

ALTERAÇÕES ENDÓCRINO-METABÓLICAS APÓS PRIVAÇÃO DE SONO EM RATAS INTACTAS E OOFORECTOMIZADAS COMPARADAS COM RATOS MACHOS

Ademir Aragão Moura (Bolsista do ICV), Érica Nazaré Pinto Melo (colaboradora, UFPI), Maira Letícia Veras e Sousa (colaboradora, UFPI), Regina Silva Rabelo (colaboradora, UFPI), Maria do Carmo de Carvalho e Martins (orientadora-Dpt Biofísica e Fisiologia UFPI)

INTRODUÇÃO:

A privação crônica de sono (PS) tem sido cada vez mais comum na sociedade moderna como resultado de várias fatores, incluindo mudança do estilo de vida, demandas no trabalho ou familiares, problemas físicos ou psicológicos¹. É bem estabelecido que a PS resulta num conjunto de patologias ou síndromes incluindo aumento do metabolismo energético, alteração dos níveis de hormônios circulantes, aparência física debilitada, perda da integridade imunológica e muitas outras². O objetivo deste estudo é a determinação do impacto da PS sobre o perfil metabólico em exemplares de *Rattus norvegicus* especialmente no que se refere a peso, ingestão alimentar diária, perfil lipídico, provas de função hepática – no intuito de ajudar a esclarecer suas repercussões nos seres humanos.

METODOLOGIA:

Foram utilizados 60 ratos (*Rattus norvegicus*) albinos da linhagem Wistar alocados em 3 grupos de animais (machos, fêmeas intactas e fêmeas ovariectomizadas) e divididos em 6 subgrupos experimentais de 10 animais cada: grupo controle machos (G1); grupo controle fêmeas intactas (G2); grupo controle fêmeas castradas (G3); grupo dos machos em privação de sono-PS (G4); grupo das fêmeas intactas PS (G5); grupo das fêmeas castradas PS (G6). Após período de acompanhamento de 28 dias a partir da realização de ovariectomia nos animais de G3 e G6, foi realizada a privação de sono (PS) por 4 dias nos grupos acima assinalados. Após esse período, todos os animais foram acompanhados durante período de recuperação (PR) por 2 dias. A quantidade de ração oferecida diariamente foi a mesma, sendo realizado registro diário do peso e consumo alimentar (CA) médio. Para a realização do experimento de PS foi utilizado o método da plataforma em tanque de água que consiste em deixar o animal numa plataforma de cerca de 7cm de diâmetro cercada por água durante um intervalo de tempo prolongado, geralmente 72 h³. **Procedimento cirúrgico:** ovariectomia bilateral foi realizada após anestesia por via intraperitoneal com solução composta por uma associação anestésica de um agente dissociativo, o cloridrato de quetamina a 10% (40 mg/kg) e uma droga miorrelaxante, analgésica e sedativa, o cloridrato de xilazina a 2% (5mg/kg). Utilizou-se incisão mediana dorsal entre o bordo inferior das costelas e a coxa. Após abertura da parede muscular, foi realizada ligadura do pedículo ovariano e excisão do ovário, seguida de fechamento da parede muscular através de sutura simples. Repetiu-se a manobra no lado oposto para retirar o segundo ovário. Em seguida, a pele foi suturada com o mesmo tipo de sutura. Tal procedimento foi realizado 28 dias antes da PS, tempo necessário para que ocorram alterações hormonais nos ciclos reprodutivos das ratas. Após período de PS e PR, animais de todos os grupos foram anestesiados com tiopental sódico (100 mg/kg). Em seguida foi realizada a abertura da cavidade abdominal para coleta de amostras de 5 mL de sangue venoso a partir da veia cava caudal. Alíquotas de soro foram utilizadas para dosagem de CT, HDL, LDL, TG e glicemia de jejum. A função hepática foi quantificada

pela dosagem sérica de proteínas totais e frações (albumina e globulinas) e transaminases hepáticas (TGO, TGP). A análise estatística foi realizada mediante aplicação do teste t pareado para comparar as diferenças dentro dos grupos, e ANOVA seguida de pós-teste de Tukey para comparação entre grupos. O nível de significância foi de $p < 0,05$.

RESULTADOS:

TABELA 01: Níveis séricos de Colesterol total (CT), Colesterol HDL, Colesterol LDL, Triglicerídeos (TG) e Glicemia de jejum(GJ) de animais controle e animais privados de sono (PS) por 4 dias, após período de recuperação de 2 dias.

GRUPO	CT (mg/dL) Média ± EPM	HDL (mg/dL) Média ± EPM	LDL (mg/dL) Média ± EPM	TG (mg/dL) Média ±EPM	GLICEMIA DE JEJUM (mg/dL) Média ± EPM
Machos controle	79,8 ± 7,97	23,5±1,77	43,8±7,53	61,0 ±4,25	118,2 ± 4,36 ^D
Fêmeas controle	82,9± 10,70	23,0±1,68	49,5±9,40	50,9 ±4,43	146,1± 10,19
Fêmeas OVC controle	76,4± 4,84	22,6±1,44	45,5±4,97	41,1 ±5,81 ^a	120,8 ± 4,95 ^D
Machos PS	59,2± 3,14	20,2±1,06	31,5±3,87	37,8 ± 4,09 ^a	161,0 ± 13,2
Fêmeas PS	73,7 ±5,94	23,3±0,90	40,5±5,99	48,7 ±4,81	132,7 ± 9,89
Fêmeas OVC PS	84,5± 8,70	25,0±1,36	51,1±8,22	40,2 ±3,95 ^a	139,5 ± 9,64

LEGENDA: OVC: ovariectomia; PS: privação de sono; EPM: erro padrão da média; ^a $p < 0,05$ em relação aos machos PS. ^b $p < 0,05$ em relação aos machos controle.

