

## VALORES DE REFERÊNCIA DO PERFIL BIOQUÍMICO DE RATOS (*Rattus norvegicus* LINHAGEM WISTAR) PROVENIENTES DO BIOTÉRIO DE UM CENTRO UNIVERSITÁRIO DO INTERIOR PAULISTA

REFERENCE VALUES OF THE BIOCHEMICAL PROFILE OF RATS (*Rattus norvegicus* WISTAR STRAIN) FROM THE BIOTERY OF A UNIVERSITY CENTER IN THE INTERIOR OF SÃO PAULO STATE

VALORES DE REFERENCIA EL PERFIL BIOQUÍMICO DE LAS RATAS (*Rattus norvegicus* LINHAGEM WISTAR) DE LA BIOTERIA DE UN CENTRO UNIVERSITARIO EN EL INTERIOR DE PAULISTA

Nilce Barril\*, Nuala Storino\*\*, Izabella Rodolfo Severino\*\*

### Resumo

**Introdução:** Os parâmetros fisiológicos de animais de experimentação mantidos em biotérios podem variar de acordo com fatores intrínsecos ou extrínsecos. Assim, é fundamental que cada biotério de pesquisa estabeleça valores de referência para os animais, considerando a espécie, o gênero, a dieta, a idade e a metodologia utilizada na análise dos parâmetros. **Objetivo:** No presente estudo foi determinar o perfil bioquímico de ratos Wistar do biotério do Centro Universitário Padre Albino (UNIFIPA). **Método:** Foram avaliados os níveis de fosfatase alcalina, colesterol total, ureia, creatinina, triglicerídeos e glicose de 40 ratos, 20 machos e 20 fêmeas, pelo método enzimático. **Resultados:** Os resultados evidenciaram algumas variações entre os valores obtidos e os referenciados na literatura, o que demonstra a importância do conhecimento dos parâmetros fisiológicos dos animais de experimentação. **Conclusão:** A pesquisa permitiu estabelecer os valores de referência para as variáveis analisadas de animais não tratados do biotério da UNIFIPA, de Catanduva-SP.

**Palavras chave:** Bioquímica. Wistar. Biotério.

### Abstract

**Introduction:** The physiological parameters of experimental animals kept in bioterrories may vary according to intrinsic or extrinsic factors. Thus, it is fundamental that each research establishment reference values for the animals, considering the species, gender, diet, age and methodology used in the analysis of the parameters. **Objective:** In the present study, the biochemical profile of Wistar rats of the UNIFIPA vivarium was determined. **Method:** The levels of alkaline phosphatase, total cholesterol, urea, creatinine, triglycerides and glucose of 40 rats (20 males and 20 females) were evaluated by the enzymatic method. **Results:** The results evidenced some variations between the values obtained and those referenced in the literature, which demonstrates the importance of knowledge of the physiological parameters of experimental animals. **Conclusion:** The research allowed to establish the reference values for the analyzed variables of untreated animals of the UNIFIPA vivarium of Catanduva-SP.

**Keywords:** Biochemistry. Wistar. Bioterium.

### Resumen

**Introducción:** Los parámetros fisiológicos de animales de experimentación mantenidos en biotérios pueden variar de acuerdo con factores intrínsecos o extrínsecos. Así, es fundamental que cada biotério de investigación establezca valores de referencia para los animales, considerando, la especie, género, dieta, edad y la metodología utilizada en el análisis de los parámetros. **Objetivo:** En el presente estudio se determinó el perfil bioquímico de ratones Wistar del biotério de la UNIFIPA. Se evaluaron los niveles de fosfatasa alcalina, colesterol total, urea, creatinina, triglicéridos y glucosa de 40 ratas, 20 machos y 20 hembras, por el método enzimático. **Resultados:** Los resultados evidenciaron algunas variaciones entre los valores obtenidos y los referenciados en la literatura, lo que demuestra la importancia del conocimiento de los parámetros fisiológicos de los animales de experimentación. **Conclusión:** La investigación permitió establecer los valores de referencia para las variables analizadas de animales no tratados del biotério de las UNIFIPA de Catanduva-SP.

