

ESTRESSE JUVENIL EM AMBOS SEXOS SUGERE EFEITO NO COMPORTAMENTO TIPO-DEPRESSIVO DE RATAS FÊMEAS

Mariane Ferreira Vieira (PIBIC/CNPq/FA/UEM), Gustavo Henrique Pereira (Coautor),
Leticia Alexandrino Barilli (Coautora), Carmem Patrícia Barbosa (Orientadora),
Silvana Regina de Melo (Coorientadora). E-mail: ra119966@uem.br.

Universidade Estadual de Maringá, Centro de Ciências Biológicas e da Saúde,
Maringá, PR.

Área e subárea do conhecimento: Ciências da Saúde/Psiquiatria.

Palavras-chave: imobilização; isolamento social; nado forçado.

RESUMO

A exposição ao estresse crônico na infância pode afetar o desenvolvimento normal de áreas comportamentais, exacerbando sua vulnerabilidade na vida adulta, o que representaria, do ponto de vista translacional, sintomas das doenças mentais como depressão e ansiedade em humanos. Assim, este estudo objetivou investigar se dois modelos de estresse na infância podem causar impacto no comportamento tipo-depressivo de ratas adolescentes fêmeas. Ratos Wistar foram distribuídos aleatoriamente em três grupos, nominados como Controle (C), Estresse de Isolamento Social (EIS) e Estresse de Imobilização (EI). Nas idades entre 21 a 35 dias pós-natal (P21-P35) os animais foram colocados nos respectivos modelos de estressores e aos 36 dias de idade foram submetidos ao teste comportamental denominado Nado Forçado (TNF). Os resultados sugeriram um comportamento tipo-depressivo em ratos estressados pelo Isolamento Social na infância e uma diferença sexo-dependente, pois as fêmeas apresentaram maior prejuízo na capacidade de lutar durante o desafio do nado forçado. Entretanto, o Estresse de Imobilização não mostrou efeito conclusivo, pois ainda é necessário refinamento estatístico para melhores conclusões.

INTRODUÇÃO

Estudos com animais vêm mostrando que os efeitos morfológicos e comportamentais estão diretamente relacionados à natureza do paradigma de estresse. O modelo de Estresse por Imobilização (EI) envolve um componente físico (imobilização em aparato plástico com aberturas nas extremidades) onde a exposição tem duração média de 21 dias com 2 a 6h/diárias tem revelado, sob diferentes análises, que seu efeito é negativo tanto sob aspecto biológico quanto comportamental. No modelo de Estresse de Isolamento Social (IS) estudo em ratos apontou que sua cronicidade (13 semanas) provoca efeitos prejudiciais biológicos e comportamentais, surgindo o termo Síndrome do Isolamento. É substancial os

estudos apontando que o IS também provoca efeitos mal-adaptativos no comportamento de animais de laboratório, além de alterações no comportamento tipo ansioso e depressivo. Dessa forma, na presente pesquisa foram estudados os efeitos destes dois modelos de estresse no período da infância de ratos machos e fêmeas, avaliando o comportamento tipo-depressivo por meio do teste Nado Forçado (TNF).

MATERIAIS E MÉTODOS

Foram utilizados 53 ratos Wistar (*Rattus norvegicus*), machos e fêmeas. Os animais foram mantidos em condições padrão, com iluminação de claro e escuro de 12h, temperatura de $22\pm 2^{\circ}\text{C}$, alimentação (ração padrão para roedores - Nuvilab-nuvital) e água *ad libitum* durante todo experimento. Os animais nascidos de diferentes mães foram distribuídos aleatoriamente em três grupos denominados Controle (C), Estresse de Imobilização (EI) e Estresse de Isolamento Social (EIS). Para o EI, os animais foram colocados em tubos cilíndricos de propileno transparente com diâmetro que variou de 3 a 4 cm e 9 a 12 cm de comprimento (conforme a idade dos animais). Cada tubo tinha perfurações na parte frontal e paredes que permitiam a respiração, mas não os movimentos. Os animais permaneceram imobilizados diariamente por 2h durante 15 dias entre as idades de 21 a 35 dias pós-natal (P21-P35), no período entre 10:00 e 12:00h em sala iluminada e sem ruídos. Para o EIS, os animais nas idades entre P21-P35, foram colocados individualmente em caixas de propileno (30X20X13 cm) e permaneceram nas mesmas condições padrão de biotério. Eles foram isolados apenas do contato físico e portanto social, o que impede o desenvolvimento de interação que ocorre por meio das típicas brincadeiras comuns à idade juvenil.

