AVALIAÇÃO DA PRIVAÇÃO DO SONO SOBRE PARAMETROS COMPORTAMENTAIS EM MODELO DE DROSOPHILA MELANOGASTER

Daiana Santos [1]

Daiana Muniz dos Santos [2]

Luiz Felipe Windberg Soares Junior [3]

João Marcos Fonseca [4]

Robson Luiz Puntel [5]

Mathues Chimelo Bianchini [6]

Marcelo Gomes de Gomes [7]

Resumo:

O sono é um estimulo fisiológico que possui diversas funções nos organismos vivos. Entre elas, ele está envolvido em diversos comportamentos, como a consolidação da memória, na aprendizagem, e no controle de comportamentos sociais. A privação/perturbação do sono pode ocasionar a insônia da qual é definida como a queixa de "dificuldade para iniciar ou manter o sono" e/ou "sono não reparador". O objetivo desse trabalho é avaliar as alterações comportamentais de um curto período de privação do sono em modelo de Drosophila melanogaster que além de possuir grande similaridade genética com os mamíferos, também possui semelhanças comportamentais que envolvem comportamentos complexos, entre eles o sono. Como metodologia da pesquisa foi ultilizado os testes Grooming e o Teste de campo aberto para avaliação comportamentalal. De acordo com os resultados as moscas que passaram pelo processo de provação do sono tiveram um aumento do tempo de groming significativo quando comparado ao grupo controle. E quanto ao Teste de campo aberto foi possível observar claramente uma diminuição locomotora da privatização do sono em comparação com o grupo controle. Isso indica que a utilização do modelo da D. melanogaster pode ser útil na busca de novas alternativas para tratar problemas relacionados ao sono, como já apresentadas sobre a privatização do sono, em que leva a problemas locomotores e ansiosos.

Palavras-chave: Privação do sono

Modalidade de Participação: Iniciação Científica

AVALIAÇÃO DA PRIVAÇÃO DO SONO SOBRE PARAMETROS COMPORTAMENTAIS EM MODELO DE DROSOPHILA MELANOGASTER

[1] Aluno de graduação. dmuniz969@gmail.com. Autor principal

[2] Aluno de graduação. dmuniz969@gmail.com. Apresentador

[3] graduando em farmacia. luizjuniorwindberg1999@gmail.com. Co-autor

[4] Graduando em Fármacia. joaofpsmode@gmail.com. Co-autor

[5] Docente. robsonpuntel@unipampa.edu.br. Orientador

[6] Farmacêutico Aluno do PPG em Bioquímica - UNIPAMPA. mathescbianchini@gmail.com. Co-orientador

[7] Doutorando em bioquimica. gomesdegomeslaftambio@gmail.com. Co-orientador

AVALIAÇÃO DA PRIVAÇÃO DO SONO SOBRE PARAMETROS COMPORTAMENTAIS EM MODELO DE *Drosophila melanogaster*

1. INTRODUÇÃO

O sono é um estimulo fisiológico que possui diversas funções nos organismos vivos. Entre elas, ele está envolvido em diversos comportamentos, como a consolidação da memória, na aprendizagem, e no controle de comportamentos sociais (Wang *et al.*, 2011). Contudo, o sono "normal" varia ao longo do desenvolvimento humano quanto à duração, distribuição de estágios e ritmo circadiano (Poyares *et al.*, 2002). O estilo de vida moderno, movimento, é um dos principais fatores que podem contribuir para a desregulação do sono (Abrams, 2015). Para se ter uma boa qualidade de sono é necessário que dois fatores estejam bem definidos 1) um ciclo circadiano bem definido; 2) e um equilíbrio em fatores que podem controlar o sono (Seidner *et al.*, 2015).

A privação/perturbação do sono pode ocasionar a insônia da qual é definida como a queixa de "dificuldade para iniciar ou manter o sono" e/ou "sono não reparador" (Littner *et al.*, 2003). De acordo com (Barbosa, 2012), "dormir pouco ou irregularmente confunde o relógio biológico, deixando-nos com a sensação de cansaço, reduzida capacidade de trabalho, mau humor, menor capacidade de concentração, e maior risco de acidentes". Os distúrbios do sono chegam a expressiva marca de 20% da população mundial (Abrams, 2015).

