

## EFEITOS DO ESTRESSE FÍSICO E PSICOLÓGICO JUVENIL SOBRE A GLÂNDULA SUPRARRENAL EM RATOS ADULTOS

Kathia Terumi Kato (PIC/Uem), Carmem Patricia Barbosa (Orientadora)  
e-mail: carmemmec1@gmail.com

Universidade Estadual de Maringá / Centro de Ciências Biológicas / Maringá,  
PR.

### Ciências Biológicas - Morfologia

**Palavras-chave:** Exaustão, sistema endócrino, morfologia.

### Resumo

Estresse é a resposta aos diferentes estímulos que o organismo sofre em busca de adaptação à homeostasia. Devido sua alta incidência, diversos modelos experimentais estão sendo desenvolvidos para a melhor compreensão de sua interação com outros órgãos. Neste contexto, o objetivo deste estudo foi avaliar os efeitos do estresse físico e psicológico juvenil sobre as glândulas suprarrenais de ratos no que se refere aos aspectos morfológicos, pois tais glândulas apresentam relação direta com situações de estresse. Para tanto, as glândulas suprarrenais destes animais foram processadas e coradas com hematoxilina-eosina e análises morfológicas da medula e do córtex foram realizadas por meio de morfometria e quantificação por planimetria. Os resultados obtidos não demonstraram alterações significativas em relação à área de superfície e espessura das suprarrenais, indicando adaptação dos animais aos fatores estressantes aqui estudados. Concluiu-se assim que o período de exposição ao estresse é crucial às modificações morfológicas de tais glândulas.

### Introdução

O estresse é uma resposta complexa do organismo frente a diferentes estímulos, aos quais o organismo busca adaptação. A incidência do estresse vem aumentando a cada dia, tornando este mal a grande preocupação do século. De acordo com a presidente da Associação Internacional de Controle do Estresse (SÁ, 2017), o Brasil é o segundo país que mais sofre as consequências do estresse, ficando atrás somente do Japão. No intuito de melhor compreender os mecanismos que envolvem o estresse e seus males associados, vários modelos experimentais, principalmente modelos de estresse físico e psicológico, estão sendo realizados com o objetivo de promover melhorias na saúde. Estudos apontam que tanto o estresse físico quanto o psicológico estão diretamente relacionados às mudanças químicas e estruturais em diversas regiões do cérebro, especialmente no sistema límbico. O eixo hipotalâmico-pituitário-adrenal (HPA) é um conjunto de estruturas responsáveis pelo mecanismo de resposta do corpo a situações estressantes. O papel da glândula suprarrenal

neste mecanismo é induzir à liberação de moléculas como adrenalina e glicocorticoides nas situações de “luta ou fuga”, sendo portanto, fundamental nas respostas ao estresse (GUEST et al., 2013). Neste contexto, o objetivo deste estudo foi analisar os efeitos tardios do estresse físico e psicológico sobre a morfologia das glândulas suprarrenais de ratos submetidos ao estresse na fase juvenil.

## Materiais e métodos

Todo protocolo experimental foi previamente aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da Universidade Estadual de Maringá (UEM), sob parecer número 4993050617.

Foram utilizados 21 ratos Wistar machos (*Rattus norvegicus*) com 22 dias de idade provenientes do biotério central da Universidade Estadual de Maringá (UEM) e mantidos no biotério setorial do Departamento de Ciências Morfológicas (DCM) da UEM. Os animais foram aleatoriamente distribuídos em três grupos (n=7): Controle (C), Estresse Físico (EF) e Estresse Psicológico (EP). Os grupos EF e EP foram submetidos a experimentos entre o 25º e 27º dias, por três dias consecutivos.

Para o modelo experimental de EF, os animais foram colocados individualmente em tubo flexível de PVC com abertura frontal que permitia respiração, mas limitava os movimentos. Este procedimento foi realizado em três sessões de 30 minutos cada, com intervalos de 15 minutos entre as sessões. No modelo experimental de EP os animais foram colocados individualmente em uma caixa plástica transparente em frente a outra caixa, com tela de arame onde, uma gata adulta foi alojada junto a 100 ml de sua urina. Os ratos foram mantidos na caixa em duas sessões de 10 minutos com intervalos de 05 minutos entre as sessões.

