

EFEITOS NA ADOLESCÊNCIA DO ESTRESSE JUVENIL NO COMPORTAMENTO TIPO-ANSIOSO DE RATOS MACHOS.

Vinícius Takeshi Ebihara (PIBIC/CNPq/FA/UEM), Mariana Beraldo Dalben, Letícia Alexandrino Barilli, Gustavo Henrique Pereira, Silvana Regina de Melo (Orientadora).
E-mail: : ra129019@uem.br.

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

Área e subárea do conhecimento: Medicina - Psiquiatria

Palavras-chave: Estresse de Imobilização; Isolamento social; Infância; Ansiedade.

RESUMO

O período da infância é considerado crítico para o neurodesenvolvimento e aponta-se que o estresse estaria relacionado a transtornos mentais na adolescência e vida adulta. Assim, este estudo objetiva investigar se dois modelos de estresse na fase juvenil tem impacto no comportamento tipo-ansioso de ratos adolescentes machos e fêmeas. Ratos Wistar foram distribuídos em três grupos, denominados 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 e 37 dias de idade (P36 e P37) foram submetidos respectivamente aos testes comportamentais campo aberto (CA) e labirinto em cruz elevado (LCE). Verificamos que os efeitos do estresse dependem do tipo de estresse, e esse efeito foi sexo-dependente. Enquanto o isolamento social no período da infância se mostrou prejudicial no sentido de apontar para comportamento tipo-ansioso, esse efeito foi observado apenas nas fêmeas, e na exposição ao estresse de imobilização não verificou-se alterações neste comportamento analisado.

INTRODUÇÃO

A idade de exposição ao estresse é relevante para as respostas neuroplásticas¹ e no período da infância e adolescência a plasticidade cerebral é máxima, sendo estes considerados críticos para o desenvolvimento de circuitos neurais que controlam respostas ao estresse². Estudo clínico apontou que o abuso sexual, psicológico ou físico provocam impactos diferentes na saúde mental³ e estudos animais vêm mostrando que os efeitos morfológicos e comportamentais estão diretamente relacionados à natureza do paradigma de estresse, sua intensidade e frequência⁴. No decorrer dos nossos estudos sobre os efeitos do estresse no desenvolvimento cerebral e comportamento, temos feito observações interessantes, por exemplo, que a exposição ao estresse em fases iniciais da vida tem efeitos duradouros, tanto no

comportamento quanto na morfologia cerebral. No entanto, esses efeitos variaram, e foram considerados mal-adaptativos em resposta ao estresse crônico neonatal, mas, paradoxalmente, foram efeitos resilientes em resposta ao estresse psicológico moderado e previsível⁵. Esses achados são coerentes com recente estudo apontando que as respostas são dependentes do tipo de estresse⁸. Para tentar compreender os efeitos do estresse na infância, utilizamos neste estudo os modelos animais por imobilização e isolamento social, que estão entre os mais utilizados na pesquisa. E colaboram para compreender a neurobiologia do estresse, além disso, fazem parte do cotidiano dos seres humanos. Dessa forma, nesse estudo nosso objetivo foi verificar se esses dois modelos de estresse juvenil estão associados ao comportamento tipo-ansioso em ratos adolescentes machos e fêmeas.

MATERIAIS E MÉTODOS

Foram utilizados 55 ratos Wistar (*Rattus norvegicus*), machos e fêmeas nascidos no biotério setorial do Depto de C. Farmacêuticas. Os animais foram mantidos em condições padrão, com iluminação de claro e escuro de 12 horas, 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 como 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 variava de 3 a 4 cm e 9 a 12 cm de comprimento (conforme a idade dos animais). Cada tubo continha perfurações na parte frontal e paredes que permitem a respiração, mas não permitia movimentos. Os animais permaneceram imobilizados diariamente por 2 horas durante 15 dias entre as idades P21-P35, no período entre 10:00 - 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 social, o que impede o desenvolvimento de interação que ocorre por meio das típicas brincadeiras da idade juvenil.

Na idade P36 e P37 todos os animais foram submetidos respectivamente com intervalo de 24 horas ao teste de exposição Campo Aberto, e Labirinto em Cruz elevado (LCE). Que consiste em avaliar o comportamento locomotor e de ansiedade ao serem expostos a um novo ambiente. Nas idades de P43, estes animais foram eutanasiados.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Nesse estudo verificamos que a exposição ao LCE provocou efeitos no comportamento das fêmeas do EIS mas não verificamos efeito no grupo EI. E no CA não detectamos alterações. A exposição ao CA provoca efeito no comportamento do animal, que é interpretado como comportamento do tipo-ansioso. E isso ocorre quando neste teste o animal evita a região central, e no LCE evita os braços abertos.

Com relação ao efeito do EIS, verificou-se que no grupo isolado houve menor exposição aos braços abertos, comparado ao grupo controle, no entanto esse efeito ocorreu apenas nas fêmeas (tabela 1). O mesmo padrão foi observado na avaliação do índice de ansiedade (fig 1.a), cujos valores podem oscilar de 0 – 1 e considera-se que o mais alto índice reflete um aumento no comportamento tipo-ansioso¹¹. De modo inesperado, verificamos que nos animais que ficaram imobilizados durante duas horas, por 15 dias, não houve nesse teste efeito no comportamento de ansiedade. O que reafirma a teoria que tipos diferentes de estresse causam efeitos diferentes.

