

EFEITO DO ESTRESSE CRÔNICO VARIADO SOBRE O COMPORTAMENTO ALIMENTAR E ATIVIDADE DA ACETILCOLINESTERASE EM RATOS

CAROLINE MACHADO¹; FABIANO SOARES²; PAMELA VITÓRIA², GIOVANA DUZZO GAMARO², ROSELIA SPANEVELLO³

¹Universidade Federal de Pelotas – *smachado.caroline@gmail.com*

²Universidade Federal de Pelotas – *fabiano_soares@gmail.com*

²Universidade Federal de Pelotas - *pamelasvitoria@yahoo.com.br*

²Universidade Federal de Pelotas - *roberta_fs@yahoo.com.br*

³Universidade Federal de Pelotas – *rspanevello@gmail.com*

1. INTRODUÇÃO

O estresse é um estado fisiológico de resposta do organismo a diferentes situações que causam alterações na homeostase do corpo. Essa resposta frente a uma situação de estresse inclui a ativação do eixo hipotálamo-hipófise-adrenal culminando com a liberação dos glicocorticoides. Esses hormônios liberados podem modular a função neuroendócrina, o comportamento alimentar bem como aspectos cognitivos, sendo que seus efeitos dependerão da intensidade, duração e tipo de agente estressor (LICINIO, 2005).

O estresse crônico pode contribuir para o desenvolvimento de muitas patologias como obesidade, resistência à insulina, hipertensão como também alterações neurológicas incluindo ansiedade, depressão e déficits cognitivos, entretanto os mecanismos envolvidos nessas alterações ainda não são totalmente elucidados.

A acetilcolina (ACh) é um neurotransmissor excitatório do sistema nervoso central (SNC) com importante papel em funções cognitivas como aprendizado e memória. A acetilcolinesterase (AChE) é a enzima responsável pela hidrólise da ACh em acetato e colina. Esta enzima é encontrada principalmente em sinapses dos SNC, periférico parassimpático e da junção neuromuscular sendo considerada atualmente um importante alvo terapêutico em muitas doenças neurológicas. Nesse contexto, é importante ressaltar que estudos tem demonstrado que estresse por imobilização causa alterações na atividade da AChE cerebral de ratos, sugerindo assim que o sistema colinérgico possui um papel na resposta do organismo ao estresse (DAS et al., 2000). Entretanto, estudos avaliando a atividade dessa enzima em modelos de estresse crônico variado não têm sido descritos na literatura.

Sendo assim o objetivo do presente trabalho foi avaliar o consumo de alimentos palatáveis bem como a atividade da AChE em hipotálamo, hipocampo e córtex de ratos submetidos a um protocolo de estresse crônico variado.

2. METODOLOGIA

Foram utilizados ratos Wistar machos adultos os quais foram divididos em dois grupos (n=8 cada grupo): controles e estressados. Os animais foram mantidos em um ambiente com temperatura controlada (23°C ± 1) e com um ciclo de 12 horas claro/escuro recebendo água e ração *ad libitum* durante o período experimental.

O protocolo de estresse crônico (ECV) variado foi aplicado como descrito por Gamaro et al. (2003) com algumas modificações. A indução do estresse consistiu na aplicação diária de um agente estressor diferente a cada dia, variando em sua duração e no período de aplicação a fim de minimizar a previsibilidade. Foram utilizados os seguintes agentes de estressores: 10 minutos de ruído, 1-3 horas de retenção de movimento, 1,5-2 h de restrição a 4° C, luz intermitente durante 120-210 minutos, isolamento 3 dias, inclinação das gaiolas a 45° 4-6 h, nado forçado por 10-15 minutos. A restrição foi realizada pela colocação do animal no tubo de plástico de diâmetro regulável de modo a incapacitar o animal de se mover, sem priva-lo de respirar. A exposição à luz intermitente foi efetuada com uma lâmpada de 40 W, que piscava em uma frequência de 60 flashes por minuto.

Os animais foram submetidos a ECV durante 50 dias. Aos 44 dias de estresse os animais foram habituados à tarefa de comportamento alimentar durante cinco dias onde foram submetidos a restrição alimentar de 30%. O teste de comportamento alimentar consistia em colocar o animal em uma caixa retangular com tampa de acrílico, por 3 min. No seu interior, havia um recipiente com 10 unidades de alimento palatável doce (Froot Loops® da Kellogs). Após o período de habituação, realizou-se o teste comportamental no estado de jejum e alimentado (Ely et al., 1997).

