



Evento: XI Seminário de Inovação e Tecnologia

## **EFEITOS DA SUPLEMENTAÇÃO COM GLUTAMINA EM RATOS WISTAR EXPOSTOS AO RUÍDO: UMA ANÁLISE COMPORTAMENTAL <sup>1</sup>**

**EFFECTS OF GLUTAMINE IN NOISE EXPOSED WISTAR RATS: A BEHAVIORAL ANALYSIS <sup>1</sup>**

**Samara Nicole Friske<sup>2</sup>, Letícia Compagnon<sup>3</sup>, Victória Luísa da Rosa Ribeiro<sup>4</sup>, Ana Carolina Ordesto Sprandel<sup>5</sup>, Marcos Soares<sup>6</sup>, Thiago Gomes Heck<sup>7</sup>**

<sup>1</sup> Pesquisa Institucional desenvolvida no Grupo de Pesquisa em Fisiologia UNIJUÍ

<sup>2</sup> Acadêmica de Medicina Veterinária da UNIJUÍ. Bolsista PIBITI-UNIJUÍ.

<sup>3</sup> Acadêmica de Fisioterapia da UNIJUÍ. Bolsista PIBITI-CNPQ.

<sup>4</sup> Acadêmica de Medicina da UNIJUÍ. Bolsista PIBIT-CNPq.

<sup>5</sup> Acadêmica de Biomedicina da UNIJUÍ. Bolsista PIBIT-UNIJUÍ.

<sup>6</sup> Docente do Curso de medicina da UNIJUÍ, Doutorando em Distúrbios da Comunicação Humana pela UFSM.

<sup>7</sup> Professor do Programa de Pós-Graduação em Atenção Integral à Saúde UNICRUZ/UNIJUÍ (PPGAIS).

### **RESUMO**

A exposição ao ruído de modo contínuo e em alta intensidade promove efeitos nocivos ao corpo. Ele causa danos definitivos ou temporários nas células sensoriais da cóclea por gerar estresse oxidativo. O ruído também pode gerar a produção de espécies reativas de oxigênio no cérebro, que é vulnerável a danos causados pela peroxidação lipídica, o que pode comprometer a aprendizagem e a memória de animais expostos ao ruído. Estudos demonstram que a proteína de choque térmico de 70kDa (HSP70) pode proteger a cóclea do dano. A glutamina atua aumentando a expressão da glutatona, uma defesa antioxidante, e da HSP70. Portanto, este trabalho busca avaliar se a suplementação com glutamina é capaz de diminuir os efeitos da exposição ao ruído sobre o comportamento. Apesar da glutamina ser um potencial precursor de antioxidantes, a sua suplementação na dose testada não foi capaz de evitar alterações comportamentais em ratos expostos ao ruído.

**Palavras-chave:** Ruído. Comportamento. Glutamina. Estresse Oxidativo

### **INTRODUÇÃO**

A exposição ao ruído causa um dano definitivo ou temporário nas células sensoriais da cóclea. Ele age no órgão gerando uma intensa atividade metabólica que leva a produção de espécies reativas de oxigênio (EROS), gerando uma condição de estresse oxidativo, que é responsável pelo dano celular (BARREIROS; DAVID; DAVID, 2006; HENDERSON et al., 2006). Além de levar ao estresse oxidativo na cóclea, o ruído pode levar a produção de espécies reativas de oxigênio em outros órgãos, como o cérebro. As células cerebrais são especialmente vulneráveis aos danos dos radicais livres causados pela peroxidação lipídica por ter uma maior quantidade de gorduras insaturadas na sua composição (MANIKANDAN;



DEVI, 2005). O aumento do estresse oxidativo no cérebro pode comprometer a aprendizagem e a memória em animais induzidos por ruído (ARJUNAN; RAJAN, 2020).