TABELA 02: Níveis séricos de Proteínas totais (PT) e frações (albumina e globulinas) e Aminotransferases (TGO e TGP) de animais controle e animais privados de sono(PS) por 4 dias, após período de recuperação de 2 dias.

GRUPO	PROTEÍNAS TOTAIS Média ± EPM	ALBUMINA Média ± EPM	GLOBULINA Média ± EPM	TGO Média ± EPM	TGP Média ± EPM
Machos controle	5,5±0,19	3,6±0,04	1,9±0,04	123,1±7,09	78,6±5,40 ^a
Fêmeas controle	6,1±0,19	3,3±0,10	2,8±0,10	153,3±12,98	125,7±22,18
Fêmeas OVC controle	5,7±0,32	3,3±0,08	2,4±0,08	136,8±3,86	85,1±4,56
Machos PS	5,3±0,22	3,4±0,04	1,9±0,04	117,4±4,45 ^a	92,7±9,40
Fêmeas PS	5,3±0,13	3,4±0,11	2,0±0,11	136,5±9,32	90,9±7,75
Fêmeas OVC PS	5,6±0,25	3,4±0,04	2,2±0,04	120,6±6,87	77,5±6,97 ^a

LEGENDA: ^a $p < 0.05$ em relação às fêmeas controle.

DISCUSSÃO:

A média de peso corpóreo dos controles apresentou oscilações variáveis entre os grupos nos primeiros três dias e tendência a estabilidade durante o restante do período. O grupo submetido à PS, por sua vez, exibiu queda das médias de peso corpóreo nos dois primeiros dias de insônia e estabilização da curva após o 2º dia de insônia apesar do comportamento hiperfágico. Durante o PR houve crescimento das médias de peso apesar da redução do consumo alimentar (CA). No grupo PS foram observadas maiores médias de CA diário em relação aos controles, havendo tendência à queda nos primeiros dois dias e pico logo a seguir no meio da PS. Após o primeiro dia do PR, houve novo

crescimento das médias de CA, mas não comparável ao pico hiperfágico do período de PS. O grupo controle apresentou resultados mais homogêneos de CA. Se o CA aumenta acompanhado de perda de peso, significa que a insônia leva a um balanço energético negativo, conseqüente a um gasto energético aumentado. O aumento de CA corresponde ao período de desenvolvimento de hiperfagia, sugerindo que seja o combustível para o metabolismo energético acelerado⁴. Os níveis glicêmicos médios no grupo de machos PS foram maiores em relação aos controles ($p < 0,05$). Tal comportamento não foi observado entre os demais grupos. O impacto da duração do sono no risco de desenvolvimento de diabetes tem sido mostrado em diversos estudos com um aumento significativo na incidência de diabetes em indivíduos com PS¹. Foi observada alteração heterogênea do perfil lipídico entre os grupos controle e PS. A PS acarretou redução significativa dos níveis de TG dos machos PS em relação aos seus controles ($p < 0,05$). Por outro lado não promoveu alterações significativas nos níveis de CT, HDL e LDL dos grupos PS comparados aos controles (TABELA 01). De modo geral, não houve diferença significativa no perfil lipídico entre o grupo de machos PS e fêmeas castradas PS, mostrando que a ovariectomia induziu alterações similares dos parâmetros de risco cardiovascular nas ratas castradas quando comparadas com ratos machos. Concordantemente, outros estudos não encontraram diferenças nos níveis de CT, TG e LDL entre grupos de machos e fêmeas submetidos à PS, embora tenham observado níveis de HDL maiores entre ratas castradas⁵. O nível de PT não variou significativamente nos animais submetidos à PS em relação aos controles. Quanto às aminotransferases, os resultados foram discordantes dos encontrados na literatura não ocorrendo alteração significativa entre os grupos (TABELA 02).

CONCLUSÃO:

De modo geral, os parâmetros de risco cardiovascular de fêmeas castradas exibiram semelhança com aqueles encontrados nos machos após PS, comprovando a influência hormonal. A análise bioquímica também evidencia que a insônia em ratas menopausadas artificialmente, no tempo de PS aqui utilizado, parece não impor alterações nos marcadores de risco cardiovascular quando comparadas com ratas intactas. Novos estudos, com períodos e protocolos de PS distintos e que envolvam terapias de reposição hormonal em ratas castradas podem ser úteis para emitir conclusões.

PALAVRAS-CHAVE: Privação de sono. Massa corpórea. Ovariectomia.

REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICAS:

1. VAN CAUTER E, SPIEGEL Karine, TASALI Esra, LEPROULT Rachel. Metabolic consequences of sleep and sleep loss. *Sleep Medicine*, v. 9, Supl. 1, p. S23–S28, 2008.
2. KOBAN, Michael; SITA, Luciane V; LE, Wei Wei; HOFFMAN, Gloria E. Sleep Deprivation of Rats: The Hyperphagic Response Is Real. *SLEEP*, Vol. 31, No. 7, 2008.
3. JOUVET, D.; VIMONT E.; DELORME F.; JOUVET M. Etude de la privation sélective de la phase paradoxale de sommeil chez le chat. *Compt. Rend. Soc. Biol.*, v.158, p.756–759, 1964.
4. KOBAN, Michael; STEWART, Craig V. Effects of age on recovery of body weight following REM sleep deprivation of rats. *Physiology & Behavior*, v. 87, p.1– 6, 2006.
5. I.B.ANTUNES, M.L.ANDERSEN, T.A.F.ALVARENGA,S.TUFIK. Effects of paradoxical sleep deprivation on blood parameters associated with cardiovascular risk in intact and ovariectomized Rats compared with male rats. *Behavioural Brain Research* 176 (2007)187–192.