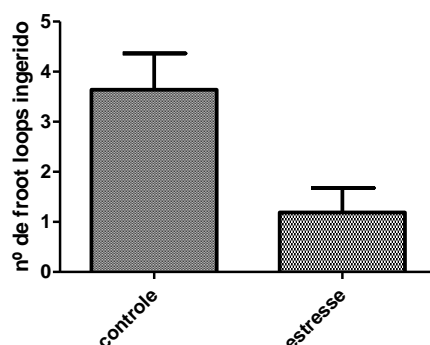
Após os 50 dias de ECV, os animais foram submetidos à eutanásia e o encéfalo foi removido e dissecado em hipocampo, estriado e hipotálamo e homogeneizadas em tampão Tris-HCl 10 mM. O homogeneizado foi submetido à centrifugação a 1000g por 10 min, e o sobrenadante obtido foi utilizado no ensaio enzimático. A atividade da AChE foi determinada de acordo com o método de Ellmann et al. (1961). A atividade da AChE foi expressa em μmol de acetilcolina hidrolisada/hora/mg de proteína.

Os dados foram analisados por Test t de student. A diferença entre os grupos foi considerada significativa quando $P < 0.05$. Todos os dados foram expressos como média \pm erro padrão.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados demonstraram que o comportamento alimentar foi alterado nos animais submetidos ao ECV. Tanto no estado alimentado quanto no jejum houve diminuição significativa no consumo de alimento doce nos animais estressados quando comparado ao grupo controle ($P < 0.05$ Figura 1). Isso nos sugere que o ECV leva a indução de anedonia (perda de prazer pelas coisas) que nos animais se infere pelo consumo de alimentos palatáveis.

Consumo de alimento doce no estado alimentado



Consumo de alimento doce no jejum

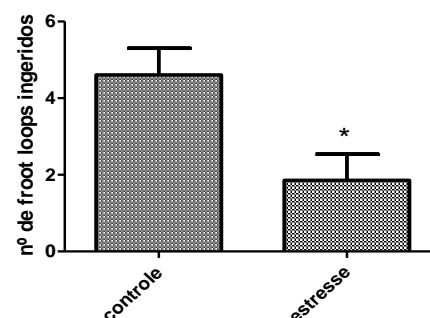


Figura 1. Número de Froot Loops ingeridos após 40 dias de ECV. * Diferente do controle. Teste t (P = 0,014)

Os resultados obtidos em relação a AChE demonstraram que não houve alteração significativa na atividade dessa enzima em hipocampo, estriado e hipotálamo em animais submetidos ao ECV quando comparado ao grupo controle. Estudos da literatura tem demonstrado diminuição na atividade da AChE cerebral após protocolos agudos de estresse por imobilização (DAS et al., 2000). Esses dados sugerem que o estresse crônico pode modular a sinalização colinérgica em diferentes regiões cerebrais.

4. CONCLUSÕES

O protocolo usado nesse estudo se difere de outros protocolos de estresse crônico pelo fato de usar diferentes agentes estressores, causando assim, a imprevisibilidade e diminuindo a adaptação ao estresse. Sendo assim, esse estudo demonstra que o ECV causa alteração alimentar evidenciado pela diminuição do consumo de alimento doce enquanto que a atividade da AChE em diferentes estruturas cerebrais não foi alterada.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

MARGIS, R.; PICON, P.; COSNER, A. F.; SILVEIRA, R. O. Relação entre estressores, estresse e ansiedade. **Revista de Psiquiatria do Rio Grande do Sul – SPRS**, Porto Alegre, v. 25, p. 65-74, 2003.

DAS, A. ; KAPOOR, K. ; SAYEEPRIYADARSHINI, A. T. ; DIKSHIT, M. ; PALIT, G. ; NATH, C. Immobilization stress-induced changes in brain acetylcholinesterase activity and cognitive function in mice. **Pharmacological Research**, V. 42, N. 3, p. 213-217, 2000.

ELY, D. R.; DAPPER, V.; MARASCA, J.; CORRÊA, J. B.; GAMARO, G. D.; XAVIER, M. H.; MICHALOVSKI, M. B.; CATELLI, D.; ROSAT, R.; FERREIRA, M. B. C.; DALMAZ, C. Effect of restraint stress on feeding behavior of rats. **Physiol. Behav**, V. 61, P. 395-398, 1997.

GAMARO, G.D.; MANOLI, L.P.; TORRES, I.L.S. et. al. Effects of chronic variate stress on feeding behavior and on monoamine levels in different rat brain structures. **Neurochem Int**, v. 42, p.107–114, 2003.

TAGLIARI, B.; TAGLIARI, A.P.; SCHMITZ, F.; CUNHA, A.T.S.; DALMAZ, C.; WYSE, A.T.S. Chronic Variable Stress Alters Inflammatory and Cholinergic Parameters in Hippocampus of Rats. **Springer Science+Business Media**, v.36, p.487-493, 2010.