Há décadas a *D. melanogaster* é um organismo emergente para avaliar/compreender os distúrbios do sono. Além de possuir grande similaridade genética com os mamíferos, também possui semelhanças comportamentais que envolvem comportamentos complexos, entre eles o sono (Franken e Dijk, 2009). Exemplo disso, é o fato de ter sido usada recentemente como instrumento para compreensão do ciclo circadiano pelos ganhadores do Prêmio Nobel, Jeffrey C. Hall, Michael Rosbash and Michael W. Young, de medicina e fisiologia de 2017.

Considerando que o sono é um processo biológico fundamental. Que os distúrbios do sono afligem um valor significativo da população mundial. O objetivo desse trabalho é avaliar as alterações comportamentais de um curto período de privação do sono em modelo de *Drosophila melanogaster*.

2. METODOLOGIA

Desenho Experimental

Foram utilizados neste estudo D. melanogaster do tipo selvagem, de ambos os sexos mantidas sobre temperatura, umidade e ciclo claro/escuro controlados.

Moscas com 1-2 dias foram transferidas para frascos contendo meio de cultura padrão de tratamento (1% ágar, 1% leite em pó, 1% de sacarose e 0,08% de metil-parabeno). As moscas foram divididas em dois grupos (1) CONTROLE, que teve o ciclo claro/escuro 12/12 mantido sem alteração e (2) Privação, que teve o ciclo claro/escuro alterado, sem ter o ciclo escuro de 12 horas devido a exposição a uma luz de LED branca 12V de. Durante o período de 4 dias, após isso foram observados os efeitos sobre o comportamento das Drosophilas.

2.1 Teste do Grooming

O teste do grooming esporádico foi realizado de acordo com (Figueira *et al.*, 2017), e é um teste que tem como objetivo avaliar o comportamento tipo ansioso. O teste foi realizado da seguinte maneira, 3 moscas de cada grupo foram separadas e colocadas individualmente em placas de petri (2X2cm²). Após o período de 10 minutos de ambientação, as moscas foram filmadas pelo o período de 3 minutos. No vídeo foi observado o movimento de grooming (limpeza das antes, asas e abdômen), que foi quantificado o número de vezes e o tempo total que cada animal realizava esse comportamento.

2.2 Teste de campo aberto

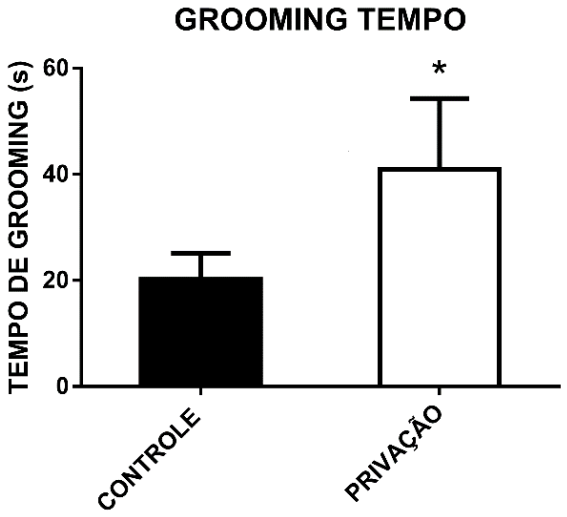
O teste de campo aberto foi realizado de acordo com o método descrito por HIRTH, 2010 (Sudati *et al.*, 2013), e tem como objetivo avaliar o comportamento locomotor. Para a realização do teste, três moscas de cada grupo foram separadas em placas de *petri*, e colocadas em uma arena (10X10cm²) dividida por quadrados (1×1cm). As atividades das moscas foram gravadas com uma câmera de vídeo durante o período de 30 segundos, e foi avaliado o número de quadrados cruzados por cada indivíduo.