Aos 36 dias de idade todos os animais foram submetidos ao teste comportamental de Nado Forçado (TNF). Que consiste em avaliar o comportamento de desespero e anedonia. Cada animal foi colocado cuidadosamente em um tanque cilíndrico de acrílico (20X30 cm) preenchido com água ($24\pm 1^{\circ}\text{C}$) durante 5min (período este gravado em vídeo). Ao final de cada sessão, os animais foram gentilmente secados com auxílio de toalha e voltaram para seu ambiente. A água do tanque foi substituída. Para análise do comportamento foi medido o primeiro episódio de imobilidade do animal após ter sido colocado na água (este é denominado Latência) e o tempo de imobilidade do animal, em um regime de minuto a minuto, durante 5min. O animal foi julgado imóvel quando não executava movimentos típicos de nadar, mas apenas movimentos mínimos para permanecer flutuando com a cabeça acima do nível da água. É considerado efeito tipo-depressivo o maior tempo de imobilidade em relação à atividade locomotora.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Em relação ao efeito do EIS, verificou-se que no grupo isolado houve menor tempo de latência em relação ao grupo Controle, mas este efeito ocorreu significativamente apenas nas fêmeas (Figura 1a). Embora nos machos não tenha havido efeito

significativo do ponto de vista estatístico, notou-se uma interessante tendência à diminuição no tempo de latência nos animais isolados (Figura 1b). Assim, nosso resultado sugere um efeito tipo-depressivo nos animais isolados na infância, encontrando consonância na literatura. Por exemplo, Kim *et al.* (2021), semelhantemente aos nossos achados, verificaram que ratos adultos submetidos ao Estresse de Isolamento Social passaram significativamente mais tempo flutuando do que o grupo Controle. Entretanto, foram analisados apenas ratos machos. Em nosso estudo, as fêmeas exibiram maior tempo de imobilização do que os machos. Estes dados, assim como na revisão de Grigoryan *et al.* (2022), indicam que há uma diferença entre os sexos de animais isolados, uma vez que fêmeas apresentam maior prejuízo na capacidade de lutar durante o desafio do nado forçado, sugerindo o comportamento tipo-depressivo.

Na comparação entre os animais submetidos ao Estresse de Imobilização não verificamos os mesmos efeitos significativos, sob o ponto de vista estatístico, tanto em machos quanto em fêmeas. Ao contrário dos achados de Seewoo *et al.* (2020), em que o teste comportamental Nado Forçado confirmou a presença de comportamentos semelhantes à ansiedade e depressão, respectivamente, após o Estresse de Imobilização. No entanto, nosso número de animais utilizados para a realização do teste foi diferente, sendo necessário aumentar nosso *n* amostral.

Ademais, ambos os sexos apresentaram comportamento de maior latência e menor imobilidade nos animais imobilizados (Figura 2 a.b). Talvez este resultado seja diferente quando o *n* amostral para machos for aumentado, pois devido a problemas técnicos, tivemos apenas *n*=3 no grupo imobilizado macho.

