 by tail incision in rats. *Lab. Anim.*, v. 34, p. 372-378, 2000.
- 385 FRANKO, K. L.; GIUSSANI, D. A.; FORHEAD, A. J.; FOWDEN, A. L. Effects of
386 dexamethasone on the glucogenic capacity of fetal, pregnant, and non-pregnant adult sheep. *J.*
387 *Endocrinol.*, v. 192, p. 67-73, 2007.
- 388 GIGLIO M. J.; ALIPPI R. M.; BOZZINI C. E. Mechanism underlying the inhibitory effect of
389 dexamethasone on *in vivo* erythropoiesis. *Exp. Hematol.*, v. 8, n.7, p. 911-916, 1980.
- 390 GIGLIO, M. J; ALIPPI, R. M.; BOZZINI, C. E. Inhibition by dexamethasone of
391 erythropoietin-induced amplification of the erythropoietin-responsive cell compartment. *Exp.*
392 *Hematol.*, v. 9, n.4, p. 444-448, 1981.
- 393 GOLDE, D. W.; BERSCH, N.; CLINE, M. J. Potentiation of erythropoiesis *in vitro* by
394 dexamethasone. *J. Clin. Invest.*, v. 57, p. 57-62, 1976.
- 395 HANSEN, D. K.; LABORDE, J. B.; WALL, K. S.; HOLSON, R. R.; YOUNG, J. F.
396 Pharmacokinetic considerations of dexamethasone-induced developmental toxicity in rats.
397 *Toxicol. Sci.*, v. 48, p. 230-239, 1999.
- 398 HAYNESWORTH, S. E., BABER, M. A., CAPLAN, A. I. Cytokine expression by human
399 marrow-derived mesenchymal progenitor cells *in vitro*: effects of dexamethasone and IL-1. *J.*
400 *Cell Physiol.*, v. 166, n. 3, p. 585-592, 1996.
- 401 HOLNESS, M. J.; SUGDEN, M. C. Glucoregulation during progressive starvation in late
402 pregnancy in the rat. *Am. J. Physiol Endocrinol. Metab.*, v. 272, p. E556-E561, 1997.

403 HOLNESS, M. J.; SUGDEN, M. C. Dexamethasone during late gestation exacerbates
404 peripheral insulin resistance and selectively targets glucose-sensitive functions in β cell and
405 liver. *Endocrinol.*, v. 142, p. 3742-3748, 2001.

406 ISBISTER, J. P. Physiology and pathophysiology of blood volume regulation. *Transfus. Sci.*,
407 v. 18, n. 3, p. 409-423, 1997.

408 ISERN, J.; FRASER, S. T.; HE, Z.; BARON, M. H. The fetal liver is a niche for maturation
409 of primitive erythroid cells. *PNAS*, v. 105, n. 18, p. 6662–6667, 2008.

410 JANSSON, T.; POWELL, T. L. Human placental transport in altered fetal growth: does the
411 placenta function as a nutrient sensor? - A review. *Placenta*, v. 27, Supplement A,
412 Trophoblast Research, v. 20, p. S91-S96, 2006.

413 KAHN, S. E.; PRIGEON, R. L.; SCHWARTZ, R. S.; FUJIMOTO, W. Y.; KNOPP, R. H.;
414 BRUNZELL, J. D.; PORTE-Jr, D. Obesity, body fat distribution, insulin sensitivity and islet
415 beta-cell function as explanations for metabolic diversity. *J. Nutr.*, v. 131, p. 354S–60S,
416 2001.

417 LAURENTINI, A.; EDWARDS C. A. A microtiter modification of the anthrone-sulfuric acid
418 colorimetric assay for glucose-based carbohydrates. *Anal. Biochem.*, v. 315, p. 413-415, 2003.

419 MALGOR, L. A.; TORALES, P. R.; KLAINER, E.; BARRIOS, L.; BLANC, C. C. Effects of
420 dexamethasone on bone marrow erythropoiesis. *Horm. Res.*, v. 5, n. 5, p. 269 - 277, 1974.

421 MOR, F.; COHEN, I. R. IL-2 rescues antigen-specific T cells from radiation or
422 dexamethasone-induced apoptosis. Correlation with induction of Bcl-2. *J. Immunol.*, v. 156,
423 p. 515 – 522, 1996.

424 NAGEL, J.; JACQUOT, R. Le tissu hematopoiétique dans le foie foetal de rat en fin de
425 gestation. III. Influence de l'hypophysectomie foetale. *Arch. Anat. Microsc. Morphol. Exp.*, v.
426 58, p. 97-104, 1969.

