

EFETOS ELETROFISIOLOGICOS DO TRATAMENTO COM HOMÔNIOS OVARIANOS: AVALIAÇÃO EM RATAS NORMONUTRIDAS

Emerson Leonardo de Moura Santos¹; Rubem Carlos Araújo Guedes²

¹Estudante do Curso de Medicina - CCS– UFPE; E-mail: ebsu.leonardo@hotmail.com,

²Docente/pesquisador do Depto de Nutrição –LAFINNT – UFPE. E-mail: guedes.rca@gmail.com

Sumário: Este trabalho avaliou efeitos eletrofisiológicos na idade adulta do tratamento precoce com estradiol ou progesterona ambos na concentração de 25µg/kg. Para isso foram utilizadas 40 ratas divididas em quatro grupos de acordo com o tratamento (estradiol, progesterona, veículo e ingênuo). O tratamento foi realizado em dias alternados entre 7–21 dias de vida, e com 90-120 dias de vida os animais foram submetidos ao registro eletrofisiológico da depressão alastrante cortical (DAC). Foi verificado que a administração crônica de 25µg/kg de estradiol ou progesterona não alterou as velocidades de propagação da DAC quando comparadas aos grupos controle.

Palavras-chave: desenvolvimento cerebral, estradiol, progesterona, DAC, ratas

INTRODUÇÃO

Nos últimos anos, o conhecimento de como os hormônios ovarianos interferem no desenvolvimento das funções cerebrais dos mamíferos tem aumentado substancialmente. No cérebro em desenvolvimento o estradiol exerce efeitos sobre a excitabilidade cerebral atenuando a excito-toxicidade mediada pelo glutamato e reforçando as respostas GABAérgicas despolarizantes, específicas do período de desenvolvimento cerebral. Estudos a partir de modelos animais indicam que o cérebro é realmente sensível à progesterona durante períodos críticos do seu desenvolvimento e maturação. Receptores de progesterona são transitoriamente expressos durante o desenvolvimento fetal e neonatal. A progesterona é capaz de promover crescimento dendrítico, espinogênese e sinaptogênese nas células de Purkinje em desenvolvimento. Um modelo útil para o estudo das relações entre os hormônios gonadais femininos e excitabilidade cerebral constitui-se no fenômeno da depressão alastrante cortical (DAC). A DAC é um fenômeno eletrofisiológico caracterizado por uma resposta do tecido nervoso quando submetido a algum estímulo químico, elétrico ou mecânico (LEÃO, 1944a, b).

MATERIAIS E MÉTODOS

A amostra foi composta por 40 ratas nutridas da linhagem Wistar subdivididas em 4 grupos, sendo 2 grupos experimentais (denominados “grupo estrógeno” e “grupo progesterona”) e 2 controles (denominados **veículo** e ingênuo), a saber: a) Grupo Estrógeno (E): Composto por 10 ratas tratadas com estrógeno dissolvido em óleo de soja; b) Grupo Progesterona (P): Composto por 10 ratas tratadas com progesterona dissolvida em óleo de soja; c) Grupo Veículo (V): Composto por 10 ratas tratadas apenas com óleo de soja; d) Grupo Ingênuo (I) formado por 10 fêmeas isentas de qualquer tratamento. Os animais dos grupos E e P receberam por via intraperitoneal entre os 7 e 21 dias de vida 25µg/kg de estradiol (grupo E) ou progesterona (grupo P) (Sigma Aldrich), dissolvidos em 0,1 ml de óleo de soja, e os animais do grupo V receberam injeções do veículo (óleo de soja) no mesmo volume e no mesmo período dos grupos experimentais. Foram utilizadas

ratas albinas da linhagem Wistar provenientes da colônia do Departamento de Nutrição da Universidade Federal de Pernambuco (UFPE), mantidas nas condições padrão do biotério e com livre acesso a água e comida, e quando atingiram a idade adulta (90 dias), foram submetidas ao registro eletrofisiológico da DAC. Para o registro eletrofisiológico, os animais foram anestesiados, por via intraperitoneal, com uma mistura de uretana a 10% + cloralose a 0,4% (à dose de 1g/kg+40mg/kg, respectivamente) e submetidos à trepanação de 3 orifícios ao nível do hemisfério direito (um orifício para estimulação e 2 para o registro). A DAC foi registrada em 2 pontos corticais, por 4 horas contínuas, em um sistema digitalizador (EMG System, São Paulo) e gravado em computador. O fenômeno foi deflagrado a cada 20-30 minutos por estimulação química na região frontal, sendo utilizado para isto o cloreto de potássio (KCl) a 2%, aplicado durante 1 minuto. Durante o registro, a temperatura retal do animal foi mantida estável ($37^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$) por meio de um aquecedor elétrico. A velocidade de propagação da DAC foi calculada com base na distância entre dois eletrodos registradores e no tempo gasto pela DAC para percorrer a distância entre os mesmos. A análise estatística foi realizada por meio da análise de variância (ANOVA), seguida do teste de Holm-Sidak, quando indicado. Foram consideradas estatisticamente significantes as diferenças em que $p < 0,05$

RESULTADOS

Os resultados obtidos demonstram que a administração precoce de $25\mu\text{M}$ de estradiol ou progesterona ($3,43 \pm 0,11$ e $3,41 \pm 0,07$ mm/min, respectivamente) durante o desenvolvimento não alterou a velocidade de propagação da DAC quando comparada aos grupos controles veículo e ingênuo ($3,34 \pm 0,09$ e $3,39 \pm 0,09$ mm/min, respectivamente). Podemos visualizar estes resultados através da figura 1.