Tabela 1. Representação dos comportamentos no LCE. Considerado significativo $p < 0.05^*$.

| | Controle | EIS | EI |
|------------------------|-------------|-------------|--------------|
| Macho | | | |
| Tempo(s) braço fechado | 202±15.99 | 206 ± 10.40 | 177 ± 17.89 |
| Tempo(s) braço aberto | 47± 9.33 | 41± 5.20 | 52.57 ± 5.60 |
| Índice de ansiedade | 0.71±0.03 | 0.75 ± 0.01 | 0.72 ± 0.02 |
| Fêmeas | | | |
| Tempo(s) braço fechado | 176 ±15.93 | 208 ±11.23 | 156 ±10.99 |
| Tempo(s) braço aberto | 76±12.51 | 38±5.6* | 76.44±7.49 |
| Índice de ansiedade | 0.63 ±0.036 | 0.78 ±0.01* | 0.64 ± 0.02 |

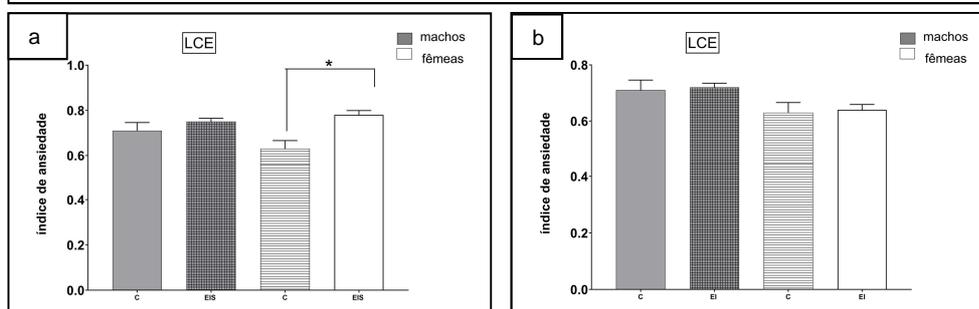


Figura 1– Performance dos animais adolescentes no teste comportamental LCE. C, Controle, EIS (Estresse de Isolamento Social) e EI (Estresse de imobilização). O índice de ansiedade nos grupos EIS, EI e C, onde na fig a. evidencia-se a diferença significativa entre fêmeas dos grupos EIS em relação ao C, e na fig b. nenhum efeito do EI em ambos os sexos. Considerado significativo $p < 0.05^*$

No teste de campo aberto, em todos os parâmetros analisados não foi verificado diferenças significativas, para ambos os grupos experimentais (EIS e EI) em comparação ao grupo Controle (tabela 2).

Tabela 2. Representação dos comportamentos no Campo aberto. Considerado significativo $p < 0.05^*$.

| | Controle | EIS | EI |
|------------------|---------------|----------------|----------------|
| Macho | | | |
| Entradas CENTRO | 8.5±1.28 | 6.24±1.2 | 10.55±1.80 |
| Tempo CENTRO | 18.70±4.27 | 17.70±3.98 | 14.93±2.48 |
| Distância CENTRO | 2236.1±385.93 | 1391.4±396.4 | 2527.9±570.6 |
| Distância total | 21795±1624.4 | 21780.8±2438.7 | 26698.7±1624.4 |
| Fêmea | | | |
| Entradas CENTRO | 8.4±1.02 | 9.50±1.65 | 13.66±1.36 |
| Tempo CENTRO | 17.13±3.01 | 25.02±3.46 | 24.98±3.38 |
| Distância CENTRO | 2423.5±420.54 | 2789.6±264.8 | 433.5±433.5 |

CONCLUSÕES

Nossos resultados confirmam que os efeitos do estresse dependem do tipo de estresse, e esse efeito é sexo-dependente. Enquanto o isolamento social no período da infância se mostrou prejudicial no sentido de apontar para comportamento tipo-ansioso, esse efeito foi observado apenas nas fêmeas, e na exposição ao estresse de imobilização não verificou-se alterações neste comportamento analisado.

AGRADECIMENTOS

Ao PIBIC-CNPq-FA-UEM, aos integrantes do Lab. Neurofarmacologia/UEM, e grupo de pesquisa Neurodesenvolvimento/Estresse/Neuroplasticidade.

REFERÊNCIAS

1. Stylianakis, A.A., Harmon-Jones, S.K., Richardson, R., et al., Differences in the persistence of spatial memory deficits induced by a chronic stressor in adolescents compared to juveniles. *Developmental Psychobiology*. 00:1-9, 2018.
2. McCornick, C.M., Mathews, I.Z. HPA function function in adolescence: role of sex hormones in its regulation and the enfuring consequences of exposure to stressors. *Pharmacol Biochem Behav*, 86 (2);220-233, 2007.
3. Hodgdon, H.B., Spinazzola, J., Briggs, E.C., Liang, L., Steinberg, A.M., Layne, C.M. Maltreatment type, exposure characteristics, and mental health outcomes among clinic referred trauma-exposed youth ,*Child Abuse Negl*. 2:12-22, 2018.
4. Anisman, H., Matheson, K., Stress, depression, and anhedonia: caveats concerning animal models. *Neuroscience Behavioral Review*. 105, 628-638, 2005.
5. Melo, S.R. Antoniazzi, C.T.D., Hossain, S., Kolb, B. Neonatal stress has a long-lasting sex-dependent effect on anxiety-like behavior and neuronal morphology in the prefrontal cortex and hippocampus. *Journal Developmental Neuroscience*. v. 40, p. 93-103, 2018.