427 NAGY, P.; KISS, A.; SCHNUR, J.; THORGEIRSSON, S. S. Dexamethasone Inhibits the
428 Proliferation of hepatocytes and oval cells but not bile duct cells in rat liver. *Hepatology*, v.
429 28, n. 2, p. 423 - 429, 1998.

430 NYIRENDA, M. J.; LINDSAY, R. S.; KENYON, C. J.; BURCHELL, A.; SECKL, J. R.
431 Glucocorticoid exposure in late gestation permanently programs rat hepatic
432 phosphoenolpyruvate carboxykinase and glucocorticoid receptor expression and causes
433 glucose intolerance in adult offspring. *J. Clin. Invest.*, v. 101, n. 10, p. 2174–2181, 1998.

434 PENICAUD, L.; FERRE, P.; KANDE, J.; LETURQUE, A.; ISSAD, T.; GIRARD, J. Effect
435 of anesthesia on glucose production and utilization in rats. *Am. J. Physiol.*, v. 252, p. E365-
436 E369, 1987.

437 RUGINSK, S. G.; OLIVEIRA, F. R.; MARGATHO, L. O.; VIVAS, L.; ELIAS, L. L.;
438 ANTUNES-RODRIGUES, J. Glucocorticoid modulation of neuronal activity and hormone
439 secretion induced by blood volume expansion. *Exp. Neurol.*, v. 206, p. 192-200, 2007.

440 SADIKOT, R. T.; JANSEN, E. D.; BLACKWELL, T. R.; ZOIA, O.; YULL, F.;
441 CHRISTMAN, J. W.; BLACKWELL, T. S. High-dose dexamethasone accentuates nuclear
442 factor- κ B activation in endotoxin-treated mice. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.*, v. 164, p. 873-
443 878, 2001.

444 SECKL, J. R. 11 β -hydroxysteroid dehydrogenases: changing glucocorticoid action. *Curr.*
445 *Opin. Pharmacol.*, v. 4, p.597–602, 2004.

446 SEVERINO, C.; BRIZZI, P.; SOLINAS, A.; SECCHI, G.; MAIOLI, M.; TONOLO, G. Low-
447 dose dexamethasone in the rat: a model to study insulin resistance. *Am. J. Physiol.*
448 *Endocrinol. Metab.*, v. 283, p. E367-E373, 2002.

449 SLOBODA, D. M.; CHALLIS, J. R.; MOSS, T. J.; NEWNHAM, J. P. Synthetic
450 glucocorticoids: antenatal administration and long-term implications. *Curr. Pharm. Des.*, v.
451 11, n. 11, p. 1459 – 1472, 2005.

452 STEINER, D. F.; RAUDA, V.; WILLIAMS, R. H. Effects of Insulin, Glucagon, and
453 Glucocorticoids upon Hepatic Glycogen Synthesis from Uridine Diphosphate Glucose. *J.*
454 *Biol. Chem.*, v. 236, n. 2, 1961.

455 TAM, P. P. L.; CHAN, S. T. H. Changes in the composition of maternal plasma, fetal plasma
456 and fetal extraembryonic fluid during gestation in the rat. *J. Reprod. Fertil.*, v. 51, p. 41-51,
457 1977.

458 VEENSTRA VAN NIEUWENHOVEN, A. L.; BOUMAN, A.; MOES, H.; SCHAAF, G. C.
459 J.; SCHUILING, G. A.; HEINEMAN, M. J.; LEIJ, F. M. L. H.; SANTEMA, J.; FAAS, M. M.
460 Cytokine production by NK-cells as well as by lymphocytes in pregnant women as compared
461 with women in the follicular phase of the ovarian cycle. *Fertil. Steril.*, v. 77, p. 1032-1037,
462 2002.

463 VILAÇA JÚNIOR, P. E. A.; TEIXEIRA, A. A. C.; WANDERLEY-TEIXEIRA, V. ;
464 MORAES, E. F.; ARAÚJO, A. C. C. & MAIA, C. S. Morphological analysis of neonates of
465 rats treated with dexamethasone in the initial phase of pregnancy. *Int. J. Morphol.*, v. 26, n. 3,
466 p. 523 - 527, 2008.

467 WADDELL, B. J.; BENEDIKTSSON, R.; BROWN, R. W.; SECKL, J. R. Tissue-specific
468 messenger ribonucleic acid expression of 11 β -hydroxysteroid dehydrogenase types 1 and 2
469 and the glucocorticoid receptor within rat placenta suggests exquisite local control of
470 glucocorticoid action. *Endocrinology*, v. 139, p. 1517 – 1523, 1998.

