

Danusa Mar Arcego; Cristie Noschang; Rachel Krolow; Luisa Fitarelli; Fernanda Fontella; Daniela Laureano; Ana Paula Huffell
Orientadora: Prof. Dr(a) Carla Dalmaz. Depto. de Bioquímica, ICBS, UFRGS.

Introdução

Intervenções no período neonatal podem levar a uma série de alterações comportamentais e neuroquímicas que muitas vezes somente se manifestam na vida adulta. A manipulação neonatal é um modelo animal utilizado para avaliar essas intervenções. Com a manipulação observa-se alterações no comportamento alimentar, como aumento no consumo de alimento palatável na vida adulta, alteração no funcionamento do eixo hipotálamo-hipófise-adrenal (HHA) e na capacidade do organismo em responder a estímulos estressores. Os hormônios gonadais, como o estradiol, estimulam modificações cerebrais. Assim, é possível que alterações comportamentais e neuroquímicas observadas nos animais manipulados sejam influenciadas pela ação desses hormônios. Além disso, estudos demonstram que o estradiol apresenta propriedades antioxidantes, sendo neuroprotetor. Sabe-se que o estresse está relacionado com um aumento na produção de radicais livres no organismo, os quais podem levar a danos celulares. Para combater isso, nosso organismo possui um sistema de enzimas antioxidantes [Catalase (CAT), Superóxido dismutase (SOD), e Glutaciona peroxidase (GPx)].



Objetivo

Avaliar se os hormônios gonadais influenciam o consumo de alimento palatável e parâmetros de estresse oxidativo na idade adulta, no hipotálamo de ratas submetidas ou não à manipulação neonatal.

Metodologia

Foram utilizados 18 ratas Wistar prenhes. O dia do nascimento dos filhotes foi considerado dia zero. As ninhadas foram padronizadas em 8 filhotes por caixa e classificadas em manipuladas e não-manipuladas (as últimas não recebiam nenhum tipo de intervenção até o desmame).



Os filhotes manipulados eram colocados em uma incubadora (32°C) 10 min/dia durante 10 dias. Aos 21 dias, ocorreu o desmame e sexagem dos filhotes. Entre os dias 24-28 foram realizadas cirurgias de

ovarectomia (OVX), efetuando-se uma ligadura e retirada dos ovários dos animais, sob anestesia. A dieta consistiu de ração padrão e água "ad libitum". Na idade adulta, foi avaliado o consumo de alimento doce. Na semana seguinte, os animais foram sacrificados, o hipotálamo foi retirado e mantido a -70°C até análise das atividades enzimáticas (SOD, GPx e CAT) e da produção de radicais livres pelo método da oxidação da diclorofluoresceína (DCF).

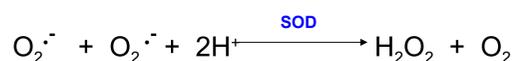
Comportamento alimentar

Foi avaliado o consumo de alimento palatável (Froot Loops). Os animais foram habituados a esse tipo de alimento durante 5 dias (treino), em restrição alimentar. No 6 dia foi realizado o teste, onde os animais receberam ração padrão à vontade nas 24 horas anteriores. A quantidade de alimento ingerido, bem como a latência para provar o alimento, em restrição alimentar e no estado alimentado, foi avaliada durante 3 minutos.



Enzimas avaliadas

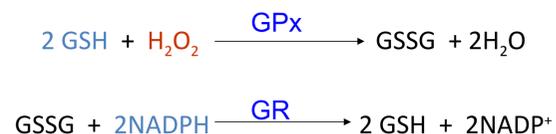
SOD: foi avaliada utilizando o Kit Ransod. O método emprega xantina oxidase para gerar radical superóxido, o qual reage com 2-(4-iodofenil)-3-(4-nitrofenol)-5-cloreto de feniltetrazol (I.N.T) para formar o composto de coloração vermelha, o Formazan. A atividade da SOD é medida pelo grau de inibição desta reação.