2.3 Análise estatística

Os testes comportamentais foram analisados estatisticamente utilizando o teste T de Studant's. A diferença entre os grupos foi considerada significativa quando $p < 0,05$. Os resultados foram expressos em médias e desvio padrão.

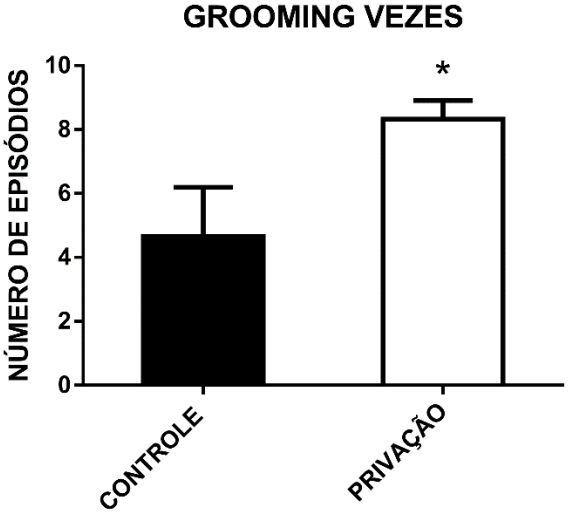
3. RESULTADO E DISCUSSÃO

Figura 1 – Avaliação do tempo de grooming em moscas expostas a privação do sono durante 4 dias. A diferença entre os grupos foi considerada significativa quando p< 0,05. Os resultados foram expressos em médias e desvio padrão



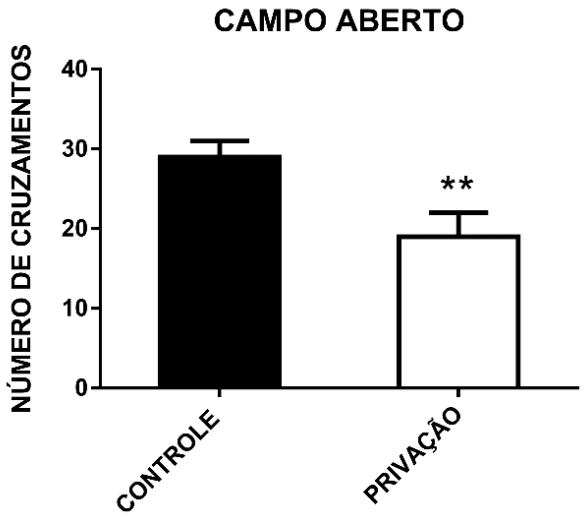
A figura 1 representa a avaliação do teste de grooming, com ênfase no tempo de duração do comportamento de limpeza. As moscas que passaram pelo processo de privação do sono tiveram um aumento do tempo de groming significativo quando comparado ao grupo controle.

Figura 2 – Avaliação do número de episódios de grooming em moscas expostas a privação do sono durante 4 dias. A diferença entre os grupos foi considerada significativa quando p< 0,05. Os resultados foram expressos em médias e desvio padrão



Na figura 2 é a representação da avaliação do número de episódios de grooming. Também, é possível observar que os animais que passaram pela privação do sono tiveram um número maior de episódios de groomings quando comparado ao grupo controle.

Figura 3 – Avaliação locomotora das moscas expostas a privação do sono durante 4 dias. A diferença entre os grupos foi considerada significativa quando p< 0,05. Os resultados foram expressos em médias e desvio padrão



Na figura 3 demonstra os resultados do teste do campo aberto, que tem como objetivo medir a existência de algum transtorno locomotor. Nos animais que tiveram a privação do sono, observamos que tiveram uma diminuição significativa no número de cruzamentos quando comparado ao grupo controle, demonstrando uma diminuição locomotora das moscas.