471 WARD, R. M. Pharmacologic enhancement of fetal lung maturation. *Clin. Perinatol.*, v. 21,
472 n. 3, p. 523–542, 1994.

473

474

475

476

477

478

479

480

8. Anexos

Tabela 1. ¹Médias de hematócrito, contagem total e diferencial das células sanguíneas das ratas com 7 dias de gestação.

Grupos	I	II	III	IV	P
Ht (%)	44,66 ± 3,51a	51,00 ± 1,00b	42,66 ± 2,08a	52,66 ± 3,78b	0,0066
RBC (10 ⁶ /μL)	7,20±0,14a	7,08±0,08a	7,15±0,10a	6,87±0,17a	0,8229
WBC (10 ³ /μL)	5,05±0,20a	10,00±0,19b	4,66±0,25a	10,38±0,20b	0,0042
Linfócitos (%)	30,22 ± 3,08a	45,77 ± 2,15b	27,66 ± 5,81a	45,55 ± 3,37b	0,0335
Neutrófilos (%)	73,66 ± 2,36a	47,33 ± 4,84b	75,00 ± 1,62a	50,35 ± 5,27b	0,0176
Eosinófilos (%)	1,44 ± 0,18a	2,77 ± 0,50b	1,11 ± 0,67a	2,78 ± 0,38b	0,0084
Monócitos (%)	3,44 ± 1,59a	3,11 ± 0,88a	3,00 ± 1,90a	4,01 ± 2,05a	0,1679
Basófilos (%)	0,85 ± 0,071a	1,00 ± 0,91a	1,22 ± 0,76a	1,55 ± 1,00a	0,0609

¹Médias seguidas pela mesma letra não diferem significativamente entre si pelo teste de Wilcoxon-Mann-Whitney (P>0,05).

Tabela 2. ¹Médias de hematócrito, contagem total e diferencial das células sanguíneas das ratas com 14 dias de gestação.

Grupos	I	II	III	IV	P
Ht (%)	47,67 ± 2,88a	44,34 ± 2,08a	40,33 ± 1,52b	48,33 ± 1,38a	0,0055
RBC (10⁶/μL)	7,10±0,13a	6,98±0,08a	7,02±0,11a	8,03±0,07b	0,0472
WBC (10³/μL)	11,93±0,27a	4,88±0,24b	4,68±1,53b	12,00±0,34a	0,0037
Linfócitos (%)	48,11 ± 6,16a	15,11 ± 8,04b	25,77 ± 5,55b	56,22 ± 8,79a	0,0004
Neutrófilos (%)	46,55 ± 4,91a	79,11 ± 7,41b	66,66 ± 5,20b	53,11 ± 3,65a	0,0033
Eosinófilos (%)	2,40± 0,35a	0,66 ± 0,33b	0,77 ± 0,83b	2,22 ± 0,19a	0,0037
Monócitos (%)	3,11 ± 2,08a	1,44 ± 0,76a	2,86 ± 1,87a	3,88 ± 2,72a	0,1372
Basófilos (%)	1,11 ± 0,29a	1,77 ± 0,91a	2,88 ± 1,03a	1,33 ± 0,57a	0,4012

¹Médias seguidas pela mesma letra não diferem significativamente entre si pelo teste de Wilcoxon-Mann-Whitney (P>0,05).

Tabela 3. ¹Médias do hematócrito, contagem total e diferencial das células sanguíneas das ratas com 21 dias de gestação.

Grupos	I	II	III	IV	P
Ht (%)	42,34 ± 2,18a	40,67 ± 1,05a	39,00 ± 0,59b	46,00 ± 5,21a	0,0299
RBC (10⁶/μL)	8,02±0,09ac	7,95±0,04bc	7,68±0,11bc	8,14±0,10a	0,0472
WBC (10³/μL)	13,15±0,12a	8,21±0,05b	7,97±2,39b	13,32±0,15a	0,01930
Linfócitos (%)	34,88 ± 4,35a	29,66 ± 5,22a	20,57 ± 3,21b	35,11 ± 3,35a	0,0301
Neutrófilos (%)	40,22 ± 5,65a	53,11 ± 5,24a	66,22 ± 5,16b	51,88 ± 4,99a	0,0351
Eosinófilos (%)	2,33 ± 0,89a	2,11 ± 0,50a	0,97 ± 0,16b	2,44 ± 1,10a	0,0211
Monócitos (%)	2,88 ± 2,01a	1,77 ± 1,21a	3,33 ± 1,46a	2,67 ± 1,68a	0,5127
Basófilos (%)	0,77 ± 0,52a	0,88 ± 0,22a	1,14 ± 0,71a	1,44 ± 0,74a	0,0632

¹Médias seguidas pela mesma letra não diferem significativamente entre si pelo teste de Wilcoxon-Mann-Whitney (P>0,05).