**Palabras clave:** Bioquímica. Wistar. Vivarium.

\* Doutora em Genética pela Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho (UNESP, São José do Rio Preto-SP), docente da disciplina de Genética Humana do curso de Medicina do Centro Universitário Padre Albino (UNIFIPA), Catanduva-SP. Responsável pelo Laboratório de Citogenética Humana e Ambulatório de Aconselhamento Genético do Hospital Emílio Carlos, UNIFIPA, Catanduva-SP. Contato: medicinanilce@gmail.com

\*\*Acadêmicas do curso de Biomedicina do Centro Universitário Padre Albino (UNIFIPA), Catanduva-SP..

## INTRODUÇÃO

Desde pesquisa de novos medicamentos contra o câncer até testes para doenças cardíacas, roedores são usados no desenvolvimento de todo tipo de experiência científica que necessite de uma cobaia<sup>1</sup>.

As pesquisas em animais de pequeno porte têm contribuído para o desenvolvimento da ciência e tecnologia, com isso, ao longo dos anos, tratamentos profiláticos foram criados e descobertos e assim lançados no mercado, promovendo o tratamento de enfermidades que acometem os seres humanos ao longo de suas vidas. Animais de várias espécies são utilizados, mas os camundongos e os ratos são os mais intensamente empregados e os mais conhecidos cientificamente<sup>1</sup>.

Os parâmetros fisiológicos dos animais de experimentação foram criados em países que possuem longa tradição de pesquisa e manutenção em biotérios. Normalmente esses valores são admitidos como constantes para os animais de uma mesma linhagem no mundo<sup>2</sup>. Os valores de referência utilizados para os parâmetros são provenientes de literatura, em sua grande parte estrangeira<sup>3</sup>.

Ao trabalharmos com determinada espécie animal, verificamos que cada uma possui mecanismos próprios de controle dos parâmetros fisiológicos, podendo sofrer variações relacionadas com sexo, linhagem e genótipo, que são decorrentes de diversos fatores como idade, dieta, manuseio e ambiente<sup>4</sup>.

Por esse motivo, é importante que cada biotério forme um conjunto próprio de valores de referência dos animais. O conhecimento destes parâmetros é relevante na seleção de animais, na avaliação e observação dos resultados, nos procedimentos experimentais e na análise das modificações induzidas por processos patológicos<sup>5</sup>.

O presente estudo teve por objetivo estabelecer valores de referência dos parâmetros bioquímicos de fosfatase alcalina, colesterol, creatinina, ureia, triglicerídeos e glicose de ratos Wistar (*Rattus norvegicus albinus*) provenientes do Biotério do Centro Universitário Padre Albino (UNIFIPA), em Catanduva-SP, a fim de auxiliar os laboratórios de pesquisas desta instituição a identificar alterações na homeostasia dos animais, quando forem selecionados para realização de pesquisas.

## MATERIAL E MÉTODO

Os procedimentos experimentais foram realizados no Biotério e no laboratório Multidisciplinar da UNIFIPA. O alojamento, manejo, tratamento e a coleta de sangue foram conduzidos de acordo com as normas da Comissão de Ética para Uso de Animais (CEUA) da UNIFIPA, após aprovação do projeto.

Foram utilizados 40 ratos Wistar (*Rattus norvegicus albinus*), 20 machos e 20 fêmeas, com idade entre um e dois meses, normais e saudáveis, pesando entre 284g a 500g, procedentes do Biotério da UNIFIPA, Catanduva-SP. Durante o experimento, os animais foram distribuídos em 2 grupos (n=20/grupo) mantidos em condições constantes de umidade (50%±5) e ciclo de luz claro/escuro de 12 horas; foram alimentados com ração comercial Nuvilab® CR1 *Nuvital Nutrientes S/A*, Brazil, e água *ad libitum*.