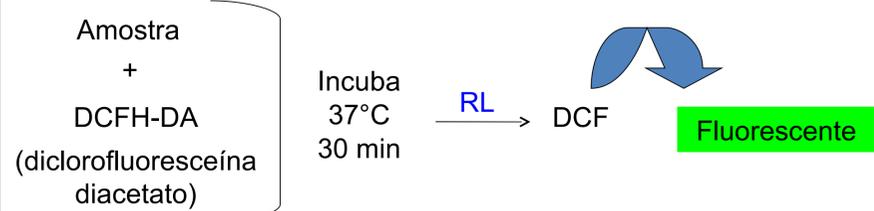
Catalase: sua atividade é determinada pela degradação do peróxido de hidrogênio.



GPx: esta enzima catalisa a reação de degradação de vários peróxidos, principalmente peróxido de hidrogênio e hidroperóxidos orgânicos. Para essa reação, a GPx utiliza o grupamento sulfidril da glutaciona reduzida para formar glutaciona oxidada. A forma reduzida pode ser regenerada pela interação da glutaciona oxidada com NADPH através da enzima glutaciona redutase. Desta forma, a atividade da enzima GPx pode ser determinada medindo o consumo de NADPH:



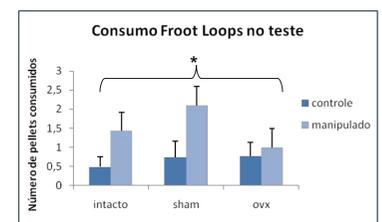
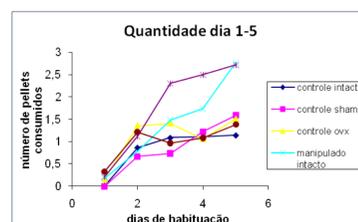
DCF:



Resultados

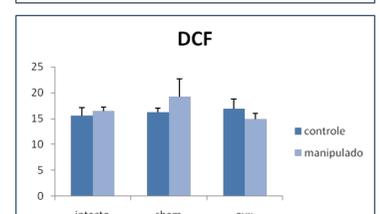
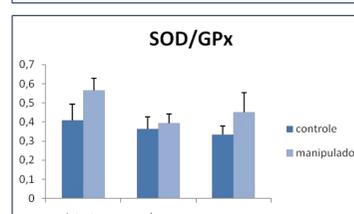
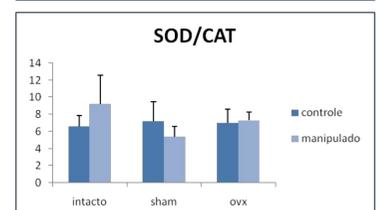
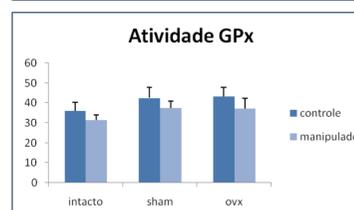
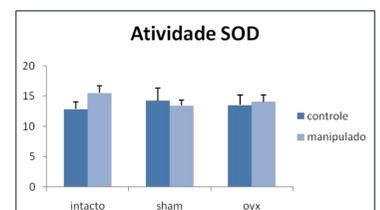
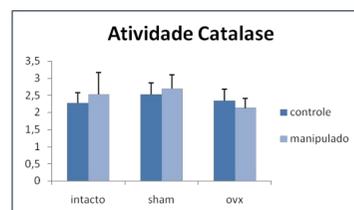
Foram analisados por ANOVA de duas vias (fatores: manipulação e cirurgia).

Comportamento alimentar



Na habituação, houve uma interação quase significativa ($P=0,06$) entre manipulação e tempo de habituação. No dia do teste, houve um efeito significativo da manipulação (os manipulados comeram mais alimento doce; $F(1,36)= 6,287$; $P < 0,02$). Não houve efeito da cirurgia ou interação entre esses fatores.

Atividade das enzimas antioxidantes e DCF



Não houve diferença significativa nas atividades das enzimas antioxidantes e DCF.

Conclusão

De acordo com os resultados obtidos, as ratas manipuladas comem mais alimento doce quando este é oferecido, e esse efeito independe da presença de hormônios gonadais. Já as análises relacionadas ao estresse oxidativo no hipotálamo não indicaram efeito de qualquer desses parâmetros.