Tabela 4. ¹Médias do hematócrito, contagem total e diferencial das células sanguíneas dos filhotes com 10 dias de nascidos.

Grupos	I	II	III	IV	P
Ht (%)	27,77 ± 4,62a	26,99 ± 2,33a	30,21 ± 0,50a	26,33 ± 3,60a	0,4987
RBC (10⁶/μL)	3,41±0,17a	3,53±0,14a	3,87±0,08b	3,39±0,12a	0,8620
WBC (10³/μL)	1,91±0,10a	1,73±0,24a	1,31±0,11b	2,02±0,20a	0,0101
Linfócitos (%)	64,77 ± 5,96a	60,00 ± 5,48a	49,22 ± 6,62b	62,33 ± 5,13a	0,0142
Neutrófilos (%)	23,55 ± 6,17a	22,55 ± 5,82a	36,77 ± 4,02b	21,66 ± 3,11a	0,0087
Eosinófilos (%)	0,44 ± 0,08a	0,51 ± 0,19a	0,21 ± 0,11b	1,44 ± 1,03a	0,0245
Monócitos (%)	6,77 ± 5,96a	8,46 ± 2,93a	7,88 ± 1,26a	8,07 ± 1,84a	0,1098
Basófilos (%)	4,44 ± 2,10a	3,78 ± 0,78a	2,97 ± 0,85a	3,56 ± 0,62a	0,2011

¹Médias seguidas pela mesma letra não diferem significativamente entre si pelo teste de Wilcoxon-Mann-Whitney (P>0,05).

Tabela 5. ¹Médias de hematócrito, contagem total e diferencial das células sanguíneas dos filhotes com 15 dias de nascidos.

Grupos	I	II	III	IV	P
Ht (%)	34,00 ± 7,93a	35,66 ± 2,51a	32,78 ± 4,29a	37,06 ± 3,51a	0,3543
RBC (10⁶/μL)	4,54±0,18a	4,38±0,12a	4,64±0,17a	4,6±0,12a	0,6324
WBC (10³/μL)	2,33±0,35a	2,40±0,25a	2,03±0,34a	2,11±0,22a	0,3108
Linfócitos (%)	65,22 ± 4,84a	67,32 ± 5,90a	63,66 ± 2,54a	62,44 ± 3,17a	0,4111
Neutrófilos (%)	25,66 ± 1,52a	24,19 ± 2,01a	22,67 ± 3,20a	23,78 ± 3,11a	0,2493
Eosinófilos (%)	1,00 ± 0,88a	0,98 ± 0,38a	0,72 ± 0,54a	1,21 ± 0,33a	0,0733
Monócitos (%)	7,44 ± 1,84a	6,09 ± 1,56a	7,23 ± 1,22a	8,77 ± 2,06a	0,0509
Basófilos (%)	2,88 ± 0,96a	2,15 ± 0,65a	1,79 ± 0,32a	2,63 ± 0,72a	0,0635

¹Médias seguidas pela mesma letra não diferem significativamente entre si pelo teste de Wilcoxon-Mann-Whitney (P>0,05).