Aos 64 dias de idade os animais de todos os grupos foram eutanasiados e a laparotomia realizada para a retirada das glândulas suprarrenais. Os órgãos foram incluídos em parafina a 58-62°C para obtenção de cortes semi-seriados de 10 µm de espessura, quando tanto a medula quanto o córtex da glândula suprarrenal eram identificados. Uma a cada 5 secções aleatórias foram distribuídas em lâminas e coradas com hematoxilina-eosina. Foram realizadas 20 secções para cada animal.

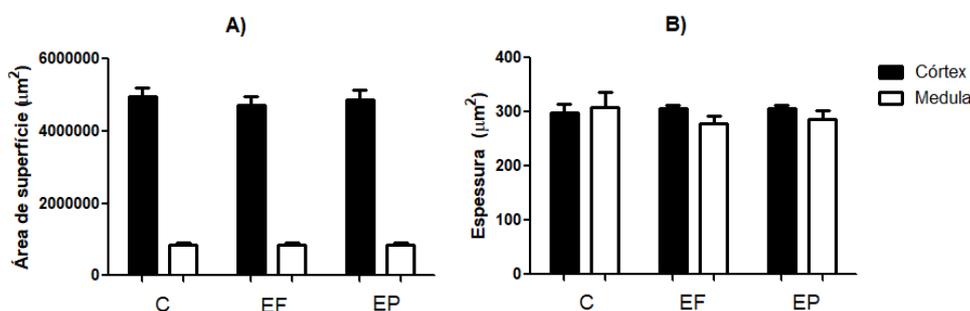
As glândulas suprarrenais foram analisadas por meio de dois métodos: planimetria e morfometria. Para tanto, 7 secções aleatórias de cada animal foram selecionadas. O método de planimetria foi utilizado para determinar a área de superfície da região cortical e medular da glândula. Utilizou-se um sistema de análise de imagem (Image Pró-Plus 4.0) associado a um microscópio óptico (MOTIC®) e câmera de vídeo. Sobre as imagens da glândula foi colocado o sistema de planimetria, analisando-se a quantidade de pontos que tocavam cada região para estimar as áreas. O método de morfometria foi utilizado para determinar a espessura da região cortical e medular da glândula. Assim, foi utilizado um microscópio (Olympus) com ocular contendo régua milimetrada (1 mm). Foram realizadas medidas correspondentes às dimensões horizontal, vertical e diagonal de cada corte, e, definidas as médias referentes às dimensões citadas. Os resultados obtidos pelos dois métodos foram expressos em µm e analisados no teste one-way ANOVA (GraphPad Prism 5®) e pós-teste de Tukey.

## Resultados e Discussão

Os resultados referentes à planimetria mostraram (Figura 1.A) que a área de superfície para região cortical da glândula suprarrenal não foi estatisticamente diferente entre os grupos analisados - C: 4.969.388  $\mu\text{m}^2$ , EF: 4.704.082  $\mu\text{m}^2$  e EP: 4.867.347  $\mu\text{m}^2$  ( $F_{2,18} = 0.29$ ,  $p = 0.75$ ). De igual modo, não foi encontrada diferença significativa entre os grupos para os valores da área de superfície da região medular da glândula suprarrenal - C: 831.632,70  $\mu\text{m}^2$ , EF: 857.142,90  $\mu\text{m}^2$  e EP: 846.938,80  $\mu\text{m}^2$  ( $F_{2,18} = 0.34$ ,  $p = 0.96$ ).

Os dados obtidos, referentes à morfometria demonstraram (Figura 1.B) que os valores de espessura cortical do grupo C (298,60  $\mu\text{m}^2$ ), EP (307,23  $\mu\text{m}^2$ ) e EF (306,36  $\mu\text{m}^2$ ) não apresentaram associação significativa ( $F_{2,18} = 0.23$ ,  $p = 0.79$ ). Além disso, também não foi encontrada variação ( $F_{2,18} = 0.59$ ,  $p = 0.56$ ) entre as medidas de espessura medular do grupo C (308,34  $\mu\text{m}^2$ ), EF (378,03  $\mu\text{m}^2$ ) e EP (285,35  $\mu\text{m}^2$ ).