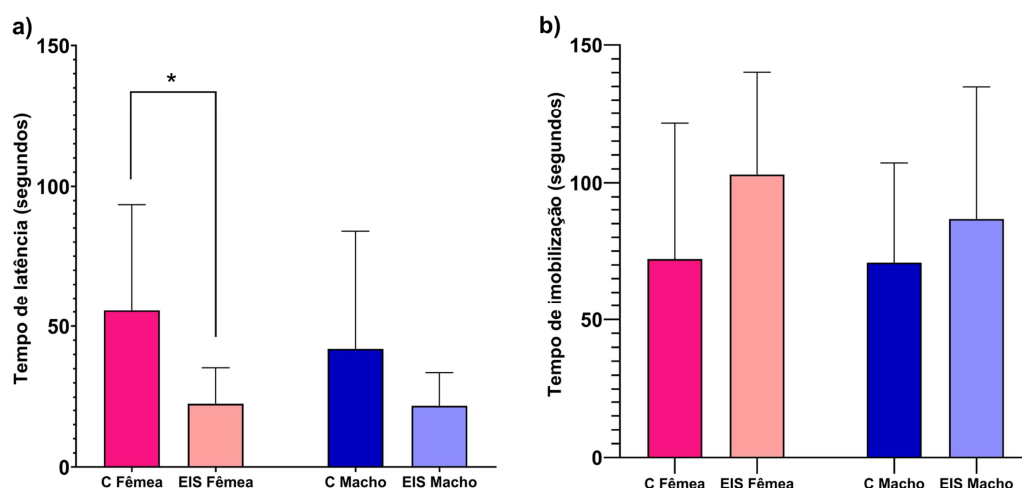


Figura 1 - Gráficos representando os dados expressos como média $\pm$ desvio padrão da latência (a) e imobilização (b) dos animais. Grupo Controle (C; *n* = 10 para fêmeas e *n*=6 para machos). Estresse Isolamento Social (EIS; *n* = 8 para fêmeas e machos).

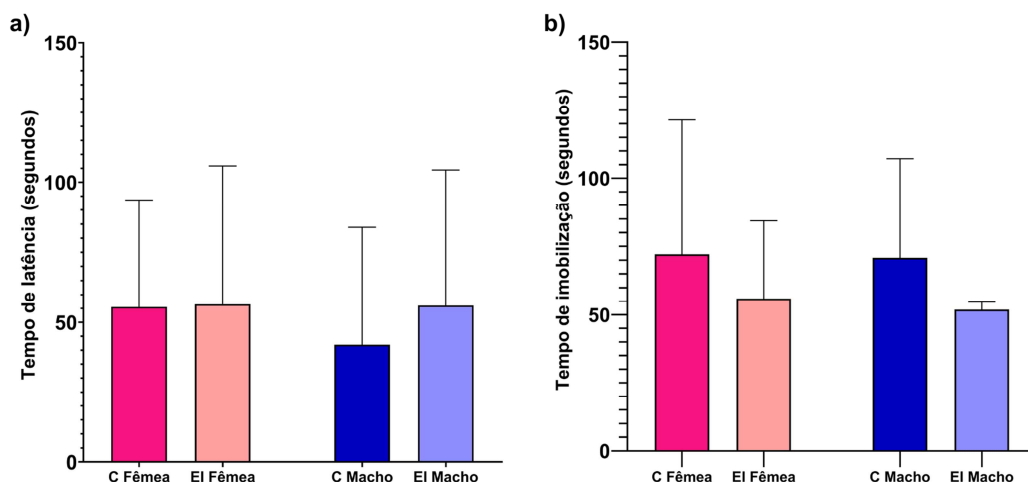


Figura 2 - Gráficos representando os dados expressos como média $\pm$ desvio padrão da latência (a) e imobilização (b) dos animais. Grupo Controle (C, C Fêmea n=10, C Macho n=6); Estresse Imobilização (EI, EI Fêmea n=6, EI Macho n=3).

CONCLUSÕES

Nossos resultados sugerem que os efeitos do estresse depende do tipo de estresse e ainda que o efeito é sexo-dependente. Enquanto o Isolamento Social no período da infância se mostrou prejudicial no sentido de apontar para comportamento tipo-depressivo na fase da adolescência, o Estresse de Imobilização não nos mostrou efeito satisfatório para concluir adequadamente, pois ainda precisa de refinamento estatístico para melhores conclusões.

AGRADECIMENTOS

Ao PIBIC-CNPq-FA-UEM pela oportunidade e pelo apoio financeiro. Aos integrantes do Laboratório de Neurofarmacologia da UEM, aos membros do grupo de pesquisa Estresse e Resiliência e aos responsáveis pela contribuição nas tecnologias que prezam a saúde mental dos seres humanos.

REFERÊNCIAS

- KIM, Y. J.; LEE, J. H; SONG, M. K.; Effect of chronic handling and social isolation on emotion and cognition in adolescent rats. **Physiology & Behavior**, v. 237, p. 113440–113440, 2021.
- GRIGORYAN, G. A.; PAVLOVA ; ZAICHENKO, M. I. Effects of Social Isolation on the Development of Anxiety and Depression-Like Behavior in Model Experiments in Animals. **Neuroscience and Behavioral Physiology**, v. 52, n. 5, p. 722–738, 2022.
- SEEWOO, B. J.; HENNESSY, L. A.; FEINDEL, K. W.; *et al.* Validation of Chronic Restraint Stress Model in Young Adult Rats for the Study of Depression Using Longitudinal Multimodal MR Imaging. **ENeuro**, v. 7, n. 4, p. 0113-20.2020, 2020.