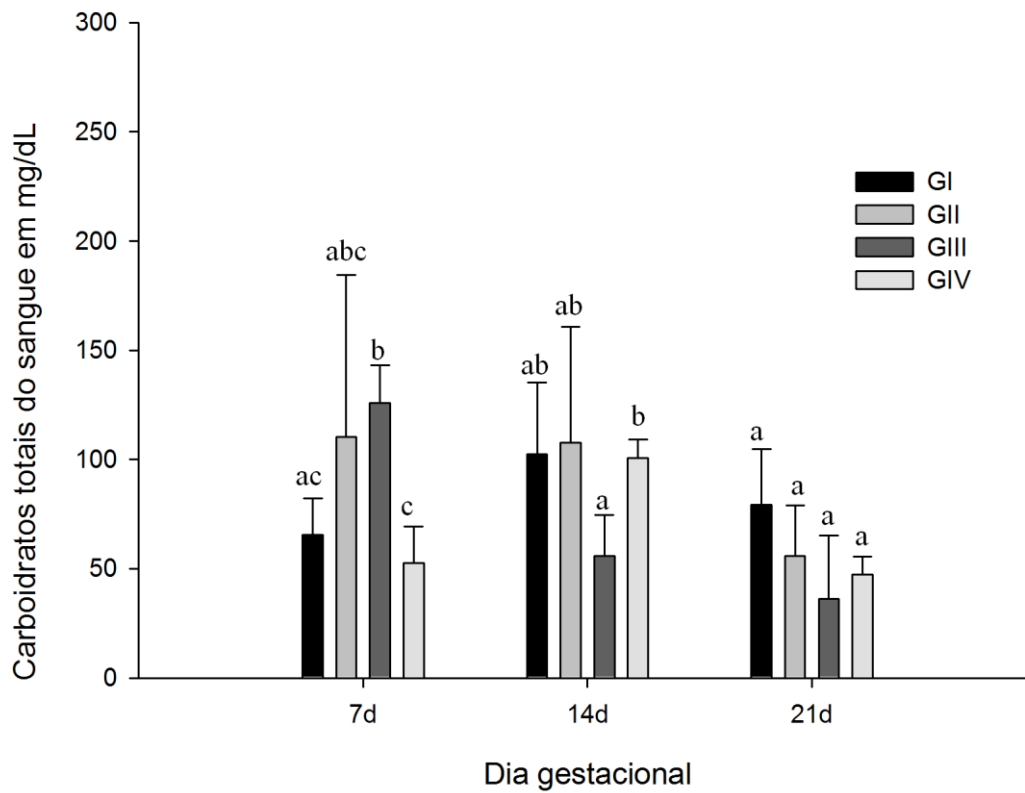


Figura 1: Glicose séria nas fêmeas no 7^o, 14^o e 21^o dia de gestação. Médias seguidas pela mesma letra não diferem significativamente entre si pelo teste de Wilcoxon-Mann-Whitney ($P > 0$)

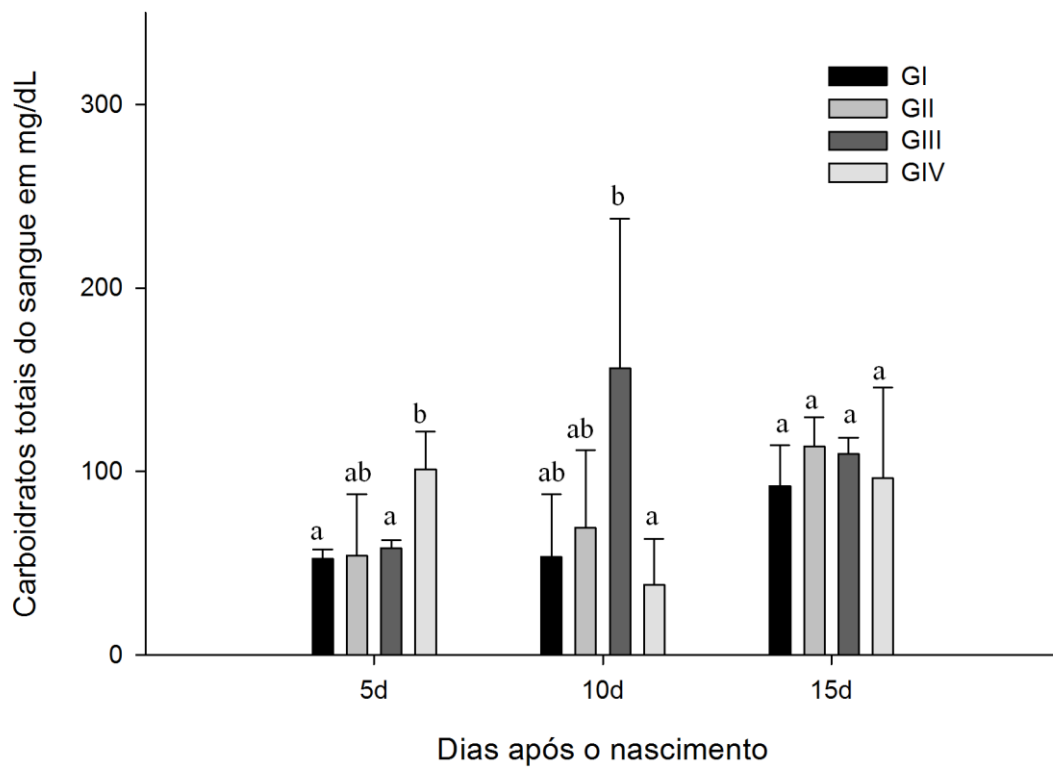


Figura 2: Glicose sérica na prole, aos 5, 10 e 15 dias de idade. Médias seguidas pela mesma letra não diferem significativamente entre si pelo teste de Wilcoxon-Mann-Whitney ($P > 0,05$).

