

Índice

Resumo	III
Abstract	IV
1. Introdução	1
1.1 Origem e Toxicidade da Amónia	1
1.2 Estratégias utilizadas para evitar intoxicação por amónia	3
1.2.1 Redução de produção de amónia	3
1.2.2 Excreção activa de iões de amónio	4
1.2.3 Produção de Glutamina	4
1.2.4 Transformação de Amónia em Ureia	5
1.3 Ciclo da ureia	6
1.4 Ureotelismo	8
1.4.1 Elasmobrânquios	8
1.4.2 Teleósteos	9
1.5 O caso do xarroco lusitano, <i>Halobatrachus didactylus</i>	10
1.6 Objectivos	11
2. Material e métodos	11
2.1 Animais	11
2.2 Experiências <i>in-vitro</i>	12
2.2.1 Amostragem de fígados	12
2.2.2 Aferição de protocolos	12
2.2.3 Resposta hepática à amónia e cortisol	13
2.3 Experiências <i>in-vivo</i>	14
2.3.1 Resposta fisiológica à amónia ambiental	14
2.3.2 Resposta fisiológica à injeção de cortisol	15
2.4 Métodos analíticos	16
2.4.1 Determinação da actividade enzimática da GSase	16
2.4.1.1 Homogenização dos tecidos	16
2.4.1.2 Actividade enzimática da GSase	16
2.4.1.3 Determinação da concentração de proteína total	17

2.5	Análise de Na ⁺ /K ⁺ - ATPase e H ⁺ -ATPases em brânquias	18
2.6	Análise da amónia nas amostras de água	18
2.7	Análise de ureia nas amostras de água	19
2.8	Parâmetros analisados nas amostras de plasma	20
2.9	Amónia no plasma	20
2.10	Ureia no plasma	20
2.11	Cálcio no plasma	20
2.12	Fósforo no plasma	21
2.13	Ião cloreto no plasma	21
2.14	Glucose no plasma	21
2.15	Lactato no plasma	22
2.16	Osmolaridade	22
3.	Resultados	23
3.1	Experiências <i>in-vitro</i>	23
3.1.1	Aferição do protocolo para determinação da GSase	23
3.1.2	Resposta da GSase à amónia.....	24
3.1.3	Resposta da GSase ao cortisol.....	25
3.1.4	Resposta da GSase à forskolina	26
3.2	Experiências <i>in-vivo</i>	26
3.2.1	Resposta do ciclo da ureia-ornitina à amónia ambiental.....	26
3.2.1.1	Análise das amostras de água.....	27
3.2.1.2	Análise de cortisol, glucose e lactato no plasma	31
3.2.1.3	Análise dos iões plasmáticos	33
3.2.1.4	Actividade enzimática branquial	35
3.2.1.5	Actividade enzimática da GSase	37
3.2.2	Resposta fisiológica ao cortisol (injectado)	39
3.2.2.1	Osmolaridade	43
3.2.2.2	Actividade enzimática branquial	43
3.2.2.3	Actividade enzimática da GSase	44
4.	Discussão	45
4.1	Actividade da GSase em incubações <i>in-vitro</i>	46
4.2	Efeitos da exposição à amonia <i>in-vivo</i>	47
4.3	Actividade das ATPases branquiais	50

4.4 Resposta da GSase à amónia ambiental e ao aumento de cortisol	51
4.5 Resposta da GSase ao cortisol injectado	52
4.6 Comparação dos vários ensaios	53
5. Conclusão	54
6. Referências Bibliográficas	55