Foram constituídos dois grupos experimentais, designados 1 e 2. O primeiro apresentou 20 animais do sexo masculino e o segundo 20 animais do sexo feminino, os quais foram mantidos em gaiolas comuns com 2 animais/gaiola respeitando os grupos a que pertenciam.

A coleta de sangue foi realizada em seringa heparinizada, através de punção da artéria mesentérica superior com os animais previamente anestesiados com isoflurano. O plasma foi obtido por centrifugação do sangue em *eppendorf* (*Eppendorf Mini Spin*®) a 3500 rpm por 10 minutos.

As análises bioquímicas foram feitas através das dosagens dos níveis séricos de glicose, triglicerídeos, colesterol total, ureia, creatinina e fosfatase alcalina, com a utilização de *kits Labtest*®, e as análises realizadas pelo método enzimático.

Para cada parâmetro avaliado, os valores foram expressos como média e desvio padrão (SD) e por faixa de valores.

## RESULTADOS

A padronização de valores dos parâmetros fisiológicos é critério importante para a avaliação da homeostase, antes e depois dos resultados obtidos nos procedimentos experimentais. Estes parâmetros têm guiado as pesquisas experimentais na busca de fornecer informações que auxiliam a relação entre resultados obtidos em animais sadios, doentes e tratados, podendo posteriormente discutir os resultados e confirmar a eficácia ou não de determinado tratamento ou intervenção clínica.

Os parâmetros bioquímicos dos ratos Wistar de ambos os gêneros realizados por este estudo estão representados na Tabela 1. As Tabelas 2 e 3 comparam os dados da presente pesquisa com dados de outros estudos semelhantes.

**Tabela 1** - Parâmetros bioquímicos de ratos Wistar de ambos os gêneros. Valores expressos em média  $\pm$  S.D. e por faixa de valores (menor e maior valor)

Parâmetros (Unid.)	Média $\pm$ S.D. Machos	Faixa Machos	Média $\pm$ S.D. Fêmeas	Faixa Fêmeas
Fosfatase Alcalina (U/L)	162,55 $\pm$ 81,72	41,46 - 959	65,89 $\pm$ 21,43	23,49 - 103,62
Colesterol (mg/dL)	66,63 $\pm$ 19,82	44,6 - 81,40	87,89 $\pm$ 34,65	57,60 - 171,80
Creatinina (mg/dL)	0,08 $\pm$ 0,12	0,01 - 0,32	0,20 $\pm$ 0,21	0,02 - 0,77
Ureia (mg/dL)	33,33 $\pm$ 9,5	28,75 - 49,56	42,53 $\pm$ 21,75	25,41 - 123,20
Triglicerídeo (mg/dL)	67,03 $\pm$ 31,48	23,20 - 146,40	49,45 $\pm$ 19,73	24,20 - 87,80
Glicose (mg/dL)	154,12 $\pm$ 37,99	102,80 - 257,40	188,14 $\pm$ 32,17	135,30 - 259,50

**Tabela 2** - Comparação de parâmetros bioquímicos de machos, obtidos neste estudo, com valores de outras pesquisas e fontes de referência com o mesmo gênero

Parâmetros (Unid.)	Ref. 1	Ref. 2	Ref. 3	FIPA
Fosfatase Alcalina (U/L)	184,0 $\pm$ 8,0	127,1 $\pm$ 35,55	91,63 $\pm$ 28,70	162,55 $\pm$ 81,72
Colesterol (mg/dL)	62,2 $\pm$ 2,3	67,4 $\pm$ 8,72	60,68 $\pm$ 6,51	66,63 $\pm$ 19,82
Creatinina (mg/dL)	0,3 $\pm$ 0,1	0,5 $\pm$ 0,05	0,58 $\pm$ 0,24	0,08 $\pm$ 0,12
Ureia (mg/dL)	45,2 $\pm$ 2,3	35,9 $\pm$ 3,58	48 $\pm$ 7,6	33,33 $\pm$ 9,5
Triglicerídeo (mg/dL)	96,0 $\pm$ 5,5	89,9 $\pm$ 29,1	46,87 $\pm$ 18,73	67,03 $\pm$ 31,48
Glicose (mg/dL)	117,4 $\pm$ 2,8	104,0 $\pm$ 17,18	138,72 $\pm$ 30,17	154,12 $\pm$ 37,99