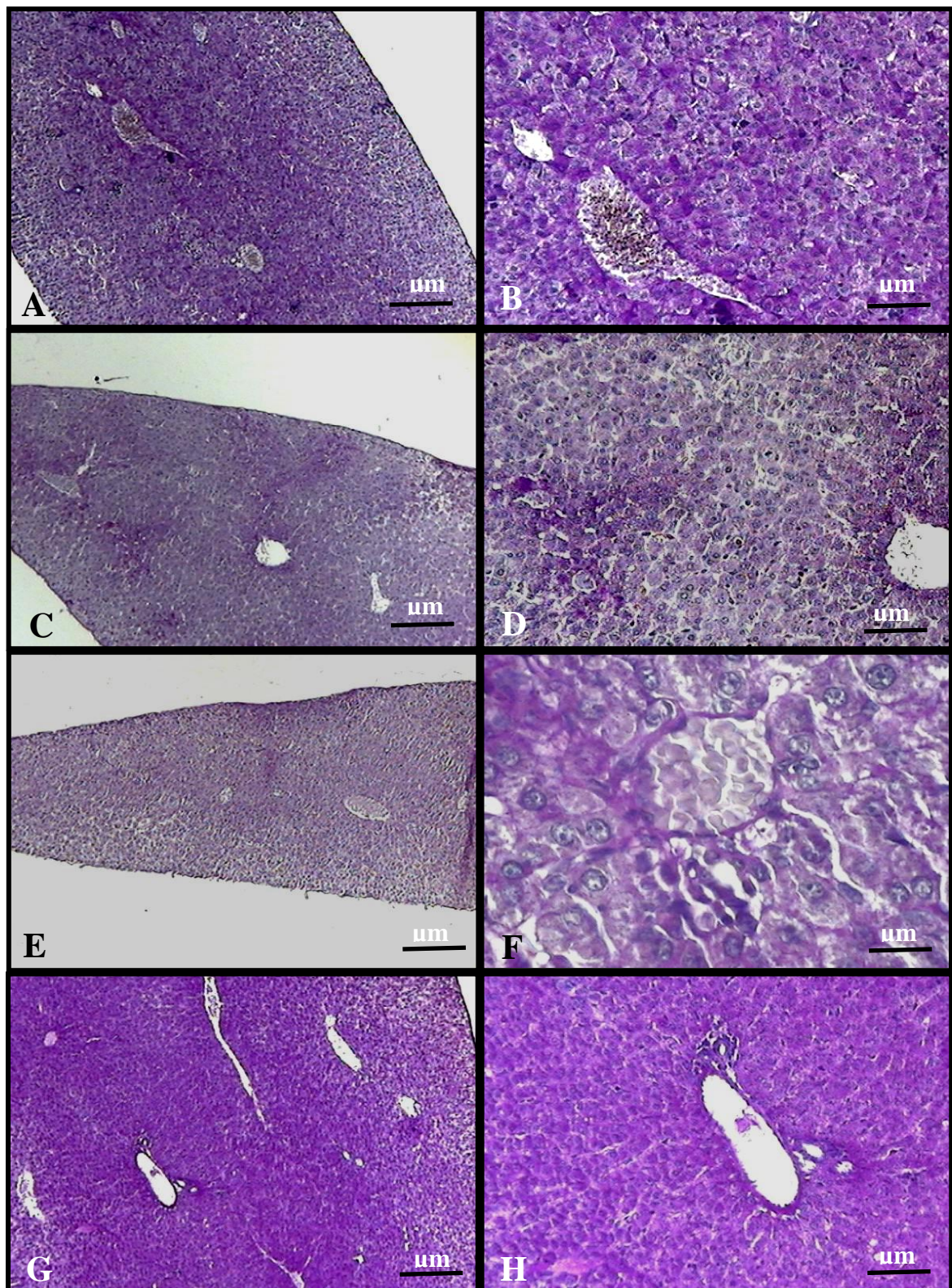


Figura 3: Fígado dos filhotes com 10 dias de idade. Observar variação na intensidade de coloração pelo P.A.S. nos grupos experimentais. A e B – Grupo I; B e C e D – Grupo II; E e F – Grupo III e G e H – Grupo IV. Figuras A, C, E e G Barra= 100 μ m. Figuras B, D, F e H, Barra= 25 μ m.

INSTRUÇÕES AOS AUTORES

Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia

(Brazilian Journal of Veterinary and Animal Sciences)

Política Editorial

O periódico *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia (Brazilian Journal of Veterinary and Animal Science)*, ISSN 0102-0935 (impresso) e 1678-4162 (on-line), é editado pela FEPMVZ Editora, CNPJ: 16.629.388/0001-24, e destina-se à publicação de trabalhos científicos sobre temas de medicina veterinária, zootecnia, tecnologia e inspeção de produtos de origem animal e áreas afins.