A proteína de choque térmico de 70kDa (HSP70) causa uma proteção ao dano auditivo quando suas concentrações estão elevadas na cóclea (YOSHIDA; KRISTIANSEN; LIBERMAN, 1999), pois intracelularmente (iHSP70) promovem citoproteção por mecanismos anti-inflamatórios (HECK; SCHÖLER; DE BITTENCOURT, 2011) e também promovem proteção contra danos oxidativos a proteínas (SMOLKA et al., 2000). A glutamina atua positivamente no estoque intracelular de glutathiona (GSH), uma defesa antioxidante, e também aumenta a expressão de iHSP70 (PETRY et al., 2014). Portanto, o objetivo deste estudo é avaliar se a suplementação com glutamina é capaz de diminuir os efeitos da exposição ao ruído sobre o comportamento a partir de um modelo experimental com ratos.

## METODOLOGIA

Foram utilizadas 15 ratas Wistar, com 60 dias de idade, provenientes do biotério da UNIJUI ( $22 \pm 2$  C° e ciclo claro/escuro de 12 horas). Todos os animais receberam água e ração *ad libitum*. O projeto foi aprovado na CEUA-UNIJUI (no. 058/15). Os animais foram divididos em três grupos de cinco animais cada: Controle, Ruído e Ruído+Glutamina.

Foi utilizada a solução do peptídeo alanilglutamina diluído em água destilada (Dipeptiven®, Fresenius Kabi®) na concentração de 0,2g/mL (SOARES et al., 2020) Os animais do grupo Ruído+Glutamina receberam o tratamento por gavagem em dose única de 1,5 mg/kg, 6h antes da exposição ao ruído. Os demais grupos receberam a dosagem equivalente de água destilada, também por gavagem, 6h antes da exposição ao ruído.

**Exposição ao Ruído:** Os animais dos grupos Ruído e Ruído+Glutamina foram alocados em uma caixa e submetidos a ruído branco (*white noise*), de amplo espectro de frequência, com o pico de intensidade centralizada em 8000Hz, contínuo com nível de 120 dB Nível de Pressão Sonora (NPS), durante duas horas. O ruído branco foi produzido por um gerador de sinal de áudio (EP125, Insight®) e exposto em auto-falantes no centro da caixa. O nível de ruído foi medido com um decibelímetro (Decibelímetro digital TDEC100, Incoterm®) dentro da caixa no início, e após completar a exposição do ruído. O grupo controle também foi alocado na caixa e permaneceu nela durante 2h, sem a exposição ao ruído (SOARES et al., 2020).

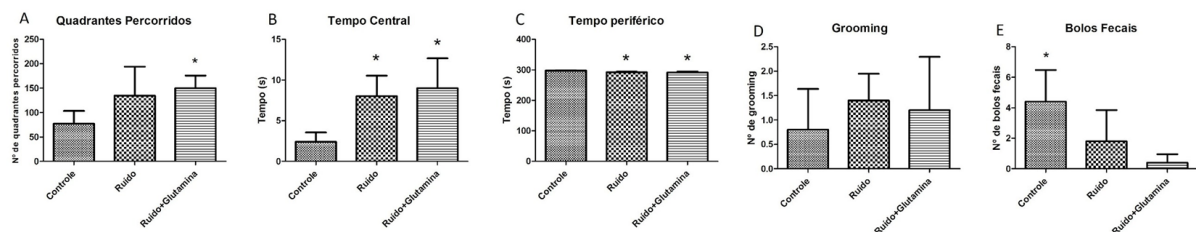
**Teste comportamental:** Foi realizado o teste de campo aberto, logo após a exposição ao ruído. Para este teste foi utilizada uma caixa branca que tem seu fundo dividido em 25



quadrantes onde os animais foram alocados individualmente no centro e observados durante 5 minutos por um pesquisador cegado para os grupos de tratamento. (DENENBERG, 1969; PIETÁ DIAS et al., 2007; WANG et al., 2017)