**Tabela 3** - Comparação de parâmetros bioquímicos de fêmeas, obtidos neste estudo, com valores de outras pesquisas e fontes de referência com o mesmo gênero

Parâmetros (Unid.)	Ref. 1	Ref. 2	Ref. 3	FIPA
Fosfatase Alcalina (U/L)	77,0 $\pm$ 4,3	106,9 $\pm$ 20,69	75,95 $\pm$ 19,07	65,89 $\pm$ 21,43
Colesterol (mg/dL)	59,0 $\pm$ 2,2	75,1 $\pm$ 12,29	64,86 $\pm$ 11,17	87,89 $\pm$ 34,65
Creatinina (mg/dL)	0,4 $\pm$ 0,0	0,5 $\pm$ 0,07	0,57 $\pm$ 0,19	0,20 $\pm$ 0,21
Ureia (mg/dL)	40,4 $\pm$ 1,0	43,7 $\pm$ 7,42	39,17 $\pm$ 6,43	42,53 $\pm$ 21,75
Triglicerídeo (mg/dL)	99,0 $\pm$ 9,0	69,8 $\pm$ 20,75	54,21 $\pm$ 35,5	49,45 $\pm$ 19,73
Glicose (mg/dL)	103,5 $\pm$ 2,0	106,2 $\pm$ 20,25	114,57 $\pm$ 36,15	188,14 $\pm$ 32,17

Ref. 1: Melo et al.<sup>6</sup>; Ref. 2: Lima et al.<sup>7</sup>; Ref. 3: Lillie et al.<sup>8</sup>

## DISCUSSÃO

Os resultados obtidos mostraram variações individuais ao se avaliar cada parâmetro isoladamente. Entretanto, alguns valores foram discordantes daqueles referidos na literatura.

Nos machos os níveis de fosfatase alcalina, glicose, creatinina e triglicerídeos foram diferentes dos apresentados por Melo et al. (Ref. 1)<sup>6</sup>; Lima et al. (Ref. 2)<sup>7</sup> e Lillie et al. (Ref. 3)<sup>8</sup>. Os ratos Wistar mantidos nas condições do Biotério – UNIFIPA apresentaram valores de fosfatase alcalina, ureia, creatinina e triglicerídeos inferiores aos observados por Lima et al. (Ref. 1)<sup>7</sup>, por outro lado as

dosagens obtidas, no presente estudo, para glicose e colesterol foram superiores aos referidos pelos mesmos autores, no biotério de ciências farmacêuticas da Universidade Federal da Paraíba.

A fosfatase alcalina e a glicose dos ratos do Biotério - UNIFIPA foram maiores do que os encontrados por Melo et al. (Ref. 1)<sup>6</sup> no biotério da Universidade Federal do Sergipe, menores para ureia, creatinina e triglicerídeos e semelhantes para o colesterol total.

Quando comparados aos de Lima et al. (Ref. 2)<sup>7</sup>, da Universidade Tiradentes SE, os resultados obtidos para fosfatase alcalina, colesterol total, triglicerídeos e glicose dos ratos do Biotério - UNIFIPA foram superiores e os de ureia e creatinina inferiores.