Distúrbios do sono podem ser causados pelo comprometimento do ciclo circadiano, nosso estudo induziu uma privação do sono, comprometendo o ciclo claro/escuro durante 4 dias com animais expostos a luz. Esse estudo demonstrou que os animais que sofreram de privação do sono tiveram alterações comportamentais. Dessa forma, o teste de grooming Fig 1 e 2 demonstraram tempo e número de episódios aumentado, esse tipo de comportamento é facilmente associado com comportamento tipo ansioso. Esse que é um comportamento facilmente encontrado em pessoas que sofrem da privação do sono. Além disso, na Fig 3 encontramos um déficit locomotor nos animais que passaram pela privação do sono. Em ambos os comportamentos ele é medido pela via dopaminérgica, quando há uma diminuição desse neurotransmissor essas alterações podem ser encontras. Em outro estudo que os animais foram expostos a um pesticida, atrazina, também foi observado o aumento do comportamento do grooming e déficit locomotor, associado a isso, encontraram a diminuição em enzimas relacionadas a biossíntese de dopamina (Figueira *et al.*, 2017). Também, foi demonstrado que uma privação do sono em D. melanogaster durante o período de 7 dias é capaz de induzir um déficit locomotor e uma diminuição na expressão de RNAm de enzimas precursoras da via dopaminérgica (Rodrigues *et al.*, 2018).

3. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Dessa forma, nossos resultados demonstram que a privação do sono leva a problemas comportamentais, como, mudanças no perfil do comportamento locomotor e tipo ansioso. Também, contribui para demonstrar que a utilização do modelo da D. melanogaster pode ser útil na busca de novas alternativas para tratar problemas relacionados ao sono. Entretanto, ainda se faz necessário mais estudos para compreender os mecanismos pelos quais a privação do sono pode ser prejudicial.

REFERÊNCIAS

ABRAMS, R. M. Sleep Deprivation. **Obstetrics and Gynecology Clinics of North America**, v. 42, n. 3, p. 493-506, 2015/09/01/ 2015. ISSN 0889-8545.

BARBOSA, R. M. D. S. P. Resenha do livro "Atividade Física, Saúde e Qualidade de Vida: conceitos e sugestões para um estilo de vida ativo", de Markus Vinicius Nahas. **Revista Brasileira de Ciências do Esporte**, v. 34, p. 513-518, 2012. ISSN 0101-3289.

FIGUEIRA, F. H. et al. Exposure to atrazine alters behaviour and disrupts the dopaminergic system in Drosophila melanogaster. **Comp Biochem Physiol C Toxicol Pharmacol**, v. 202, p. 94-102, Nov 2017. ISSN 1532-0456.

FRANKEN, P.; DIJK, D. J. Circadian clock genes and sleep homeostasis. **Eur J Neurosci**, v. 29, n. 9, p. 1820-9, May 2009. ISSN 1460-9568.

LITTNER, M. et al. Practice parameters for using polysomnography to evaluate insomnia: an update. **Sleep**, v. 26, n. 6, p. 754-60, Sep 2003. ISSN 0161-8105.

POYARES, D. R. et al. Can valerian improve the sleep of insomniacs after benzodiazepine withdrawal? **Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry**, v. 26, n. 3, p. 539-45, Apr 2002. ISSN 0278-5846.

RODRIGUES, N. R. et al. Short-term sleep deprivation with exposure to nocturnal light alters mitochondrial bioenergetics in Drosophila. **Free Radic Biol Med**, v. 120, p. 395-406, May 20 2018. ISSN 1873-4596.

SEIDNER, G. et al. Identification of Neurons with a Privileged Role in Sleep Homeostasis in Drosophila melanogaster. **Curr Biol**, v. 25, n. 22, p. 2928-38, Nov 16 2015. ISSN 1879-0445.

SUDATI, J. H. et al. Valeriana officinalis attenuates the rotenone-induced toxicity in Drosophila melanogaster. **Neurotoxicology**, v. 37, p. 118-26, Jul 2013. ISSN 1872-9711.

WANG, G. et al. Synaptic plasticity in sleep: learning, homeostasis and disease. **Trends Neurosci**, v. 34, n. 9, p. 452-63, Sep 2011. ISSN 1878-108X.