Os trabalhos encaminhados para publicação são submetidos à aprovação do Corpo Editorial, com assessoria de especialistas da área (relatores). Os trabalhos cujos textos necessitarem de revisões ou correções serão devolvidos aos autores. Os aceitos para publicação tornam-se propriedade do *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.* Os autores são responsáveis pelos conceitos e informações neles contidos. São imprescindíveis originalidade, ineditismo e destinação exclusiva à Revista.

Reprodução de artigos publicados:

A reprodução de qualquer artigo publicado é permitida desde que seja corretamente referenciado. Não é permitido o uso comercial dos resultados. A submissão dos trabalhos é feita exclusivamente on-line, no endereço eletrônico <www.abmvz.org.br>.

Tipos de artigos aceitos para publicação

Artigo científico. É o relato completo de um trabalho experimental. Baseia-se na premissa de que os resultados são posteriores ao planejamento da pesquisa. Seções do texto: Introdução, Material e Métodos, Resultados e Discussão e Conclusões. O número total de páginas não deve exceder a 15.

Relato de caso. Contempla principalmente as áreas médicas, em que o resultado é anterior ao interesse de sua divulgação ou a ocorrência dos resultados não é planejada.

Seções do texto: Introdução, Casuística, Discussão e Conclusões (quando pertinentes). O número total de páginas não deve exceder a 10.

Comunicação. É o relato sucinto de resultados parciais de um trabalho experimental, dignos de publicação, embora insuficientes ou inconsistentes para constituírem um artigo científico. Levantamentos de dados (ocorrência, diagnósticos, etc.) também se enquadram aqui. Deve ser compacto, com no máximo seis páginas impressas, sem distinção das seções do texto especificadas para “Artigo científico”, embora seguindo aquela ordem. Quando a comunicação for redigida em português deve conter um “Abstract” e quando redigida em inglês deve conter um “Resumo”.

Preparação dos manuscritos para publicação

Os trabalhos devem ser redigidos em português ou inglês, na forma impessoal. Para ortografia em inglês recomenda-se o *Webster's Third New International Dictionary*. Para ortografia em português adota-se o *Vocabulário Ortográfico da Língua Portuguesa*, da Academia Brasileira de Letras. Os trabalhos submetidos em inglês deverão conter resumo em português e vice-versa. Os trabalhos e ilustrações deverão ser apresentados em Microsoft Word, folha no formato A4, fonte Times New Roman tamanho 12, espaço entre linhas 1,5, margens de 3cm, com páginas e linhas numeradas (numeração contínua).

Seções de um trabalho

Título. Em português e em inglês. Deve ser o resumo do resumo e não ultrapassar 100 dígitos.

Autores. Os nomes dos autores virão abaixo do título, com identificação da instituição a que pertencem. Deve estar indicado o autor para correspondência com endereço completo, telefone, fax e e-mail.

Resumo e Abstract. Devem conter no máximo 200 palavras em um só parágrafo. Não repetir o título. Cada frase é uma informação. Atenção especial às conclusões.

Palavras-chave e Keywords. No máximo cinco.

Introdução. Explicação concisa, na qual são estabelecidos brevemente o problema, sua pertinência, relevância e os objetivos do trabalho.

Material e Métodos. Citar o desenho experimental, o material envolvido, a descrição dos métodos usados ou referenciar corretamente os métodos já publicados. Não usar subtítulos. Nos trabalhos que envolvam animais ou organismos geneticamente modificados deverá constar o número do protocolo de aprovação do Comitê de Bioética e/ou de Biossegurança.

Resultados. Apresentar clara e objetivamente os principais resultados encontrados.

Discussão. Discutir somente os resultados obtidos no trabalho.

Obs.: As seções Resultados e Discussão poderão ser apresentadas em conjunto.

Conclusões. As conclusões devem estar apoiadas nos dados da pesquisa executada.

Ilustrações. São tabelas e figuras. Toda ilustração que já tenha sido publicada deve conter, abaixo da legenda, dados sobre a fonte (autor, data) e a correspondente referência deve figurar na lista bibliográfica final.

Tabela. Conjunto de dados alfanuméricos ordenados em linhas e colunas. Usar linhas horizontais na separação do cabeçalho e no final da tabela. A legenda recebe inicialmente a palavra Tabela, seguida pelo número de ordem em algarismo arábico e é referida no texto como Tab., mesmo quando se referir a várias tabelas.