**Análise estatística:** Foram aplicados os testes: *Kolmogorov-Smirnov* (normalidade); ANOVA de uma via, seguido do Teste *Post Hoc* de *Tukey* ou *Kruskal-Wallis* seguido do Teste *Post Hoc* de *Dunn*. Os resultados são apresentados como média  $\pm$  dp. ( $P < 0,05$ ).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO



**Figura 1.** Efeito da exposição ao ruído e exposição ao ruído associada a suplementação de glutamina em teste comportamental de campo aberto. A: Número de Quadrantes Percorridos.  $P = 0,0335$ , \*Controle vs Ruído+Glutamina. B: Tempo de ambulação central.  $P = 0,0042$ , \*Controle vs Ruído e Ruído+Glutamina. C: Tempo de ambulação periférico.  $P = 0,0042$ , \*Controle vs Ruído e Ruído+Glutamina. D: Número de Grooming.  $P = 0,4419$ . E: Número de Bolos Fecais.  $P = 0,0175$ , \*Controle vs Ruído+Glutamina.

Na Figura 1A podemos observar que o grupo Ruído+Glutamina percorreu uma maior quantidade de quadrantes em relação ao grupo Controle, mostrando o efeito do estresse psicológico. A análise de quadrantes percorridos corresponde ao número de vezes que o animal cruzou os quadrantes marcados no chão, sendo assim uma medida de atividade exploratória (DENENBERG, 1969). Estudos indicam que animais que foram manipulados apresentam menos medo de ambientes novos e também uma atividade de locomoção maior (LEVINE, 1993; MEANEY et al., 1993), o que corrobora com os dados encontrados no nosso estudo. Alterações na distância total percorrida dentro do campo podem indicar desordens neurológicas ou deficiência motora, bem como mudanças no comportamento de ansiedade (ANN-KATRIN KRAEUTER, PAUL C. GUEST, 1989). Além disso, quando se fala em localização do animal no campo o comportamento de andar próximo às paredes se chama timotaxia, é uma reação ao medo onde o animal visa evitar áreas abertas, desconhecidas e potencialmente perigosas sendo um importante comportamento relacionado à ansiedade (CHOLERIS et al., 2001).



Na Figura 1B observamos que tanto o grupo Ruído quanto o grupo Ruído+Glutamina permaneceram nos quadrantes centrais por um período maior em relação ao grupo Controle. E na Figura 1C é possível observar que os grupos Ruído e Ruído+Glutamina permaneceram um menor período nos quadrantes periféricos em relação ao grupo Controle.

*GroomiNg* é uma atividade de auto limpeza, nela o animal esfrega o corpo com as patas ou boca e esfrega a cabeça com as patas (BRANCHI; ALLEVA, 2006). A apresentação do *Grooming* permite estudar o comportamento compulsivo (KALUEFF et al., 2016). Quanto a este parâmetro podemos observar na figura 1D que não houve diferença entre os grupos.

Na Figura 1E observamos que quando comparados os grupos Controle e Ruído+Glutamina o controle teve uma quantidade maior de produção de bolos fecais. Ratos que não defecam no teste de campo aberto são considerados animais menos emocionais já os defecam são mais emocionais (HALL, 1934). Quando um rato é colocado em uma situação estranha, ele normalmente explora, urina e defeca, sendo assim uma ação natural (BINDRA; THOMPSON, 1953).

## CONSIDERAÇÕES FINAIS

Apesar da glutamina ser um potencial precursor de antioxidantes, a sua suplementação, na dose testada, não foi capaz de evitar alterações comportamentais em ratos expostos ao ruído.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ARJUNAN, A.; RAJAN, R. Noise and brain. **Physiology and Behavior**, v. 227, n. August, p. 113136, 2020.
- BARREIROS, A. L. B. S.; DAVID, J. M.; DAVID, J. P. Oxidative stress: Relations between the formation of reactive species and the organism's defense. **Quimica Nova**, v. 29, n. 1, p. 113–123, 2006.
- BINDRA, D.; THOMPSON, W. R. An evaluation of defecation and urination as measures of fearfulness. **Journal of Comparative and Physiological Psychology**, v. 46, n. 1, p. 43–45, 1953.
- BRANCHI, I.; ALLEVA, E. Communal nesting, an early social enrichment, increases the adult anxiety-like response and shapes the role of social context in modulating the emotional behavior. **Behavioural Brain Research**, v. 172, n. 2, p. 299–306, 2006.
- DENENBERG, V. H. Open-Field Behavior in the Rat: What Does It Mean? **Annals of the New York Academy of Sciences**, v. 159, n. 3, p. 852–859, 1969.