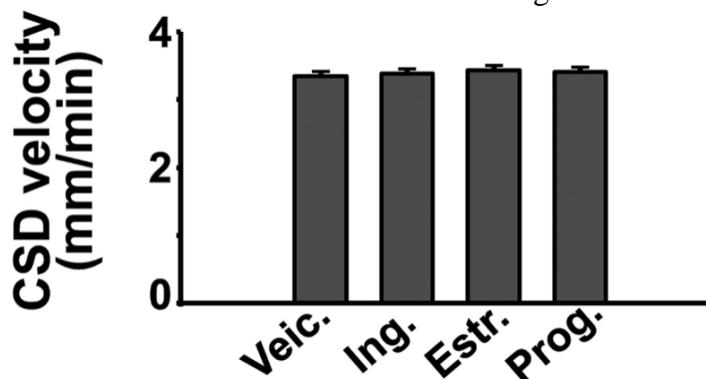


Fig. 1- Velocidade de propagação da DAC em mm/min nos grupos Veículo, Ingênuo, Estradiol e Progesterona. Não há diferenças significantes entre os grupos.

DISCUSSÃO

Ainda não se conhecem os mecanismos pelos quais os hormônios ovarianos podem modular a propagação da DAC. Em camundongos os limiares para DAC são menores em fêmeas que em machos (BRENNAN et al, 2007). O estrogênio é considerado responsável por velocidades de propagação da DAC mais altas em ratas Wistar geneticamente sensíveis a convulsões audiogênicas (GUEDES et al, 2009). Em camundongos fêmeas “nocautes” para enxaqueca hemiplégica familiar tipo 1, a susceptibilidade à DAC foi maior que nos machos na mesma condição e esse aumento foi abolido com a ovariectomia e parcialmente restaurado com tratamento com estradiol (EIKERMANN-HAERTER et al, 2009).

Um estudo in vitro, realizado na Alemanha, em ratas adultas sugere uma possível influência facilitadora, dose-dependente, dos hormônios ovarianos sobre a DAC (SACHS

et al, 2007). Um estudo anterior do nosso laboratório analisou as relações entre a deficiência crônica dos hormônios ovarianos e o cérebro em desenvolvimento, demonstrando, em ratas adultas, que a ovariectomia bilateral no início da vida tornou os seus cérebros menos susceptíveis à DAC (ACCIOLY et al, 2012).

Na concentração estudada de 25µg/kg de estradiol ou progesterona não houve efeito sobre a velocidade de propagação da DAC na idade adulta, apontando para a necessidade de mais estudos afim de entender os mecanismos adjacentes a ação desses hormônios sobre a eletrofisiologia do sistema nervoso.

CONCLUSÕES

A partir do padrão da depressão alastrante cortical (DAC), avaliou-se o efeito do tratamento precoce com estradiol ou progesterona sobre desenvolvimento cerebral. Ao contrário do que foi observado com doses hormonais maiores (tese de doutorado da aluna Noranege Epifânio Accioly), a velocidade de propagação da DAC não foi alterada com o tratamento sistêmico de estradiol ou progesterona na concentração de 25µg/kg para ambos os hormônios estudados, dissolvidos em 0,1 ml de óleo de soja.

Tais resultados contribuem para maior compreensão dos efeitos dos hormônios ovarianos sobre o cérebro e complementa o estudo sobre o fenômeno da DAC; entretanto faz-se necessário continuar a investigação para que se possa extrapolar esses resultados para os seres humanos.

AGRADECIMENTOS

Agradeço à PROPESQ, por estimular a produção científica na Universidade. Ao meu orientador, professor Rubem Guedes, responsável por coordenar esta pesquisa, à Noranege E. Accioly que contribuiu para o desenvolvimento deste trabalho, aos meus familiares e amigos.

REFERÊNCIAS

- ACCIOLY, N.E.; BENEVIDES, R.D.L.; ANDRADE-DA-COSTA, B.L.S.; GEDES, R.C.A. Ovariectomy in the developing rat desaccelerates cortical spreading depression in adult brain. *Int. J Devl Neuroscience*; 30: 405-410, 2012.
- BRENNAN, K.C.; ROMERO, R.M.; LOPEZ-VALDEZ, H.E.; ARNOLD, A.P.; CHARLES, A.C. Reduced threshold for cortical spreading depression in female mice. *Ann Neurol*; 61: 603-606, 2007.
- EIKERMANN-HAERTER, K.; DILEKOZ, E.; KUDO, C.; SAVITZ, S.I.; WAEBER, C. Genetic and hormonal factors modulate spreading depression and transient hemiparesis in mouse models of familial hemiplegic migraine type 1. *J Clin Invest*: 119: 99-109, 2009.
- GUEDES, R.C.A.; DE OLIVEIRA, J.A.; AMÂNCIO-DOS-SANTOS, A.; GARCIA-CAIRASCO, N. Sexual differentiation of cortical spreading depression propagation after acute and kindled audiogenic seizures in the Wistar audiogenic rat (WAR). *Epilepsy Res*: 83: 207-214, 2009.
- LEÃO, A.A.P. Spreading depression of activity in the cerebral cortex. *Journal of Neurophysiology*, 7: 359-390, 1944a.
- LEÃO, A.A.P. Pial circulation and spreading depression of activity in the cerebral cortex. *Journal of Neurophysiology*: 7: 391-396, 1944b.