Figura. Qualquer ilustração constituída ou que apresente linhas e pontos: desenho, fotografia, gráfico, fluxograma, esquema etc. As legendas recebem inicialmente a palavra. Figura, seguida do número de ordem em algarismo arábico e é referida no texto como Fig., mesmo se referir a mais de uma figura. As figuras devem ser enviadas em arquivo separado, extensão.jpg.

Agradecimentos. Devem ser concisamente expressados.

Referências bibliográficas. As referências devem ser relacionadas em ordem alfabética.

Citações bibliográficas

Citações no texto deverão ser feitas de acordo com ABNT/NBR 10520 de 2002. A indicação da fonte entre parênteses sucede à citação para evitar interrupção na sequência do texto, conforme exemplos:

- autoria única: (Silva, 1971) ou Silva (1971);
(Anuário..., 1987/88) ou Anuário... (1987/88)
- dois autores: (Lopes e Moreno, 1974) ou Lopes e Moreno (1974)
- mais de dois autores: (Ferguson et al., 1979) ou Ferguson et al. (1979)
- mais de um trabalho citado: Dunne (1967); Silva (1971); Ferguson et al. (1979) ou (Dunne, 1967; Silva, 1971; Ferguson et al., 1979), sempre em ordem cronológica ascendente e alfabética de autores para trabalhos do mesmo ano.

Citação de citação. Todo esforço deve ser empreendido para se consultar o documento original. Em situações excepcionais pode-se reproduzir a informação já citada por outros autores. No texto, citar o sobrenome do autor do documento não consultado com o ano de publicação, seguido da expressão **citado por** e o sobrenome do autor e ano do documento consultado. Na listagem de referência, deve-se incluir apenas a fonte consultada.

Comunicação pessoal. Não fazem parte da lista de referências. Na citação coloca-se o sobrenome do autor, a data da comunicação, nome da Instituição à qual o autor é vinculado.

Referências bibliográficas

São adotadas as normas ABNT/NBR-6023 de 2002, simplificadas conforme exemplos:

Periódicos

ANUÁRIO ESTATÍSTICO DO BRASIL. v.48, p.351, 1987-88.

FERGUSON, J.A.; REEVES, W.C.; HARDY, J.L. Studies on immunity to alphaviruses in foals. *Am. J. Vet. Res.*, v.40, p.5-10, 1979.

HOLENWEGER, J.A.; TAGLE, R.; WASERMAN, A. et al. Anestesia general del canino. *Not. Med. Vet.*, n.1, p.13-20, 1984.

Publicação avulsa

DUNNE, H.W. (Ed). *Enfermedades del cerdo*. México: UTEHA, 1967. 981p.

LOPES, C.A.M.; MORENO, G. Aspectos bacteriológicos de ostras, mariscos e mexilhões. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE MEDICINA VETERINÁRIA, 14., 1974, São Paulo. *Anais...* São Paulo: [s.n.] 1974. p.97. (Resumo).

MORRIL, C.C. Infecciones por clostridios. In: DUNNE, H.W. (Ed). *Enfermedades del cerdo*. México: UTEHA, 1967. p.400-415.

NUTRIENT requirements of swine. 6.ed. Washington: National Academy of Sciences, 1968. 69p.

SOUZA, C.F.A. *Produtividade, qualidade e rendimentos de carcaça e de carne em bovinos de corte*. 1999. 44f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) – Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte.

Documentos eletrônicos

QUALITY food from animals for a global market. Washington: Association of American Veterinary Medical College, 1995. Disponível em: <<http://www.org/critca16.htm>>. Acessado em: 27 abr. 2000.

JONHNSON, T. Indigenous people are now more combative, organized. *Miami Herald*, 1994. Disponível em:<<http://www.summit.fiu.edu/MiamiHerld-Summit-RelatedArticles/>>. Acessado em: 5 dez. 1994.

Taxas de publicação

Taxa de submissão. A taxa de submissão de R\$30,00 deverá ser paga por meio de boleto bancário emitido pelo sistema eletrônico de submissão de artigos. Ao solicitar o boleto bancário, o autor informará os dados para emissão da nota fiscal. Somente trabalhos com taxa paga de submissão serão avaliados.

Taxa de publicação. A taxa de publicação de R\$55,00, por página impressa, será cobrada do autor indicado para correspondência, por ocasião da prova final do artigo. Se houver necessidade de impressão em cores, as despesas correrão por conta dos autores. A taxa de publicação deverá ser paga por meio de boleto bancário emitido pelo sistema eletrônico de submissão de artigos. Ao solicitar o boleto bancário, o autor informará os dados para emissão da nota fiscal