O uso comparativo de dois métodos quantitativos diferentes (planimetria e morfometria) demonstraram que tanto a área de superfície como a espessura das regiões medulares e corticais das glândulas não foram alteradas nestes modelos experimentais de estresse. É possível que o córtex e a medula da glândula suprarrenal não tenham sido alterados em função da intensidade e do tempo de estresse ao qual os animais foram expostos, como observado nos experimentos de Huzard et al. (2015), ou ainda em função do tempo transcorrido entre a sujeição dos animais ao estresse até a vida adulta, visto que o eixo HPA pode sofrer disfunções durante o processo de envelhecimento (PIETRELLI et al., 2018). Além disso, sabe-se que uma resposta adaptativa (*feedback* negativo) busca atenuar os efeitos do estresse, quando a situação ainda não for crônica (GANNOUNI et al., 2014).



**Figura 1. A.** Média da área de superfície cortical e medular da glândula suprarrenal obtidas por planimetria  $\pm$  erro padrão. **C:** Grupo controle, **EF:** Estresse físico e **EP:** Estresse psicológico. **B.** Média da espessura cortical e medular da glândula suprarrenal obtidas por morfometria  $\pm$  erro padrão.

O peso corporal ( $F_{2,39} = 2.81$ ,  $p = 0.72$ ), o peso cerebral ( $F_{2,39} = 0.29$ ,  $p = 0.74$ ) e o peso das glândulas suprarrenais direitas ( $F_{2,39} = 0.78$ ,  $p = 0.46$ ) e esquerdas ( $F_{2,39} = 2.97$ ,  $p = 0.06$ ) não foram significativamente diferentes entre os grupos analisados, ressaltando a coerência entre os resultados encontrados.

## Conclusões

O presente estudo não identificou alterações significativas em relação aos aspectos morfológicos e quantitativos das glândulas suprarrenais de ratos adultos submetidos aos modelos de estresse físico e psicológico na fase juvenil do desenvolvimento. Tal achado pode ser atribuído ao fato de que os modelos de estresse aqui induzidos podem não ter sido suficientes para predispor alterações estruturais nestas glândulas. Ademais, na fase juvenil do desenvolvimento a resposta ao estresse é mais eficiente e pode ter havido adaptação no decorrer da vida dos animais em função do eixo HPA.

## Agradecimentos

Ao programa de iniciação científica que me proporcionou grande aprendizado.

## Referências

GANNOUNI, N.; MHAMDI, A.; MAY, M. E.; TEBOURBI, O. RHOUMA, K. B. Morphological changes of adrenal gland and heart tissue after varying duration of noise exposure in adult rat. **Noise & Health**, Tunisia, v. 16, n. 73, p. 416-421.

GUEST, F. L.; MARTINS-DE-SOUZA, D.; RAHMOUNE, H.; BAHN, S.; GUEST, P. C. The effects of stress on hypothalamic-pituitary-adrenal (HPA) axis function in subjects with schizophrenia. **Revista de psiquiatria clínica**, v. 40, n. 1, p. 20-27, 2013.

HUZARD, D.; MUMBY, D. G.; SANDI, C.; POIRIER, G. L.; KOOIJ, M. A. V. D. The effects of extrinsic stress on somatic markers and behavior are dependent on animal housing conditions. **Physiology & Behavior**, v. 151, p. 238-245, 2015.

PIETRELLI, A.; NARDO, M. D.; MASUCCI, A.; BRUSCO, A.; BASSO, N.; MATKOVIC, L. Lifelong aerobic exercise reduces the stress response in rats. **Neuroscience**, v. 376, p. 94-107, 2018.

SÁ, F. Burnout: mais próximo do setor da saúde do que se imagina. **Fehoesp** 360, v. 9, p. 16-23, maio 2017.