Nas fêmeas os valores de ureia obtidos se assemelham aos referenciados por Lima et al. (Ref. 2)<sup>7</sup>; Melo et al. (Ref. 1)<sup>6</sup> e Lillie et al. (Ref. 3)<sup>8</sup>, e a dosagem de triglicerídeos mostrou-se próxima ao estudo de Lillie et al. (Ref. 3)<sup>8</sup> e inferior ao de Lima et al. (Ref. 1)<sup>7</sup> e Melo et al. (Ref. 1)<sup>6</sup>; o colesterol total e glicose apresentaram-se superiores e a fosfatase alcalina e creatinina inferiores comparados à Lima et al. (Ref. 2)<sup>7</sup>; Melo et al. (Ref. 1)<sup>6</sup>; e Lima et al. (Ref. 2)<sup>7</sup>.

De acordo com Melo et al.<sup>6</sup>, a não similaridade dos resultados observados em testes realizados em diferentes biotérios pode ser consequente da utilização de metodologias variadas adotadas para a realização dos testes, além do tipo de equipamento e reagentes utilizados. O que justifica a necessidade de padronização de valores de referência específicos para cada biotério<sup>6</sup>.

Portanto, os resultados apenas podem ser generalizados quando os ratos se encontram em determinadas condições específicas de estudo, com a mesma linhagem, idade, peso, dieta e metodologia empregada<sup>9</sup>.

Outros fatores importantes relacionados com as variações observadas entre diferentes biotérios são aqueles referentes à dieta, tempo de jejum antes da realização do exame e estresse do animal durante a coleta de sangue<sup>6</sup>.

## CONCLUSÃO

Os resultados obtidos demonstram a importância de se obter valores de referência próprios para cada biotério, pois pode haver variações influenciadas por vários fatores que devem ser levados em consideração nas pesquisas experimentais, como sexo, linhagem e genótipo.

## REFERÊNCIAS

1. Menendez RC. Animales de Laboratorio en las investigaciones biomedicas. La Habana: Ciencias Medicas; 1985.
2. Nunes DCS, Favali CBF, Souza Filho AA, Silva ACM, Filgueiras TM, Lima MGS. Parâmetros hematológicos de camundongos e ratos do Biotério Central da Universidade Federal do Ceará. Bol Inf Cobe. 1998; 3:6-9.
3. Kaneko JJ, Harvey JW, Bruss ML. Clinical biochemistry of domestic animals. 5th ed. San Diego: Academic Press; 1994.
4. Nunes DCS, Favali CBF, Souza-Filho AA, Silva ACM, Filgueiras TM, Lima MGS. Evaluation of cellular profile and main constituents the rat and mouse blood from the animal house of the Federal University of Ceará, Brazil. Rev Med UFC. 1994; 34(1-2):21-9.
5. Wolford ST, Schroer RA, Gohs FX, Gallo PP, Brodeck M, Falk HB, et al. Reference range data base for serum chemistry and hematology values in laboratory animals. J Toxicol Health. 1986; 18(2):161-88.
6. Melo MGD, Dória GAA, Serafini MR, Araújo AAS. Valores de referência hematológicos e bioquímicos de ratos (*Rattus norvegicus* linhagem Wistar) provenientes do biotério central da Universidade Federal de Sergipe. Scientia Plena. 2012; 8(9):1-6.
7. Lima CM, Lima AK, Melo MGD, Dória GAA, Leite BLS, Serafini MR, et al. Valores de referência hematológicos e bioquímicos de ratos (*Rattus norvegicus* linhagem Wistar) provenientes do biotério da Universidade Tiradentes. Scientia Plena. 2014; 10(1):1-9.
8. Lillie EL, Temple NJ, Florence LZ. Reference values for young normal Sprague-Dale rats: weight gain, hematology and clinical chemistry. Hum Exp Toxicol. 1996; 15(8):612-6.
9. Andrade A, Pinto SC, Oliveira RS, organizadores. Animais de laboratório: criação e experimentação. Rio de Janeiro: Editora Fiocruz; 2002.

Envio: 12/03/2019

Aceite: 10/06/2019