- HALL, C. S. Drive and emotionality: factors associated with adjustment in the rat. **Journal of Comparative Psychology**, v. 17, n. 1, p. 89–108, 1934.
- HALL, C. S. Emotional Behavior in the Rat. **Journal of comparative psychology**, v. 18, n. 5, p. 385–403, 1941.
- HECK, T. G.; SCHÖLER, C. M.; DE BITTENCOURT, P. I. H. HSP70 expression: Does it a novel fatigue signalling factor from immune system to the brain? **Cell Biochemistry and Function**, v. 29, n. 3, p. 215–226, 2011.
- HENDERSON, D. et al. The role of oxidative stress in noise-induced hearing loss. **Ear and Hearing**, v. 27, n. 1, p. 1–19, 2006.
- JAFARI, Z.; KOLB, B. E.; MOHAJERANI, M. H. Chronic traffic noise stress accelerates brain impairment and cognitive decline in mice. **Experimental Neurology**, v. 308, n. June, p. 1–12, 2018.
- KALUEFF, A. V. et al. Neurobiology of rodent self-grooming and its value for translational neuroscience. **Nature Reviews Neuroscience**, v. 17, n. 1, p. 45–59, 2016.
- MANIKANDAN, S.; DEVI, R. S. Antioxidant property of  $\alpha$ -asarone against noise-stress-induced changes in different regions of rat brain. **Pharmacological Research**, v. 52, n. 6, p. 467–474, 2005.
- PETRY, É. R. et al. Alanyl-glutamine and glutamine plus alanine supplements improve skeletal redox status in trained rats: Involvement of heat shock protein pathways. **Life Sciences**, v. 94, n. 2, p. 130–136, 2014.
- PIETÁ DIAS, C. et al. Memantine reduces oxidative damage and enhances long-term recognition memory in aged rats. **Neuroscience**, v. 146, n. 4, p. 1719–1725, 2007.
- PRUT, L.; BELZUNG, C. The open field as a paradigm to measure the effects of drugs on anxiety-like behaviors: A review. **European Journal of Pharmacology**, v. 463, n. 1–3, p. 3–33, 2003.
- SERVILHA, E. A. M.; DELATTI, M. DE A. Noise perception in the workplace and auditory and extra-auditory symptoms referred by university professors. **Jornal da Sociedade Brasileira de Fonoaudiologia**, v. 24, n. 3, p. 233–238, 2012.
- SMOLKA, M. B. et al. HSP72 as a complementary protection against oxidative stress induced by exercise in the soleus muscle of rats. **American Journal of Physiology - Regulatory Integrative and Comparative Physiology**, v. 279, n. 5 48-5, p. 1539–1545, 2000.
- SOARES, M. et al. Heat shock response in noise-induced hearing loss: effects of alanyl-glutamine dipeptide supplementation on heat shock proteins status. **Brazilian Journal of Otorhinolaryngology**, v. 86, n. 6, p. 703–710, 2020.
- WANG, Q. et al. The recent progress in animal models of depression. **Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry**, v. 77, n. February, p. 99–109, 2017.
- YOSHIDA, N.; KRISTIANSSEN, A.; LIBERMAN, M. C. Heat stress and protection from permanent acoustic injury in mice. **Journal of Neuroscience**, v. 19, n. 22, p. 10116–10124, 1999.